

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202392501 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2024.04.27

(51) Int. Cl. *C07H 19/067* (2006.01)
A61K 31/7068 (2006.01)
A61P 31/12 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2015.12.16

(54) N4-ГИДРОКСИЦИТИДИН И СВЯЗАННЫЕ С НИМ ПРОИЗВОДНЫЕ И ВАРИАНТЫ
ПРОТИВОВИРУСНОГО ПРИМЕНЕНИЯ

(31) 62/096,915; 62/201,140

(32) 2014.12.26; 2015.08.05

(33) US

(62) 201791460; 2015.12.16

(71) Заявитель:
ЭМОРИ ЮНИВЕРСИТИ (US)

(72) Изобретатель:
Пэйнтер Джордж Р., Гатри Дэвид Б.,
Блумлинг Грегори Р., Нэтчус Майкл Г.
(US)

(74) Представитель:
Хмара М.В. (RU)

(57) Изобретение относится к производным N4-гидроксицитидина, композициям и способам, связанным с ними. В определенных вариантах осуществления изобретение относится к лечению и профилактике вирусных инфекций.

202392501
A1

202392501

A1

Н4-ГИДРОКСИЦИТИДИН И СВЯЗАННЫЕ С НИМ ПРОИЗВОДНЫЕ И ВАРИАНТЫ ПРОТИВОВИРУСНОГО ПРИМЕНЕНИЯ

5 Настоящая заявка выделена из заявки № 201791460 на выдачу евразийского патента на изобретение, поданной 16.12.2015 г., с испрашиванием приоритета по дате подачи заявок № 62/096,915, поданной 26.12.2014 г. и 62/201,140, поданной 05.08.2015 г., в патентное ведомство США.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

10 Настоящее раскрытие относится к нуклеозидным производным N4-гидроксицитидина, композициям и способам, связанным с ними. В определенных вариантах осуществления настоящее раскрытие относится к лечению и профилактике вирусных инфекций.

15 ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Возбудители восточного, западного и венесуэльского энцефалита лошадей (соответственно EEE, WEE и VEE) и чикунгуни (СНІК) представляют собой трансмиссивные вирусы (семейство *Togaviridae*, род *Alphavirus*), которые могут передаваться людям через укусы moskitov. Вирусы энцефалита лошадей по классификации CDC относятся к патогенам категории В, а СНІК-вирус к категории С. Существует серьезная озабоченность по поводу применения вирулентных штаммов VEE-вируса, распространяемых в виде аэрозоля, в качестве биологического оружия против личного состава войск. Испытания на животных показали, что заражение VEE-вирусом в результате воздействия аэрозоля быстро приводит к обширному инфицированию головного мозга с высоким уровнем летальности и осложнений. См. Roy et al., Pathogenesis of aerosolized Eastern equine encephalitis virus infection in guinea pigs. *Virol J*, 2009, 6:170.

25 Stuyver et al. сообщают, что для β -D-N(4)-гидроксицитидина (ННС) была установлена противовирусная активность в отношении пестивирусов и гепацивирусов. Antimicrob Agents Chemother, 2003, 47(1):244-54. Constantini et al. сообщают о проведенной оценке эффективности 2'-С-МеС, 2'-F-2'-С-МеС и ННС в отношении вируса Норуолк. См. также Purohit et al. *J Med Chem*, 2012, 55(22):9988-9997. Ivanov

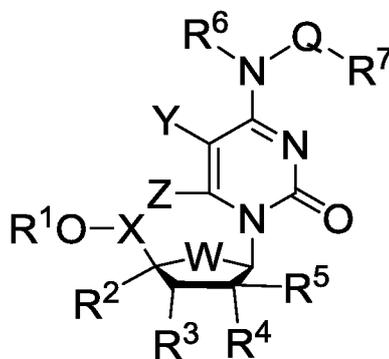
et al., Collection of Czechoslovak Chemical Communications, 2006, 71(7):1099-1106. Fox et al., JACS, 1959, 81:178-87.

Ссылки, приведенные в данном документе, не являются относящимися к предшествующему уровню техники.

5

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее раскрытие относится к N4-гидроксицитидину и производным, фармацевтическим композициям и вариантам применения, связанных с ними. В определенных вариантах осуществления настоящее раскрытие относится к соединению формулы I,



Формула I,

или к его фармацевтически приемлемой соли, производному или пролекарству, определенным в данном документе.

В определенных вариантах осуществления в настоящем раскрытии рассматриваются производные соединений, раскрытых в данном документе, такие как производные, которые содержат один или несколько одинаковых или различных заместителей.

В определенных вариантах осуществления в настоящем раскрытии рассматриваются фармацевтические композиции, содержащие фармацевтически приемлемый наполнитель и соединение, раскрытое в данном документе. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция находится в форме таблетки, капсулы, пилюли или водного буфера, такого как солевой раствор или фосфатный буфер.

В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит соединение, раскрытое в данном документе, и пропеллент. В определенных вариантах осуществления пропеллент представляет собой

аэрозольный пропеллент, представляющий собой сжатый воздух, этанол, азот, диоксид углерода, оксид одновалентного азота, гидрофторалканы (HFA), 1,1,1,2-тетрафторэтан, 1,1,1,2,3,3,3-гептафторпропан или их комбинации.

5 В определенных вариантах осуществления в настоящем раскрытии рассматривается находящийся или не находящийся под давлением контейнер, содержащий соединение или фармацевтическую композицию, описанные в данном документе. В определенных вариантах осуществления контейнер представляет собой распылитель с ручным насосом, ингалятор, дозирующий ингалятор, ингалятор сухого порошка, небулайзер, вибрационный сетчатый небулайзер, струйный 10 небулайзер или ультразвуковой небулайзер.

В определенных вариантах осуществления настоящее раскрытие относится к способам лечения или предупреждения вирусной инфекции, включающим введение эффективного количества соединения или фармацевтической композиции, раскрытых в данном документе, нуждающемуся в этом субъекту.

15 В определенных вариантах осуществления вирусная инфекция представляет собой альфавирус или коронавирусы и флавивирус. В определенных вариантах осуществления вирусная инфекция относится к ортомиксовирусам или парамиксовирусам. В определенных вариантах осуществления вирусная инфекция выбрана из MERS-коронавируса, вируса восточного энцефалита лошадей, вируса западного энцефалита лошадей, вируса венесуэльского энцефалита лошадей, вируса 20 реки Росс, вируса Повассан, вируса леса Барма и вируса Чикунгунья.

В определенных вариантах осуществления соединение или фармацевтическая композиция вводится перорально, внутривенно или через легкие.

25 В определенных вариантах осуществления настоящее раскрытие относится к применению соединения, описанного в данном документе, в изготовлении лекарственного препарата для лечения или предупреждения вирусной инфекции.

В определенных вариантах осуществления настоящее раскрытие относится к способу получения соединений, раскрытых в данном документе, посредством смешивания исходных материалов и реагентов, раскрытых в данном документе, при 30 таких условиях, при которых образуются соединения.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ФИГУР

На фигуре 1 проиллюстрировано получение β -D-N-гидроксицитидина. а. TBSCl, DMAP, DIPEA, DCM; б. (2,4,6-iPr)PhSO₂Cl, DIPEA, DMAP, DCM; в. NH₂OH-HCl, DIPEA, DCM; д. F-источник; е. водн. NH₂OH, AcOH, 50°C.

5 На фигуре 2 проиллюстрированы определенные варианты осуществления настоящего раскрытия.

На фигуре 3 проиллюстрированы определенные варианты осуществления настоящего раскрытия.

10 На фигуре 4 показаны средние значения концентрации соединения EIDD-01931 в плазме и параметры фармакокинетики у мышей, которым была введена доза соединения EIDD-01931.

На фигуре 5 показано накопление нуклеозида EIDD-01931 в органах мыши.

На фигуре 6 показано накопление трифосфата EIDD-01931 в органах мыши.

15 На фигуре 7 показано уменьшение отека подушечки стопы у CHIKV-зараженных мышей при лечении с помощью EIDD-01931.

На фигуре 8 показано снижение количества копий РНК CHIKV при помощи ПЦР у CHIKV-зараженных мышей при лечении EIDD-01931.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

20 Прежде чем настоящее раскрытие будет описано более подробно, следует понимать, что данное раскрытие не ограничивается конкретными описанными вариантами осуществления и, в силу этого, может, разумеется, меняться. Следует также понимать, что используемая в данном документе терминология предназначена только для описания конкретных вариантов осуществления и не предназначена для
25 ограничения, поскольку объем настоящего раскрытия будет ограничен только прилагаемой формулой изобретения.

Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют то же значение, которое обычно будет понятно рядовому специалисту в данной области техники, к которой относится настоящее раскрытие.
30 Хотя любые способы и материалы, аналогичные или эквивалентные описанным в данном документе, могут также применяться в практической реализации или тестировании настоящего раскрытия, далее будут описаны предпочтительные способы и материалы.

Все публикации и патенты, приведенные в данном описании, включены в данный документ посредством ссылки, как если бы каждая отдельная публикация или патент были специально и индивидуально помечены для включения посредством ссылки и включены в данный документ посредством ссылки для раскрытия и описания способов и/или материалов, по поводу которых публикации приводятся. Ссылка на любую публикацию предназначена для ее раскрытия до даты подачи и не должна быть истолкована как признание того, что настоящее раскрытие не может быть датировано ранее такой публикации путем ссылки на более раннее раскрытие. Кроме того, даты представленной публикации могут отличаться от фактических дат публикации, которые могут потребовать независимого подтверждения.

Как будет очевидно специалистам в данной области техники после прочтения данного раскрытия, каждый из отдельных вариантов осуществления, описанных и проиллюстрированных в данном документе, имеет дискретные компоненты и признаки, которые могут быть легко отделены или объединены с признаками любого из нескольких других вариантов осуществления, не отходя от объема или сущности настоящего раскрытия. Любой указанный способ может быть осуществлен в указанном порядке действий либо в любом другом порядке, который логически возможен.

Если не указано иное, в вариантах осуществления настоящего раскрытия будут применены методики из медицины, органической химии, биохимии, молекулярной биологии, фармакологии и т. п., которые находятся в компетенции специалистов в данной области техники. Такие методики подробно описаны в литературе.

В определенных вариантах осуществления фармацевтическое средство, которое может иметь форму соли или пролекарства, вводится способами, раскрытыми в данном документе, которое при этом определяется по весу. Это относится к значениям веса приведенного соединения. Если оно находится в форме соли или пролекарства, вес представлен молярным эквивалентом соответствующих соли или пролекарства.

Следует отметить, что формы единственного числа, используемые в описании и прилагаемой формуле изобретения, включают также и множественное число, если контекст явно не требует иного.

"Субъект" относится к любому животному, предпочтительно к пациенту-человеку, сельскохозяйственному животному или домашнему животному.

Используемые в данном документе, термины "предупредить" и "предупреждение" включают предупреждение повторного проявления, распространения или проявления заболевания. Не предполагается, что настоящее раскрытие будет ограничено только полным предупреждением. В некоторых вариантах осуществления задерживается проявление заболевания или снижается его тяжесть.

Используемые в данном документе термины "лечить" и "лечение" не ограничиваются случаем, когда субъект (например, пациент) излечивается и заболевание устраняется. Скорее в вариантах осуществления настоящего раскрытия также рассматривается лечение, которое только снижает симптомы и/или задерживает прогрессирование заболевания.

Используемый в данном документе термин "комбинация с", когда используется для описания введения при дополнительном лечении, означает, что средство может вводиться до, наряду с или после дополнительного лечения или в комбинации таких вариантов.

В контексте данного документа "алкил" означает нециклический неразветвленный или разветвленный ненасыщенный или насыщенный углеводород, такой как углеводороды, содержащие от 1 до 10 атомов углерода. "Высший алкил" относится к ненасыщенному или насыщенному углеводороду, содержащему 6 или более атомов углерода. "C₆-C₁₆" относится к алкилу, содержащему от 6 до 16 атомов углерода. Аналогично "C₆-C₂₂" относится к алкилу, содержащему от 6 до 22 атомов углерода. Иллюстративные насыщенные неразветвленные алкилы включает метил, этил, н-пропил, н-бутил, н-пентил, н-гексил, н-гептил, н-октил, н-нонил и т. п., при этом насыщенные разветвленные алкилы включают изопропил, втор-бутил, изобутил, трет-бутил, изопентил и т. п. Ненасыщенные алкилы (называемые соответственно "алкенил" или "алкинил") содержат по меньшей мере одну двойную или тройную связь между смежными атомами углерода. Иллюстративные неразветвленные и разветвленные алкенилы включают этиленил, пропиленил, 1-бутенил, 2-бутенил, изобутиленил, 1-пентенил, 2-пентенил, 3-метил-1-бутенил, 2-метил-2-бутенил, 2,3-диметил-2-бутенил, и т. п.; при этом иллюстративные

неразветвленные и разветвленные алкинилы включают ацетиленил, пропинил, 1-бутинил, 2-бутинил, 1-пентинил, 2-пентинил, 3-метил-1-бутинил и т. п.

Неароматические моно- или полициклические алкилы в контексте данного документа называются "карбоциклами" или "карбоциклильными" группами.

5 Иллюстративные насыщенные карбоциклы включают циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклогексил и т. п.; при этом ненасыщенные карбоциклы включают циклопентенил и циклогексенил и т. п.

"Гетерокарбоциклы" или "гетерокарбоциклильные" группы представляют собой карбоциклы, которые содержат от 1 до 4 гетероатомов независимо выбранных из азота, кислорода и серы, которые могут быть насыщенными или ненасыщенными (но не ароматическими), моноциклическими или полициклическими, и где гетероатомы азота и серы могут быть необязательно окислены, и гетероатом азота может быть необязательно кватернизован. Гетерокарбоциклы включают морфолинил, пирролидинонил, пирролидинил, пиперидинил, гидантоинил, валеролактамыл, оксиранил, оксетанил, тетрагидрофуранил, тетрагидропиранил, тетрагидропиридинил, тетрагидропримидинил, тетрагидротиофенил, тетрагидротиопиранил, тетрагидропиримидинил, тетрагидротиофенил, тетрагидротиопиранил и т. п.

10
15

Термин "арил" относится к ароматическим гомоциклическим (т. е. углеводородным) моно-, би- или трициклическим группам, содержащим кольцо, предпочтительно содержащим от 6 до 12 членов, таких как фенил, нафтил и бифенил. Фенил является предпочтительной арильной группой. Термин "замещенный арил" относится к арильным группам, замещенным одной или несколькими группами, предпочтительно выбранными из алкила, замещенного алкила, алкенила (необязательно замещенного), арила (необязательно замещенного), гетероцикло (необязательно замещенного), галогена, гидроксид, алкокси (необязательно замещенного), арилокси (необязательно замещенного), алканоила (необязательно замещенного), ароила, (необязательно замещенного), сложного алкилового эфира (необязательно замещенного), сложного арилового эфира (необязательно замещенного), циано, нитро, amino, замещенного amino, амидо, лактама, мочевины, уретана, сульфонила и т. п., где необязательно одна или несколько пар заместителей вместе с атомами, с которыми они связаны, образуют 3-7-членное кольцо.

20
25
30

В контексте данного документа "гетероарил" или "гетероароматический" относятся к ароматическому гетерокарбоциклу, содержащему от 1 до 4 гетероатомов, выбранных из азота, кислорода и серы, и содержащему по меньшей мере 1 атом углерода, включая как моно-, так и полициклические кольцевые системы. Полициклические кольцевые системы могут, но не обязательно, содержать одно или несколько неароматических колец, при условии, что одно из колец ароматическое. Иллюстративными гетероарилами являются фурил, бензофуранил, тиофенил, бензотиофенил, пирролил, индолил, изоиндолил, азаиндолил, пиридил, хинолинил, изохинолинил, оксазолил, изооксазолил, бензоксазолил, пиразолил, имидазолил, бензимидазолил, тиазолил, бензотиазолил, изотиазолил, пиридазинил, пиримидинил, пиразинил, триазинил, циннолинил, фталазинил и хиназолинил. Следует иметь в виду, что использование термина "гетероарил" включает н-алкилированные производные, такие как 1-метилимидазол-5-ильный заместитель.

В контексте данного документа "гетероцикл" или "гетероциклил" относится к моно- и полициклическим кольцевым системам, содержащим от 1 до 4 гетероатомов, выбранных из азота, кислорода и серы, и содержащим по меньшей мере 1 атом углерода. Моно- и полициклические кольцевые системы могут быть ароматическими, неароматическими или представлять собой смеси ароматических и неароматических колец. Гетероцикл включает гетерокарбоциклы, гетероарилы и т. п.

"Алкилтио" относится к алкильной группе, определенной выше, с указанным числом атомов углерода, присоединенной посредством серного мостика. Примером алкилтио является метилтио (т. е. $-S-CH_3$).

"Алкокси" относится к алкильной группе, определенной выше, с указанным числом атомов углерода, присоединенной посредством кислородного мостика. Примеры алкокси включают без ограничения метокси, этокси, н-пропокси, изопропокси, н-бутокси, втор-бутокси, трет-бутокси, н-пентокси и втор-пентокси. Предпочтительными алкоксигруппами являются метокси, этокси, н-пропокси, изопропокси, н-бутокси, втор-бутокси, трет-бутокси.

"Алкиламино" относится к алкильной группе, определенной выше, с указанным числом атомов углерода, присоединенной посредством аминного мостика. Примером алкиламино является метиламино (т. е. $-NH-CH_3$).

"Алканойл" относится к алкилу, определенному выше, с указанным числом атомов углерода, присоединенному посредством карбонильного мостика (т. е. $-(C=O)$ алкил).

5 "Алкилсульфонил" относится к алкилу, определенному выше, с указанным числом атомов углерода, присоединенному посредством сульфонильного мостика (т. е. $-S(=O)_2$ алкил), например мезил и т. п., и "арилсульфонил" относится к арилу, присоединенному посредством сульфонильного мостика (т. е. $-S(=O)_2$ арил).

10 "Алкилсульфамойл" относится к алкилу, определенному выше, с указанным числом атомов углерода, присоединенному посредством сульфамойльного мостика (т. е. $-NHS(=O)_2$ алкил), и "арилсульфамойл" относится к арилу, присоединенному посредством сульфамойльного мостика (т. е. $-NHS(=O)_2$ арил).

"Алкилсульфинил" относится к алкилу, определенному выше, с указанным числом атомов углерода, присоединенному посредством сульфинильного мостика (т. е., $-S(=O)$ алкил).

15 Термины "циклоалкил" и "циклоалкенил" относятся к моно-, би- или тригомоциклическим кольцевым группам, содержащим от 3 до 15 атомов углерода, которые являются соответственно полностью насыщенными и частично ненасыщенными. Термин "циклоалкенил" включает би- и трициклические кольцевые системы, которые не являются ароматическими в целом, но содержат ароматические участки (например, флуорен, тетрагидронафталин, дигидроинден и т. п.). Кольца многокольцевых циклоалкильных групп могут быть либо конденсированными, соединенными мостиковой связью и/либо соединенными посредством одной или нескольких спиро-связей. Термины "замещенный циклоалкил" и "замещенный циклоалкенил" относятся соответственно к
20 циклоалкильным и циклоалкенильным группам, замещенным одной или несколькими группами, предпочтительно выбранными из арила, замещенного арила, гетероцикло, замещенного гетероцикло, карбоцикло, замещенного карбоцикло, галогена, гидроксид, алкокси (необязательно замещенного), арилокси (необязательно замещенного), сложного алкилового эфира (необязательно замещенного), сложного арилового эфира (необязательно замещенного), алканойла (необязательно замещенного), ароила (необязательно замещенного), циано, нитро, амина, замещенного амина, амидо, лактама, мочевины, уретана, сульфонила и т. п.

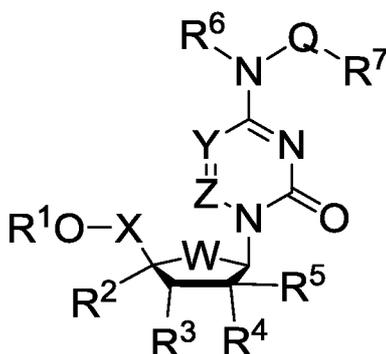
Термины "галоген" и "галогено" относятся ко фтору, хлору, бромю и йоду.

Термин "замещенный" относится к молекуле, где по меньшей мере один атом водорода заменен заместителем. В случае замещения одна или несколько групп являются "заместителями". Молекула может быть многократно замещенной. В случае оксозаместителя ("=O") два атома водорода заменены. Иллюстративные заместители в данном контексте могут включать галоген, гидроксил, алкил, алкокси, нитро, циано, оксо, карбоцикллил, карбоциклоалкил, гетерокарбоцикллил, гетерокарбоциклоалкил, арил, арилалкил, гетероарил, гетероарилалкил, -NRaRb, -NRaC(=O)Rb, -NRaC(=O)NRaNRb, -NRaC(=O)ORb, -NRaSO₂Rb, -C(=O)Ra, -C(=O)ORa, -C(=O)NRaRb, -OC(=O)NRaRb, -ORa, -SRa, -SORa, -S(=O)₂Ra, -OS(=O)₂Ra и -S(=O)₂ORa. Ra и Rb в данном контексте могут быть одинаковыми или различными и независимо представлять собой водород, галоген, гидроксил, алкил, алкокси, алкил, амина, алкиламино, диалкиламино, карбоцикллил, карбоциклоалкил, гетерокарбоцикллил, гетерокарбоциклоалкил, арил, арилалкил, гетероарил, гетероарилалкил.

Термин "необязательно замещенный" в контексте данного документа означает, что замещение является необязательным и, таким образом, обозначенный атом может быть незамещенным.

Соединения

В определенных вариантах осуществления настоящее раскрытие относится к соединению формулы I,



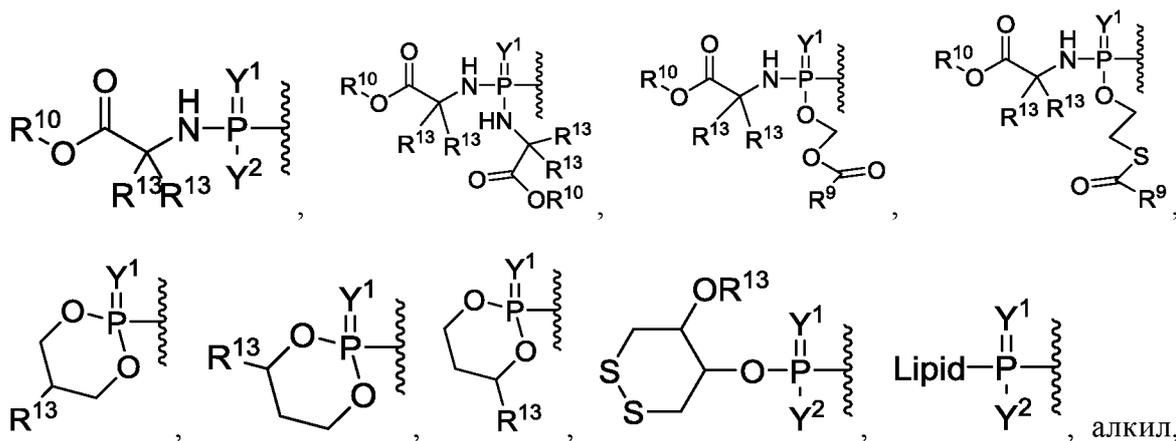
Формула I,

или его соли, где

Q представляет собой O, -O(C=O)-, -O(C=O)липид, -O(C=O)V-, NH или NR⁷;

V представляет собой O, NH, NR⁷, S, CH₂ или CHR⁷;

W представляет собой CH₂, NH, S или O;



галоген, нитро, циано, гидроксид, амино, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, карбаноил, эстерил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, фосфорамидил или фосфат, где R¹ необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

Y¹ представляет собой O или S;

Y² представляет собой OH, OR¹², алкил или BH₃^{-M⁺};

10 Y³ представляет собой OH или BH₃^{-M⁺};

R² представляет собой водород, алкил, алкенил, алкинил, этинил, фторметил, дифторметил, трифторметил, хлорметил, гидроксиметил, галоген, нитро, циано, гидроксид, амино, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил, азидо или гетероциклил, где R² необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

15 R³ представляет собой водород, гидроксид, алкил, галоген, нитро, циано, гидроксид, амино, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R³ необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

20 R⁴ представляет собой водород, гидроксид, алкил, фторметил, дифторметил, трифторметил, гидроксиметил, галоген, нитро, циано, гидроксид, амино, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R⁴ необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

R^5 представляет собой водород, гидроксид, алкокси, алкил, алкенил, алкинил, этинил, фторметил, дифторметил, трифторметил, гидроксиметил, алленил, галоген, нитро, циано, amino, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклл, арил или гетероциклл, где R^5 необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{20} ;

R^6 представляет собой водород, гидроксид, алкокси, алкил, этинил, алленил, галоген, нитро, циано, amino, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклл, арил или гетероциклл, где R^6 необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{20} ;

каждый R^7 отсутствует или независимо выбран из водорода, $-(C=O)O$ алкила, $-(C=O)$ алкила, $-(C=O)N$ алкила, $-(C=O)N$ -диалкила, $-(C=O)S$ алкила, гидроксид, алкокси, алкила, высшего алкила, (C_6-C_{16}) алкила, (C_6-C_{22}) алкила, галогена, нитро, циано, amino, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинила, алкилсульфонила, арилсульфонила, карбоциклла, арила или гетероциклла, где каждый R^7 необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{20} ;

R^8 представляет собой водород, дейтерий, алкил, алкенил, алкинил, галоген, нитро, циано, гидроксид, бензилокси, amino, амидо, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, азидо, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклл, арил или гетероциклл, где R^8 необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{20} ;

R^9 представляет собой водород, метил, этил, трет-бутил, алкил, высший алкил, (C_6-C_{16}) алкил, (C_6-C_{22}) алкил, галоген, нитро, циано, гидроксид, amino, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, циклоалкил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклл, арил или гетероциклл, где R^9 необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{20} ;

R^{10} представляет собой водород, алкил, разветвленный алкил, циклоалкил, метил-липид, этил, изопропил, циклопентил, циклогексил, бутил, пентил, гексил, неопентил, бензил, галоген, нитро, циано, гидроксид, amino, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино,

алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R^{10} необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{20} ;

5 R^{11} представляет собой водород, дейтерий, алкил, метил, галоген, нитро, циано, гидроксид, амино, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R^{11} необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{20} ;

10 R^{12} представляет собой водород, алкил, арил, фенил, 1-нафтил, 2-нафтил, ароматический, гетероароматический 4-замещенный фенил, 4-фторфенил, 4-хлорфенил, 4-бромфенил, нафтил или гетероциклил, где R^{12} необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{20} ;

15 R^{13} представляет собой водород, дейтерий, алкил, алкенил, алкинил, галоген, нитро, циано, гидроксид, амино, амидо, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, липид, азидо, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R^{13} необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{20} ;

20 R^{14} представляет собой водород, дейтерий, алкил, алкенил, алкинил, галоген, нитро, циано, гидроксид, амино, амидо, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, липид, азидо, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R^{14} необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{20} ;

25 R^{20} представляет собой дейтерий, алкил, алкенил, алкинил, галоген, нитро, циано, гидроксид, амино, амидо, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, азидо, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R^{13} необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{21} ; и

30 R^{21} представляет собой галоген, нитро, циано, гидроксид, трифторметокси, трифторметил, амино, формил, карбокси, карбамоил, меркапто, сульфамид, метил, этил, метокси, этокси, ацетил, ацетокси, метиламино, этиламино, диметиламино, диэтиламино, N-метил-N-этиламино, ацетиламино, N-метилкарбамоил, N-этилкарбамоил, N,N-диметилкарбамоил, N,N-диэтилкарбамоил, N-метил-N-этилкарбамоил, метилтио, этилтио, метилсульфинил, этилсульфинил, мезил,

этилсульфонил, метоксикарбонил, этоксикарбонил, N-метилсульфамоил, N-этилсульфамоил, N,N-диметилсульфамоил, N,N-диэтилсульфамоил, N-метил-N-этилсульфамоил, карбоциклил, арил или гетероциклил.

5 Липид в контексте данного документа представляет собой C₆₋₂₂алкил, алкокси, полиэтиленгликоль или арил, замещенный алкильной группой.

В определенных вариантах осуществления липид представляет собой жирный спирт, жирный амин или жирный тиол, являющийся производным незаменимых и/или заменимых жирных кислот.

10 В определенных вариантах осуществления липид представляет собой ненасыщенный, полиненасыщенный, омега ненасыщенный или омега полиненасыщенный жирный спирт, жирный амин или жирный тиол, являющийся производным незаменимых и/или заменимых жирных кислот.

15 В определенных вариантах осуществления липид представляет собой жирный спирт, жирный амин или жирный тиол, являющийся производным незаменимых и/или заменимых жирных кислот, у которых одно или несколько углеродных звеньев замещено кислородом, азотом или серой.

20 В определенных вариантах осуществления липид представляет собой ненасыщенный, полиненасыщенный, омега ненасыщенный или омега полиненасыщенный жирный спирт, жирный амин, или жирный тиол, являющийся производным незаменимых и/или заменимых жирных кислот, у которых одно или несколько углеродных звеньев замещено кислородом, азотом или серой.

В определенных вариантах осуществления липид представляет собой жирный спирт, жирный амин или жирный тиол, являющийся производным незаменимых и/или заменимых жирных кислот, который необязательно замещен.

25 В определенных вариантах осуществления липид представляет собой ненасыщенный, полиненасыщенный, омега ненасыщенный или омега полиненасыщенный жирный спирт, жирный амин или жирный тиол, являющийся производным незаменимых и/или заменимых жирных кислот, который необязательно замещен.

30 В определенных вариантах осуществления липид представляет собой жирный спирт, жирный амин или жирный тиол, являющийся производным незаменимых

и/или заменимых жирных кислот, у которых одно или несколько углеродных звеньев замещено кислородом, азотом или серой, который необязательно замещен.

В определенных вариантах осуществления липид представляет собой ненасыщенный, полиненасыщенный, омега ненасыщенный или омега
5 полиненасыщенный жирный спирт, жирный амин, или жирный тиол, являющийся производным незаменимых и/или заменимых жирных кислот, у которых одно или несколько углеродных звеньев замещено кислородом, азотом или серой, который также необязательно замещен.

В определенных вариантах осуществления липид представляет собой
10 гексадецилоксипропил.

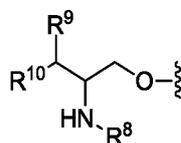
В определенных вариантах осуществления липид представляет собой 2-аминогексадецилоксипропил.

В определенных вариантах осуществления липид представляет собой 2-аминоарахидил.

В определенных вариантах осуществления липид представляет собой 2-бензилоксигексадецилоксипропил.

В определенных вариантах осуществления липид представляет собой лаурил, миристил, пальмитил, стеарил, арахидил, бегенил, или лигноцерил.

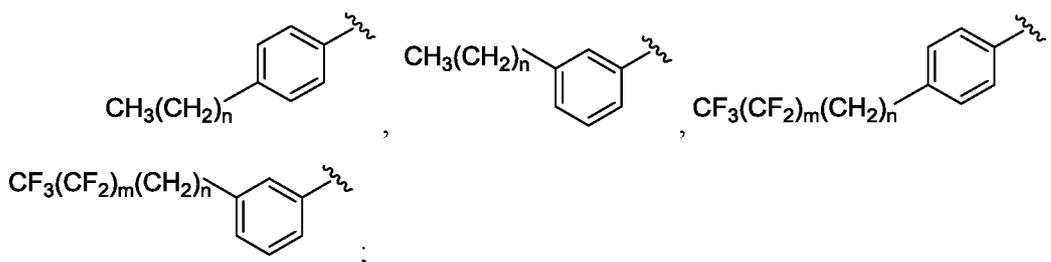
В определенных вариантах осуществления липид представляет собой
20 сфинголипид, характеризующийся формулой



где

25 R^8 в сфинголипиде представляет собой водород, алкил, $C(=O)R^{12}$, $C(=O)OR^{12}$ или $C(=O)NHR^{12}$;

R^9 в сфинголипиде представляет собой водород, фтор, OR^{12} , $OC(=O)R^{12}$, $OC(=O)OR^{12}$ или $OC(=O)NHR^{12}$;



при этом n составляет от 6 до 12 или n составляет от меньше или равно 6 до
 5 меньше или равно 12, сумма m и n составляет от 6 до 12, или n составляет от меньше
 или равно 6 до меньше или равно 12;

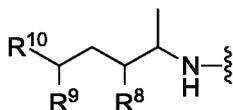
R^{11} в сфинголипиде представляет собой OR^{12} , $\text{OC}(=\text{O})R^{12}$, $\text{OC}(=\text{O})\text{OR}^{12}$ или
 $\text{OC}(=\text{O})\text{NHR}^{12}$;

R^{12} в сфинголипиде представляет собой водород, разветвленный или
 10 неразветвленный C_{1-12} алкил, C_{13-22} алкил, циклоалкил или арил, выбранный из
 бензила или фенила, где арил необязательно замещен одним или несколькими
 одинаковыми или различными R^{13} ; и

R^{13} в сфинголипиде представляет собой галоген, нитро, циано, гидроксид,
 трифторметокси, трифторметил, амино, формил, карбокси, карбамоил, меркапто,
 15 сульфоамид, метил, этил, метокси, этокси, ацетил, ацетокси, метиламино,
 этиламино, диметиламино, диэтиламино, N -метил- N -этиламино, ацетиламино, N -
 метилкарбамоил, N -этилкарбамоил, N,N -диметилкарбамоил, N,N -диэтилкарбамоил,
 N -метил- N -этилкарбамоил, метилтио, этилтио, метилсульфинил, этилсульфинил,
 мезил, этилсульфонил, метоксикарбонил, этоксикарбонил, N -метилсульфоамид, N -
 20 этилсульфоамид, N,N -диметилсульфоамид, N,N -диэтилсульфоамид, N -метил- N -
 этилсульфоамид, карбоцикл, арил или гетероцикл.

В определенных вариантах осуществления R^{12} в сфинголипиде представляет
 собой H , алкил, метил, этил, пропил, n -бутил, разветвленный алкил, изопропил, 2-
 25 бутил, 1-этилпропил, 1-пропилбутил, циклоалкил, циклопропил, циклобутил,
 циклопентил, циклогексил, бензил, фенил, монозамещенный фенил, дизамещенный
 фенил, трехзамещенный фенил или насыщенный или ненасыщенный
 длинноцепочечный C_{12} - C_{19} алкил.

В определенных вариантах осуществления сфинголипид характеризуется
 формулой

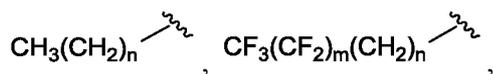


где

R^8 в сфинголипиде представляет собой водород, гидроксигруппу, фтор, OR^{12} , $OC(=O)R^{12}$, $OC(=O)OR^{12}$ или $OC(=O)NHR^{12}$;

R^9 в сфинголипиде представляет собой водород, гидроксигруппу, фтор, OR^{12} , $OC(=O)R^{12}$, $OC(=O)OR^{12}$ или $OC(=O)NHR^{12}$;

R^{10} в сфинголипиде представляет собой насыщенную или ненасыщенную алкильную цепь, содержащую более 6 и менее 22 атомов углерода, необязательно замещенную одним или несколькими галогенами, или представляет собой структуру следующей формулы:



при этом n составляет от 8 до 14 или от меньше или равно 8 до меньше или равно 14, сумма m и n составляет от 8 до 14 или от меньше или равно 8 до меньше или равно 14;

R^{12} в сфинголипиде представляет собой водород, разветвленный или неразветвленный C_{1-12} алкил, C_{13-22} алкил, циклоалкил или арил, выбранный из бензила или фенила, где арил необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{13} ; и

R^{13} в сфинголипиде представляет собой галоген, нитро, циано, гидроксигруппу, трифторметокси, трифторметил, амино, формил, карбокси, карбамоил, меркапто, сульфамид, метил, этил, метокси, этокси, ацетил, ацетокси, метиламино, этиламино, диметиламино, диэтиламино, N -метил- N -этиламино, ацетиламино, N -метилкарбамоил, N -этилкарбамоил, N,N -диметилкарбамоил, N,N -диэтилкарбамоил, N -метил- N -этилкарбамоил, метилтио, этилтио, метилсульфинил, этилсульфинил, метилсульфонил, этилсульфонил, метоксикарбонил, этоксикарбонил, N -метилсульфамид, N -этилсульфамид, N,N -диметилсульфамид, N,N -диэтилсульфамид, N -метил- N -этилсульфамид, карбоцикл, арил или гетероцикл.

В определенных вариантах осуществления R^{12} в сфинголипиде представляет собой H, алкил, метил, этил, пропил, н-бутил, разветвленный алкил, изопропил, 2-бутил, 1-этилпропил, 1-пропилбутил, циклоалкил, циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклогексил, бензил, фенил, монозамещенный фенил, дизамещенный фенил, трехзамещенный фенил или насыщенный или ненасыщенный длинноцепочечный C_{12} - C_{19} алкил.

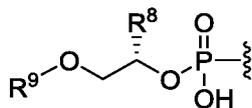
Подходящие сфинголипиды включают без ограничения сфингозин, церамид, или сфингомиелин, или 2-аминоалкил, необязательно замещенный одним или несколькими заместителями.

Другие подходящие сфинголипиды включают без ограничения 2-аминооктадекан-3,5-диол; (2S,3S,5S)-2-аминооктадекан-3,5-диол; (2S,3R,5S)-2-аминооктадекан-3,5-диол; 2-(метиламино)октадекан-3,5-диол; (2S,3R,5S)-2-(метиламино)октадекан-3,5-диол; 2-(диметиламино)октадекан-3,5-диол; (2R,3S,5S)-2-(диметиламино)октадекан-3,5-диол; 1-(пирролидин-2-ил)гексадекан-1,3-диол; (1S,3S)-1-((S)-пирролидин-2-ил)гексадекан-1,3-диол; 2-амино-11,11-дифтороктадекан-3,5-диол; (2S,3S,5S)-2-амино-11,11-дифтороктадекан-3,5-диол; 11,11-дифтор-2-(метиламино)октадекан-3,5-диол; (2S,3S,5S)-11,11-дифтор-2-(метиламино)октадекан-3,5-диол; N-((2S,3S,5S)-3,5-дигидроксиоктадекан-2-ил)ацетамид; N-((2S,3S,5S)-3,5-дигидроксиоктадекан-2-ил)пальмитамид; 1-(1-аминоциклопропил)гексадекан-1,3-диол; (1S,3R)-1-(1-аминоциклопропил)гексадекан-1,3-диол; (1S,3S)-1-(1-аминоциклопропил)гексадекан-1,3-диол; 2-амино-2-метилоктадекан-3,5-диол; (3S,5S)-2-амино-2-метилоктадекан-3,5-диол; (3S,5R)-2-амино-2-метилоктадекан-3,5-диол; (3S,5S)-2-метил-2-(метиламино)октадекан-3,5-диол; 2-амино-5-гидрокси-2-метилоктадекан-3-он; (Z)-2-амино-5-гидрокси-2-метилоктадекан-3-он оксим; (2S,3R,5R)-2-амино-6,6-дифтороктадекан-3,5-диол; (2S,3S,5R)-2-амино-6,6-дифтороктадекан-3,5-диол; (2S,3S,5S)-2-амино-6,6-дифтороктадекан-3,5-диол; (2S,3R,5S)-2-амино-6,6-дифтороктадекан-3,5-диол и (2S,3S,5S)-2-амино-18,18,18-трифтороктадекан-3,5-диол, который может быть необязательно замещен одним или несколькими заместителями.

В определенных вариантах осуществления Q представляет собой O.

В определенных вариантах осуществления каждый R^7 независимо выбран из водорода, $-(C=O)O(C_6-C_{16})$ алкила или $-(C=O)O(C_6-C_{22})$ алкила.

В определенных вариантах осуществления R^1 представляет собой



В определенных вариантах осуществления R^8 представляет собой водород, гидроксиль или бензилокси.

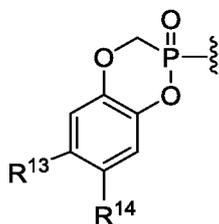
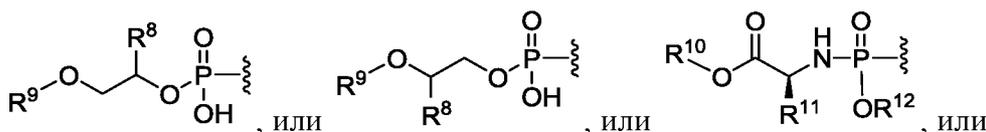
5 В определенных вариантах осуществления R^9 представляет собой высший алкил, (C_6-C_{16}) алкил или (C_6-C_{22}) алкил.

В определенных вариантах осуществления R^9 представляет собой трет-бутил или изобутил.

В определенных вариантах осуществления W представляет собой O .

10 В определенных вариантах осуществления Z представляет собой H .

В определенных вариантах осуществления R^1 представляет собой водород, монофосфат, дифосфат, трифосфат,



15 В определенных вариантах осуществления R^8 представляет собой водород, гидроксиль или бензилокси.

В определенных вариантах осуществления R^9 представляет собой высший алкил, (C_6-C_{16}) алкил или (C_6-C_{22}) алкил.

В определенных вариантах осуществления R^{10} представляет собой изопропил.

20 В определенных вариантах осуществления R^{11} представляет собой метил.

В определенных вариантах осуществления R^{12} представляет собой фенил.

В определенных вариантах осуществления R^{13} представляет собой водород.

В определенных вариантах осуществления R^{14} представляет собой водород.

В определенных вариантах осуществления R^2 представляет собой водород.

25 В определенных вариантах осуществления R^3 представляет собой гидроксиль.

В определенных вариантах осуществления R^4 представляет собой водород, гидроксиль, алкил, галоген или фтор.

В определенных вариантах осуществления R^5 представляет собой водород, гидроксиль, алкокси, алкил, метил, этинил или алленил.

5 В определенных вариантах осуществления R^6 представляет собой водород.

В определенных вариантах осуществления каждый R^7 независимо выбран из водорода, $-(C=O)O$ алкила, $-(C=O)$ алкила, $-(C=O)NH$ алкила, $-(C=O)S$ алкила, $-(C=O)O(C_6-C_{16})$ алкила, $-(C=O)(C_6-C_{16})$ алкила, $-(C=O)NH(C_6-C_{16})$ алкила или $-(C=O)S(C_6-C_{16})$ алкила.

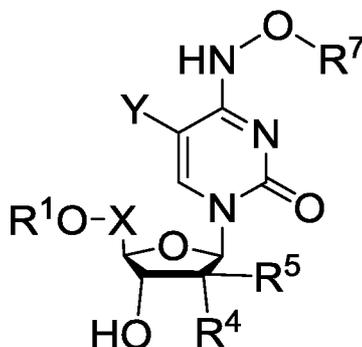
10 В определенных вариантах осуществления соединение выбрано из

1-((2R,3R,4S,5R)-3,4-дигидрокси-5-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-2-ил)-4-(гидроксиамино)пиримидин-2(1H)-она,

1-((2R,3R,4S,5R)-3,4-дигидрокси-5-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-2-ил)-4-((нонаноилокси)амино)пиримидин-2(1H)-она и

15 1-((2R,3R,4S,5R)-3,4-дигидрокси-5-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-2-ил)-4-(((гептилокси)карбонил)окси)амино)пиримидин-2(1H)-она.

В определенных вариантах осуществления настоящее раскрытие относится к соединению формулы I, характеризующемуся формулой IA,



20 **Формула IA,**

или его солям, при этом

X представляет собой CH_2 , $CHMe$, CMe_2 , CHF , CF_2 или CD_2 ;

Y представляет собой H, D, F, Cl, Br, I, CH_3 , CD_3 , CF_3 , алкил, ацил, алкенил, алкинил, гидроксил, формил или SCH_3 ;

25 R^1 представляет собой водород, монофосфат, дифосфат, трифосфат,

карбаноил, эстерил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклл, арил или гетероциклл, фосфорамидил или фосфат, где R¹ необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

5 Y¹ представляет собой O или S;

Y² представляет собой OH, OR¹², Oалкил или BH₃·M⁺;

Y³ представляет собой OH или BH₃·M⁺;

R⁴ представляет собой водород, гидроксид, алкил, фторметил, дифторметил, трифторметил, гидроксиметил, галоген, нитро, циано, гидроксид, амино, меркапто, 10 формил, карбокси, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклл, арил или гетероциклл, где R⁴ необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

R⁵ представляет собой водород, гидроксид, алкокси, алкил, алкенил, алкинил, 15 этинил, фторметил, дифторметил, трифторметил, гидроксиметил, алленил, галоген, нитро, циано, амино, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклл, арил или гетероциклл, где R⁵ необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

20 каждый R⁷ независимо выбран из водорода, -(C=O)Oалкила, -(C=O)алкила, -(C=O)Nалкила, -(C=O)N-диалкила, -(C=O)Sалкила, гидроксид, алкокси, алкила, высшего алкила, (C₆-C₁₆)алкила, (C₆-C₂₂)алкила, галогена, нитро, циано, амино, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинила, алкилсульфонила, арилсульфонила, карбоциклила, 25 арила или гетероциклила, где каждый R⁷ необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

R⁸ представляет собой водород, дейтерий, алкил, алкенил, алкинил, галоген, нитро, циано, гидроксид, бензилокси, амино, амидо, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, азидо, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, 30 алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклл, арил или гетероциклл, где R⁸ необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

R⁹ представляет собой водород, метил, этил, трет-бутил, алкил, высший алкил, (C₆-C₁₆)алкил, (C₆-C₂₂)алкил, галоген, нитро, циано, гидроксид, амино,

меркапто, формил, карбокси, карбамоил, циклоалкил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R⁹ необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

5 R¹⁰ представляет собой водород, алкил, разветвленный алкил, циклоалкил, метил-липид, этил, изопропил, циклопентил, циклогексил, бутил, пентил, гексил, неопентил, бензил, галоген, нитро, циано, гидроксид, амино, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или
10 гетероциклил, где R¹⁰ необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

R¹¹ представляет собой водород, дейтерий, алкил, метил, галоген, нитро, циано, гидроксид, амино, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил,
15 карбоциклил, арил или гетероциклил, где R¹¹ необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

R¹² представляет собой водород, алкил, арил, фенил, 1-нафтил, 2-нафтил, ароматический, гетероароматический 4-замещенный фенил, 4-фторфенил, 4-хлорфенил, 4-бромфенил, нафтил или гетероциклил, где R¹² необязательно замещен
20 одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

R¹³ представляет собой водород, дейтерий, алкил, алкенил, алкинил, галоген, нитро, циано, гидроксид, амино, амидо, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, липид, азидо, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R¹³
25 необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

R¹⁴ представляет собой водород, дейтерий, алкил, алкенил, алкинил, галоген, нитро, циано, гидроксид, амино, амидо, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, липид, азидо, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R¹⁴
30 необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

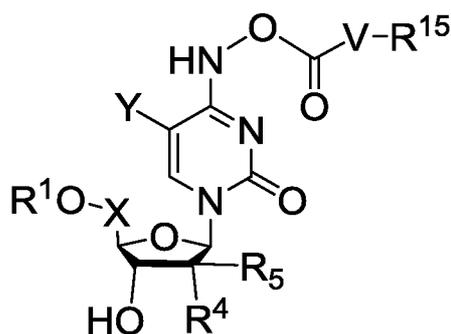
R²⁰ представляет собой дейтерий, алкил, алкенил, алкинил, галоген, нитро, циано, гидроксид, амино, амидо, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, азидо, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил,

арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R^{13} необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{21} ; и

R^{21} представляет собой галоген, нитро, циано, гидроксигруппы, трифторметокси, трифторметил, амино, формил, карбокси, карбамоил, меркапто, сульфоамид, метил, 5
этил, метокси, этокси, ацетил, ацетокси, метиламино, этиламино, диметиламино, диэтиламино, N-метил-N-этиламино, ацетиламино, N-метилкарбамоил, N-этилкарбамоил, N,N-диметилкарбамоил, N,N-диэтилкарбамоил, N-метил-N-этилкарбамоил, метилтио, этилтио, метилсульфинил, этилсульфинил, мезил, этилсульфонил, метоксикарбонил, этоксикарбонил, N-метилсульфоамид, N-10
этилсульфоамид, N,N-диметилсульфоамид, N,N-диэтилсульфоамид, N-метил-N-этилсульфоамид, карбоциклил, арил или гетероциклил;

липид описан в данном документе.

В определенных вариантах осуществления настоящее раскрытие относится к соединению формулы I, характеризующемуся формулой IB,



15

Формула IB,

или его солям, где

V отсутствует или представляет собой O, NH, NR^{15} , S, CH_2 или CHR^{15} ;

X представляет собой CH_2 , $CHMe$, CMe_2 , CHF, CF_2 или CD_2 ;

20

Y представляет собой H, D, F, Cl, Br, I, CH_3 , CD_3 , CF_3 , алкил, ацил, алкенил, алкинил, гидроксил, формил или SCH_3 ;

R^1 представляет собой водород, монофосфат, дифосфат, трифосфат,

карбаноил, эстерил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, фосфорамидил или фосфат, где R¹ необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

5 Y¹ представляет собой O или S;

Y² представляет собой OH, OR¹², Oалкил или BH₃·M⁺;

Y³ представляет собой OH или BH₃·M⁺;

R⁴ представляет собой водород, гидроксид, алкил, фторметил, дифторметил, трифторметил, гидроксиметил, галоген, нитро, циано, гидроксид, амино, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R⁴ необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

R⁵ представляет собой водород, гидроксид, алкокси, алкил, алкенил, алкинил, этинил, фторметил, дифторметил, трифторметил, гидроксиметил, алленил, галоген, нитро, циано, амино, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R⁵ необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

20 R⁸ представляет собой водород, дейтерий, алкил, алкенил, алкинил, галоген, нитро, циано, гидроксид, бензилокси, амино, амидо, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, азидо, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R⁸ необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

25 R⁹ представляет собой водород, метил, этил, трет-бутил, алкил, высший алкил, (C₆-C₁₆)алкил, (C₆-C₂₂)алкил, галоген, нитро, циано, гидроксид, амино, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, циклоалкил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R⁹ необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

30 R¹⁰ представляет собой водород, алкил, разветвленный алкил, циклоалкил, метил-липид, этил, изопропил, циклопентил, циклогексил, бутил, пентил, гексил, неопентил, бензил, галоген, нитро, циано, гидроксид, амино, меркапто, формил,

карбоксо, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R¹⁰ необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

5 R¹¹ представляет собой водород, дейтерий, алкил, метил, галоген, нитро, циано, гидроксо, амина, меркапто, формил, карбоксо, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R¹¹ необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

10 R¹² представляет собой водород, алкил, арил, фенил, 1-нафтил, 2-нафтил, ароматический, гетероароматический 4-замещенный фенил, 4-фторфенил, 4-хлорфенил, 4-бромфенил, нафтил или гетероциклил, где R¹² необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

15 R¹³ представляет собой водород, дейтерий, алкил, алкенил, алкинил, галоген, нитро, циано, гидроксо, амина, амидо, меркапто, формил, карбоксо, карбамоил, липид, азидо, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R¹³ необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

20 R¹⁴ представляет собой водород, дейтерий, алкил, алкенил, алкинил, галоген, нитро, циано, гидроксо, амина, амидо, меркапто, формил, карбоксо, карбамоил, липид, азидо, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R¹⁴ необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

25 R¹⁵ представляет собой водород, липид, -(C=O)Oалкил, -(C=O)алкил, -(C=O)Nалкил, -(C=O)N-диалкил, -(C=O)Sалкил, гидроксо, алкокси, алкил, высший алкил, (C₆-C₁₆)алкил, (C₆-C₂₂)алкил, галоген, нитро, циано, амина, меркапто, формил, карбоксо, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R¹⁵ необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

30

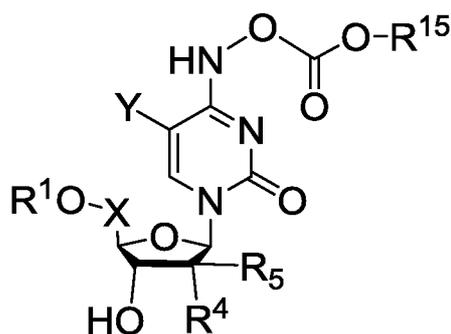
R²⁰ представляет собой дейтерий, алкил, алкенил, алкинил, галоген, нитро, циано, гидроксо, амина, амидо, меркапто, формил, карбоксо, карбамоил, азидо, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил,

арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R^{13} необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{21} ; и

R^{21} представляет собой галоген, нитро, циано, гидроксид, трифторметокси, трифторметил, амино, формил, карбокси, карбамоил, меркапто, сульфоамид, метил, 5 этил, метокси, этокси, ацетил, ацетокси, метиламино, этиламино, диметиламино, диэтиламино, N-метил-N-этиламино, ацетиламино, N-метилкарбамоил, N-этилкарбамоил, N,N-диметилкарбамоил, N,N-диэтилкарбамоил, N-метил-N-этилкарбамоил, метилтио, этилтио, метилсульфинил, этилсульфинил, метил, 10 этилсульфонил, метоксикарбонил, этоксикарбонил, N-метилсульфоамид, N-этилсульфоамид, N,N-диметилсульфоамид, N,N-диэтилсульфоамид, N-метил-N-этилсульфоамид, карбоциклил, арил или гетероциклил;

липид описан в данном документе.

В определенных вариантах осуществления настоящее раскрытие относится к соединению формулы I, характеризующемуся формулой IC,



15

Формула IC,

или его солям, где

X представляет собой CH_2 , $CHMe$, CMe_2 , CHF , CF_2 или CD_2 ;

Y представляет собой H, D, F, Cl, Br, I, CH_3 , CD_3 , CF_3 , алкил, ацил, алкенил, 20 алкинил, гидроксил, формил или SCH_3 ;

R^1 представляет собой водород, монофосфат, дифосфат, трифосфат,

карбаноил, эстерил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, фосфорамидил или фосфат, где R¹ необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

5 Y¹ представляет собой O или S;

Y² представляет собой OH, OR¹², Oалкил или BH₃·M⁺;

Y³ представляет собой OH или BH₃·M⁺;

R⁴ представляет собой водород, гидроксид, алкил, фторметил, дифторметил, трифторметил, гидроксиметил, галоген, нитро, циано, гидроксид, амино, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R⁴ необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

R⁵ представляет собой водород, гидроксид, алкокси, алкил, алкенил, алкинил, этинил, фторметил, дифторметил, трифторметил, гидроксиметил, алленил, галоген, нитро, циано, амино, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R⁵ необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

20 R⁸ представляет собой водород, дейтерий, алкил, алкенил, алкинил, галоген, нитро, циано, гидроксид, бензилокси, амино, амидо, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, азидо, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R⁸ необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

25 R⁹ представляет собой водород, метил, этил, трет-бутил, алкил, высший алкил, (C₆-C₁₆)алкил, (C₆-C₂₂)алкил, галоген, нитро, циано, гидроксид, амино, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, циклоалкил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R⁹ необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

30 R¹⁰ представляет собой водород, алкил, разветвленный алкил, циклоалкил, метил-липид, этил, изопропил, циклопентил, циклогексил, бутил, пентил, гексил, неопентил, бензил, галоген, нитро, циано, гидроксид, амино, меркапто, формил,

карбоксо, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R¹⁰ необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

5 R¹¹ представляет собой водород, дейтерий, алкил, метил, галоген, нитро, циано, гидроксо, амина, меркапто, формил, карбоксо, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R¹¹ необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

10 R¹² представляет собой водород, алкил, арил, фенил, 1-нафтил, 2-нафтил, ароматический, гетероароматический 4-замещенный фенил, 4-фторфенил, 4-хлорфенил, 4-бромфенил, нафтил или гетероциклил, где R¹² необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

15 R¹³ представляет собой водород, дейтерий, алкил, алкенил, алкинил, галоген, нитро, циано, гидроксо, амина, амидо, меркапто, формил, карбоксо, карбамоил, липид, азидо, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R¹³ необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

20 R¹⁴ представляет собой водород, дейтерий, алкил, алкенил, алкинил, галоген, нитро, циано, гидроксо, амина, амидо, меркапто, формил, карбоксо, карбамоил, липид, азидо, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R¹⁴ необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

25 R¹⁵ представляет собой водород, -(C=O)Оалкил, -(C=O)алкил, -(C=O)Nалкил, -(C=O)N-диалкил, -(C=O)Sалкил, гидроксо, алкокси, алкил, высший алкил, (C₆-C₁₆)алкил, (C₆-C₂₂)алкил, галоген, нитро, циано, амина, меркапто, формил, карбоксо, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R¹⁵ необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

30

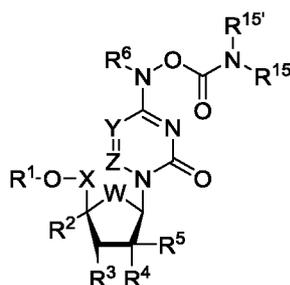
R²⁰ представляет собой дейтерий, алкил, алкенил, алкинил, галоген, нитро, циано, гидроксо, амина, амидо, меркапто, формил, карбоксо, карбамоил, азидо, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил,

арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R^{13} необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{21} ; и

R^{21} представляет собой галоген, нитро, циано, гидроксид, трифторметокси, трифторметил, амино, формил, карбокси, карбамоил, меркапто, сульфоамид, метил, 5 этил, метокси, этокси, ацетил, ацетокси, метиламино, этиламино, диметиламино, диэтиламино, N-метил-N-этиламино, ацетиламино, N-метилкарбамоил, N-этилкарбамоил, N,N-диметилкарбамоил, N,N-диэтилкарбамоил, N-метил-N-этилкарбамоил, метилтио, этилтио, метилсульфинил, этилсульфинил, мезил, этилсульфонил, метоксикарбонил, этоксикарбонил, N-метилсульфоамид, N-10 этилсульфоамид, N,N-диметилсульфоамид, N,N-диэтилсульфоамид, N-метил-N-этилсульфоамид, карбоциклил, арил или гетероциклил;

липид описан в данном документе.

В определенных вариантах осуществления настоящее раскрытие относится к соединению формулы I, характеризующемуся формулой ID,



15

Формула ID,

или его соли, где

W представляет собой CH_2 , NH, S или O;

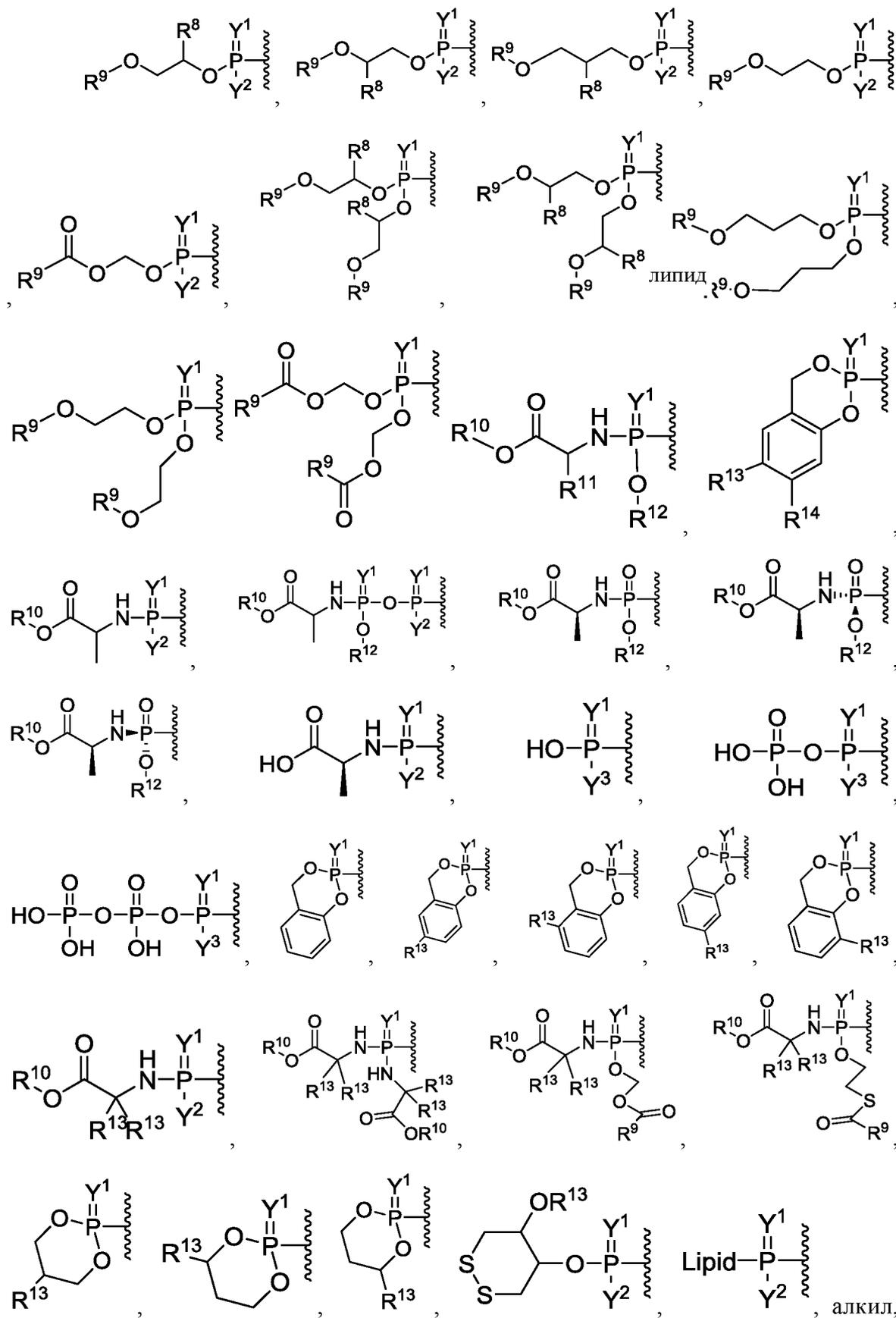
X представляет собой CH_2 , CHMe, CMe₂, CHF, CF₂ или CD₂;

20 Y представляет собой N или CR'';

Z представляет собой N или CR'';

каждый R'' независимо выбран из H, D, F, Cl, Br, I, CH₃, CD₃, CF₃, алкила, ацила, алкенила, алкинила, гидроксила, формила или SCH₃;

R¹ представляет собой водород, монофосфат, дифосфат, трифосфат,



карбаноил, эстерил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклл, арил или гетероциклл, фосфорамидил или фосфат, где R¹ необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

5 Y¹ представляет собой O или S;

Y² представляет собой OH, OR¹², Oалкил или BH₃⁻M⁺;

Y³ представляет собой OH или BH₃⁻M⁺;

R² представляет собой водород, алкил, алкенил, алкинил, этинил, фторметил, дифторметил, трифторметил, хлорметил, гидроксиметил, галоген, нитро, циано, гидроксид, амино, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклл, арил, азидо или гетероциклл, где R² необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

15 R³ представляет собой водород, гидроксид, алкил, галоген, нитро, циано, гидроксид, амино, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклл, арил или гетероциклл, где R³ необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

20 R⁴ представляет собой водород, гидроксид, алкил, фторметил, дифторметил, трифторметил, гидроксиметил, галоген, нитро, циано, гидроксид, амино, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклл, арил или гетероциклл, где R⁴ необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

25 R⁵ представляет собой водород, гидроксид, алкокси, алкил, алкенил, алкинил, этинил, фторметил, дифторметил, трифторметил, гидроксиметил, алленил, галоген, нитро, циано, амино, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклл, арил или гетероциклл, где R⁵ необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

30 R⁶ представляет собой водород, гидроксид, алкокси, алкил, этинил, алленил, галоген, нитро, циано, амино, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил,

арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R^6 необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{20} ;

5 R^8 представляет собой водород, дейтерий, алкил, алкенил, алкинил, галоген, нитро, циано, гидроксид, бензилокси, амино, амидо, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, азидо, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R^8 необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{20} ;

10 R^9 представляет собой водород, метил, этил, трет-бутил, алкил, высший алкил, (C₆-C₁₆)алкил, (C₆-C₂₂)алкил, галоген, нитро, циано, гидроксид, амино, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, циклоалкил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R^9 необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{20} ;

15 R^{10} представляет собой водород, алкил, разветвленный алкил, циклоалкил, метил-липид, этил, изопропил, циклопентил, циклогексил, бутил, пентил, гексил, неопентил, бензил, галоген, нитро, циано, гидроксид, амино, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R^{10} необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{20} ;

20 R^{11} представляет собой водород, дейтерий, алкил, метил, галоген, нитро, циано, гидроксид, амино, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R^{11} необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{20} ;

R^{12} представляет собой водород, алкил, арил, фенил, 1-нафтил, 2-нафтил, ароматический, гетероароматический 4-замещенный фенил, 4-фторфенил, 4-хлорфенил, 4-бромфенил, нафтил или гетероциклил, где R^{12} необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{20} ;

30 R^{13} представляет собой водород, дейтерий, алкил, алкенил, алкинил, галоген, нитро, циано, гидроксид, амино, амидо, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, липид, азидо, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил,

алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R^{13} обязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{20} ;

R^{14} представляет собой водород, дейтерий, алкил, алкенил, алкинил, галоген, нитро, циано, гидроксид, амина, амидо, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, липид, азидо, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R^{14} обязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{20} ;

R^{15} представляет собой водород, $-(C=O)O$ алкил, $-(C=O)$ алкил, $-(C=O)N$ алкил, $-(C=O)N$ -диалкил, $-(C=O)S$ алкил, гидроксид, алкокси, алкил, высший алкил, (C_6-C_{16}) алкил, (C_6-C_{22}) алкил, галоген, нитро, циано, амина, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R^{15} обязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{20} ;

$R^{15'}$ представляет собой водород, $-(C=O)O$ алкил, $-(C=O)$ алкил, $-(C=O)N$ алкил, $-(C=O)N$ -диалкил, $-(C=O)S$ алкил, гидроксид, алкокси, алкил, высший алкил, (C_6-C_{16}) алкил, (C_6-C_{22}) алкил, галоген, нитро, циано, амина, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где каждый R^7 обязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{20} ;

R^{15} и $R^{15'}$ могут образовывать кольцо, которое обязательно замещено одним или несколькими одинаковыми или различными R^{20} ;

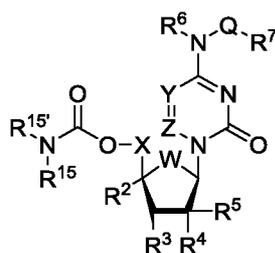
R^{20} представляет собой дейтерий, алкил, алкенил, алкинил, галоген, нитро, циано, гидроксид, амина, амидо, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, азидо, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R^{13} обязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{21} ; и

R^{21} представляет собой галоген, нитро, циано, гидроксид, трифторметокси, трифторметил, амина, формил, карбокси, карбамоил, меркапто, сульфамид, метил, этил, метокси, этокси, ацетил, ацетокси, метиламино, этиламино, диметиламино, диэтиламино, N-метил-N-этиламино, ацетиламино, N-метилкарбамоил, N-этилкарбамоил, N,N-диметилкарбамоил, N,N-диэтилкарбамоил, N-метил-N-

этилкарбамоил, метилтио, этилтио, метилсульфинил, этилсульфинил, мезил, этилсульфонил, метоксикарбонил, этоксикарбонил, N-метилсульфамоил, N-этилсульфамоил, N,N-диметилсульфамоил, N,N-диэтилсульфамоил, N-метил-N-этилсульфамоил, карбоциклил, арил или гетероциклил;

5 липид описан в данном документе.

В определенных вариантах осуществления настоящее раскрытие относится к соединению формулы I, характеризующемуся формулой IЕ,



Формула IЕ,

10 или его соли, где

Q представляет собой O, -O(C=O)-, -O(C=O)липид, -O(C=O)V-, NH или NR⁷;

V представляет собой O, NH, NR⁷, S, CH₂ или CHR⁷;

W представляет собой CH₂, NH, S или O;

X представляет собой CH₂, CHMe, CMe₂, CHF, CF₂ или CD₂;

15 Y представляет собой N или CR^{''};

Z представляет собой N или CR^{''};

каждый R^{''} независимо выбран из H, D, F, Cl, Br, I, CH₃, CD₃, CF₃, алкила, ацила, алкенила, алкинила, гидроксила, формила или SCH₃;

20 R² представляет собой водород, алкил, алкенил, алкинил, этинил, фторметил, дифторметил, трифторметил, хлорметил, гидроксиметил, галоген, нитро, циано, гидрокси, amino, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил, азидо или гетероциклил, где R² необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

25 R³ представляет собой водород, гидрокси, алкил, галоген, нитро, циано, гидрокси, amino, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R³ необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

R^4 представляет собой водород, гидроксигруппы, алкил, фторметил, дифторметил, трифторметил, гидроксиметил, галоген, нитро, циано, гидроксигруппы, амина, меркапто, формил, карбоксигруппы, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R^4 необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{20} ;

R^5 представляет собой водород, гидроксигруппы, алкокси, алкил, алкенил, алкинил, этинил, фторметил, дифторметил, трифторметил, гидроксиметил, алленил, галоген, нитро, циано, амина, меркапто, формил, карбоксигруппы, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R^5 необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{20} ;

R^6 представляет собой водород, гидроксигруппы, алкокси, алкил, этинил, алленил, галоген, нитро, циано, амина, меркапто, формил, карбоксигруппы, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R^6 необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{20} ;

каждый R^7 отсутствует или независимо выбран из водорода, $-(C=O)O$ алкила, $-(C=O)$ алкила, $-(C=O)N$ алкила, $-(C=O)N$ -диалкила, $-(C=O)S$ алкила, гидроксигруппы, алкокси, алкила, высшего алкила, (C_6-C_{16}) алкила, (C_6-C_{22}) алкила, галогена, нитро, циано, амина, меркапто, формил, карбоксигруппы, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинила, алкилсульфонила, арилсульфонила, карбоциклила, арила или гетероциклила, где каждый R^7 необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{20} ;

R^{15} представляет собой водород, $-(C=O)O$ алкил, $-(C=O)$ алкил, $-(C=O)N$ алкил, $-(C=O)N$ -диалкил, $-(C=O)S$ алкил, гидроксигруппы, алкокси, алкил, высший алкил, (C_6-C_{16}) алкил, (C_6-C_{22}) алкил, галоген, нитро, циано, амина, меркапто, формил, карбоксигруппы, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R^{15} необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{20} ;

$R^{15'}$ представляет собой водород, $-(C=O)O$ алкил, $-(C=O)$ алкил, $-(C=O)N$ алкил, $-(C=O)N$ -диалкил, $-(C=O)S$ алкил, гидроксигруппы, алкокси, алкил, высший

алкил, (C₆-C₁₆)алкил, (C₆-C₂₂)алкил, галоген, нитро, циано, amino, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклл, арил или гетероциклл, где каждый R⁷ необязательно замещен одним или несколькими

5 одинаковыми или различными R²⁰;

R¹⁵ и R^{15'} могут образовывать кольцо, которое необязательно замещено одним или несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

если Q представляет собой -O(C=O)V-, и V представляет собой NR⁷, то R⁷ могут вместе образовывать кольцо, которое необязательно замещено одним или

10 несколькими одинаковыми или различными R²⁰;

R²⁰ представляет собой дейтерий, алкил, алкенил, алкинил, галоген, нитро, циано, гидроксид, amino, амидо, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, азидо, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклл, арил или гетероциклл, где R¹³ необязательно

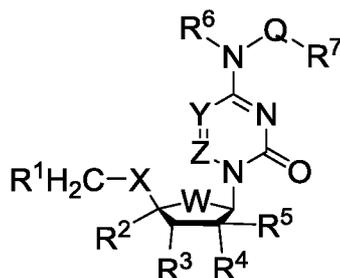
15 замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R²¹; и

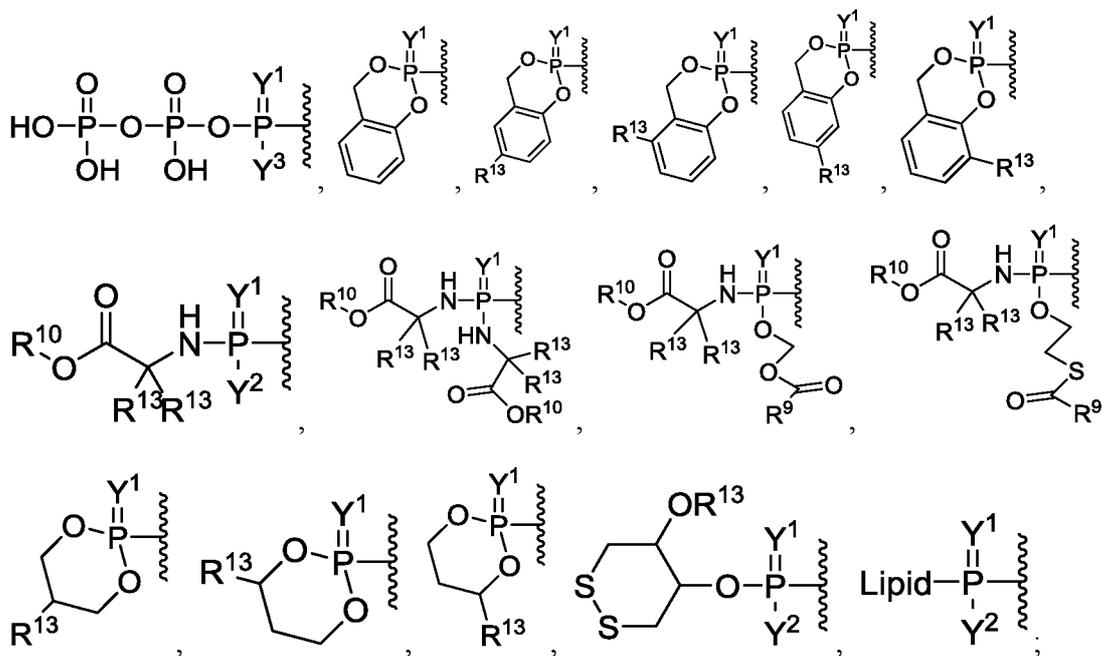
R²¹ представляет собой галоген, нитро, циано, гидроксид, трифторметокси, трифторметил, amino, формил, карбокси, карбамоил, меркапто, сульфамид, метил, этил, метокси, этокси, ацетил, ацетокси, метиламино, этиламино, диметиламино, диэтиламино, N-метил-N-этиламино, ацетиламино, N-метилкарбамоил, N-

20 этилкарбамоил, N,N-диметилкарбамоил, N,N-диэтилкарбамоил, N-метил-N-этилкарбамоил, метилтио, этилтио, метилсульфинил, этилсульфинил, метил, этилсульфонил, метоксикарбонил, этоксикарбонил, N-метилсульфамид, N-этилсульфамид, N,N-диметилсульфамид, N,N-диэтилсульфамид, N-метил-N-этилсульфамид, карбоциклл, арил или гетероциклл;

25 липид описан в данном документе.

В определенных вариантах осуществления настоящее раскрытие относится к соединению формулы II,





Y^1 представляет собой O или S;

5 Y^2 представляет собой OH, OR^{12} , Алкил или $BH_3^+M^+$;

Y^3 представляет собой OH или $BH_3^+M^+$;

R^2 представляет собой водород, алкил, алкенил, алкинил, этинил, фторметил, дифторметил, трифторметил, хлорметил, гидроксиметил, липид n , нитро, циано, гидрокси, amino, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил, азидо или гетероциклил, где R^2 необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{20} ;

10

R^3 представляет собой водород, гидрокси, алкил, галоген, нитро, циано, гидрокси, amino, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R^3 необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{20} ;

15

R^4 представляет собой водород, гидрокси, алкил, фторметил, дифторметил, трифторметил, гидроксиметил, галоген, нитро, циано, гидрокси, amino, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R^4 необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{20} ;

20

R^5 представляет собой водород, гидроксид, алкокси, алкил, алкенил, алкинил, этинил, фторметил, дифторметил, трифторметил, гидроксиметил, алленил, галоген, нитро, циано, amino, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоцикл, арил или гетероцикл, где R^5 необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{20} ;

R^6 представляет собой водород, гидроксид, алкокси, алкил, этинил, алленил, галоген, нитро, циано, amino, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоцикл, арил или гетероцикл, где R^6 необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{20} ;

каждый R^7 отсутствует или независимо выбран из водорода, $-(C=O)O$ алкила, $-(C=O)$ алкила, $-(C=O)N$ алкила, $-(C=O)N$ -диалкила, $-(C=O)S$ алкила, гидроксид, алкокси, алкила, высшего алкила, (C_6-C_{16}) алкила, (C_6-C_{22}) алкила, галогена, нитро, циано, amino, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоцикл, арила или гетероцикла, где каждый R^7 необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{20} ;

R^8 представляет собой водород, дейтерий, алкил, алкенил, алкинил, галоген, нитро, циано, гидроксид, бензилокси, amino, амидо, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, азидо, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоцикл, арил или гетероцикл, где R^8 необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{20} ;

R^9 представляет собой водород, метил, этил, трет-бутил, алкил, высший алкил, (C_6-C_{16}) алкил, (C_6-C_{22}) алкил, галоген, нитро, циано, гидроксид, amino, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, циклоалкил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоцикл, арил или гетероцикл, где R^9 необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{20} ;

R^{10} представляет собой водород, алкил, разветвленный алкил, циклоалкил, метил-липид, этил, изопропил, циклопентил, циклогексил, бутил, пентил, гексил, неопентил, бензил, галоген, нитро, циано, гидроксид, amino, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино,

алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R^{10} необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{20} ;

5 R^{11} представляет собой водород, дейтерий, алкил, метил, галоген, нитро, циано, гидроксид, амино, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R^{11} необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{20} ;

10 R^{12} представляет собой водород, алкил, арил, фенил, 1-нафтил, 2-нафтил, ароматический, гетероароматический 4-замещенный фенил, 4-фторфенил, 4-хлорфенил, 4-бромфенил, нафтил или гетероциклил, где R^{12} необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{20} ;

15 R^{13} представляет собой водород, дейтерий, алкил, алкенил, алкинил, галоген, нитро, циано, гидроксид, амино, амидо, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, липид, азидо, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R^{13} необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{20} ;

20 R^{14} представляет собой водород, дейтерий, алкил, алкенил, алкинил, галоген, нитро, циано, гидроксид, амино, амидо, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, липид, азидо, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R^{14} необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{20} ;

25 если Q представляет собой $-O(C=O)V-$, и V представляет собой NR^7 , то R^7 могут вместе образовывать кольцо, которое необязательно замещено одним или несколькими одинаковыми или различными R^{20} ;

30 R^{20} представляет собой дейтерий, алкил, алкенил, алкинил, галоген, нитро, циано, гидроксид, амино, амидо, меркапто, формил, карбокси, карбамоил, азидо, алкокси, алкилтио, алкиламино, (алкил)₂амино, алкилсульфинил, алкилсульфонил, арилсульфонил, карбоциклил, арил или гетероциклил, где R^{13} необязательно замещен одним или несколькими одинаковыми или различными R^{21} ; и

R^{21} представляет собой галоген, нитро, циано, гидроксид, трифторметокси, трифторметил, амино, формил, карбокси, карбамоил, меркапто, сульфоамино, метил, этил, метокси, этокси, ацетил, ацетокси, метиламино, этиламино, диметиламино,

диэтиламино, N-метил-N-этиламино, ацетиламино, N-метилкарбамоил, N-этилкарбамоил, N,N-диметилкарбамоил, N,N-диэтилкарбамоил, N-метил-N-этилкарбамоил, метилтио, этилтио, метилсульфинил, этилсульфинил, мезил, этилсульфонил, метоксикарбонил, этоксикарбонил, N-метилсульфамоил, N-этилсульфамоил, N,N-диметилсульфамоил, N,N-диэтилсульфамоил, N-метил-N-этилсульфамоил, карбоцикллил, арил или гетероцикллил;

липид описан в данном документе.

В определенных вариантах осуществления любое упоминание высшего алкила, (C₆-C₁₆)алкила может быть замещено (C₆-C₂₂)алкилом.

10 В определенных вариантах осуществления любое упоминание высшего алкила, (C₆-C₁₆)алкила или (C₆-C₂₂)алкила может быть замещено полиэтиленгликолем или -CH₂(CH₂OCH₂)_nCH₃, где n составляет 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11-20 или 30-100.

15 Способы применения

В определенных вариантах осуществления настоящее раскрытие относится к способам лечения или предупреждения вирусной инфекции, включающим введение эффективного количества соединения, раскрытого в данном документе, нуждающемуся в этом субъекту.

20 В определенных вариантах осуществления вирусная инфекция является или вызвана альфавирусом, флавивирусом или коронавирусами, ортомиксовирусами или парамиксовирусами или RSV, гриппом, вирусом Повассан, или филовирусами, или вирусом Эбола.

25 В определенных вариантах осуществления вирусная инфекция является или вызвана вирусом, выбранным из MERS-коронавируса, вируса восточного энцефалита лошадей, вируса западного энцефалита лошадей, вируса венесуэльского энцефалита лошадей, вируса реки Росс, вируса леса Барма, вируса Повассан и вируса Чикунгунья.

30 В определенных вариантах осуществления соединение вводится посредством ингаляции через легкие.

В некоторых вариантах осуществления субъект подвергается опасности заражения вирусом, проявляет симптомы вируса или у него диагностировали вирус гриппа А, включая подтипы H1N1, H3N2, H7N9 или H5N1, вирус гриппа В, вирус

гриппа С, ротавирус А, ротавирус В, ротавирус С, ротавирус D, ротавирус Е, коронавирус человека, SARS-коронавирус, MERS-коронавирус, типы аденовируса человека (от HAdV-1 до HAdV-55), папилломавирус человека (HPV) типы 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 и 59, парвовирус В19, вирус контагиозного моллюска, вирус JC (JCV), вирус ВК, полиомавирус клеток Меркеля, вирус Коксаки А, норовирус, вирус краснухи, вирус лимфатического хориоменингита (LCMV), вирус денге, чикунгунья, вирус восточного энцефалита лошадей (EEEV), вирус западного энцефалита лошадей (WEEV), вирус венесуэльского энцефалита лошадей (VEEV), вирус реки Росс, вирус леса Барма, вирус желтой лихорадки, вирус кори, вирус эпидемического паротита, респираторно-синцитиальный вирус, вирус чумы, вирус калифорнийского энцефалита, хантавирус, вирус бешенства, вирус Эбола, вирус Марбург, вирус простого герпеса 1 (HSV-1), вирус простого герпеса 2 (HSV-2), вирус ветряной оспы (VZV), вирус Эпштейна-Барра (EBV), цитомегаловирус (CMV), лимфотропный вирус герпеса, розеоловирус или вирус герпеса, ассоциированный с саркомой Капоши, гепатит А, гепатит В, гепатит С, гепатит D, гепатит Е или вирус иммунодефицита человека (HIV), Т-лимфотропный вирус человека тип I (HTLV-1), вирус Френд, вызывающий некроз селезенки (SFFV) или ксенотропный вирус связанный с MuLV (XMRV).

В определенных вариантах осуществления у субъекта диагностирован вирус гриппа А, включая подтипы H1N1, H3N2, H7N9, H5N1 (низкопат.) и H5N1 (высокопат.), вирус гриппа В, вирус гриппа С, ротавирус А, ротавирус В, ротавирус С, ротавирус D, ротавирус Е, SARS-коронавирус, MERS-CoV, типы аденовируса человека (от HAdV-1 до HAdV-55), папилломавирус человека (HPV) типы 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 и 59, парвовирус В19, вирус контагиозного моллюска, вирус JC (JCV), вирус ВК, полиомавирус клеток Меркеля, вирус Коксаки А, норовирус, вирус краснухи, вирус лимфатического хориоменингита (LCMV), вирус желтой лихорадки, вирус кори, вирус эпидемического паротита, респираторно-синцитиальный вирус, вирусы парагриппа 1 и 3, вирус чумы, чикунгунья, вирус восточного энцефалита лошадей (EEEV), вирус венесуэльского энцефалита лошадей (VEEV), вирус западного энцефалита лошадей (WEEV), вирус калифорнийского энцефалита, вирус японского энцефалита, вирус лихорадки долины Рифт (RVFV), хантавирус, серотипы вируса денге 1, 2, 3 и 4, вирус Западного Нила, вирус Такарибе, вирус Джунин, вирус бешенства, вирус Эбола, вирус Марбург,

аденовирус, вирус простого герпеса 1 (HSV-1), вирус простого герпеса 2 (HSV-2), вирус ветряной оспы (VZV), вирус Эпштейна-Барра (EBV), цитомегаловирус (CMV), лимфотропный вирус герпеса, розеоловирус или вирус герпеса, ассоциированный с саркомой Капоши, гепатит А, гепатит В, гепатит С, гепатит D, гепатит Е или вирус иммунодефицита человека (HIV).

В определенных вариантах осуществления у субъекта диагностирован гастроэнтерит, острое респираторное заболевание, тяжелый острый респираторный синдром, синдром послевирусной астении, вирусные геморрагические лихорадки, синдром приобретенного иммунодефицита или гепатит.

В определенных вариантах осуществления предполагается, что соединения и фармацевтические композиции, раскрытые в данном документе, подлежат введению в комбинации с другим(другими) противовирусным(противовирусными) средством(средствами), таким(такими) как абакавир, ацикловир, ацикловир, адефовир, амантадин, ампренавир, амплиген, арбидол, атазанавир, атрипла, боцепревир, цидофовир, комбивир, даклатасвир, дарунавир, дазабувир, делавирдин, диданозин, докозанол, эдоксудин, эфавиренз, эмтрицитабин, энфувиртид, энтекавир, фамцикловир, фомивирсен, фосампренавир, фоскарнет, фосфонет, ганцикловир, ибацитобин, имуновир, идоксуридин, имиквимод, индинавир, инозин, интерферон III типа, интерферон II типа, интерферон I типа, ламивудин, ледипасвир, лопинавир, ловирид, маравирок, мороксидин, метисазон, нелфинавир, невирапин, нексавир, омбитасвир, осельтамивир, паритапревир, пэгинтерферон альфа-2а, пенцикловир, перамивир, плеконарил, подофиллотоксин, ралтегравир, рибавирин, римантадин, ритонавир, пирамидин, саквинавир, симепревир, софосбувир, ставудин, телапревир, телбивудин, тенофовир, тенофовира дизопроксил, типранавир, трифлуридин, трививир, тромантадин, трувада, валацикловир, валганциловир, викривинок, видарабин, вирамидина зальцитабин, занамивир или зидовудин и их комбинации.

Составы

Фармацевтические композиции, раскрытые в данном документе, могут находиться в форме фармацевтически приемлемых солей, как в общем описано ниже. Некоторые предпочтительные, но не ограничивающие примеры подходящих фармацевтически приемлемых органических и/или неорганических кислот представляют собой хлористоводородную кислоту, бромистоводородную кислоту,

серную кислоту, азотную кислоту, уксусную кислоту и лимонную кислоту, а также другие известные фармацевтически приемлемые кислоты *per se* (для которых приводятся ссылки на источники, упомянутые ниже).

5 Если соединения по настоящему раскрытию содержат кислотную группу, а также основную группу, то соединения по настоящему раскрытию могут также образовывать внутренние соли, и такие соединения входят в объем настоящего раскрытия. Если соединение содержит гетероатом, являющийся донором водорода (например, NH), считается, что соли предусматривают изомеры, образованные переносом указанного атома водорода на основную группу или атом внутри
10 молекулы.

Фармацевтически приемлемые соли соединений включают их соли присоединения кислоты и основные соли. Подходящие соли присоединения кислоты образованы из кислот, которые образуют нетоксичные соли. Примеры солей включают ацетат, адипат, аспаргат, бензоат, безилат, бикарбонат/карбонат,
15 бисульфат/сульфат, борат, камзилат, цитрат, цикламат, эдизилат, эзилат, формиат, фумарат, глюцептат, глюконат, глюкуронат, гексафторфосфат, гибензат, гидрохлорид/хлорид, гидробромид/бромид, гидроиодид/иодид, изетионат, лактат, малат, малеат, малонат, мезилат, метилсульфат, нафтиллат, 2-напсилат, никотинат, нитрат, оротат, оксалат, пальмитат, памоат, фосфат/гидрофосфат/дигидрофосфат,
20 пироглутамат, сахарат, стеарат, сукцинат, таннат, тартрат, тозилат, трифторацетат и ксинафоат. Подходящие основные соли образованы из оснований, которые образуют нетоксичные соли. Примеры включают соли алюминия, аргинина, бензатина, кальция, холина, диэтиламина, диоламина, глицина, лизина, магния, меглюмина, оламина, калия, натрия, трометамина и цинка. Также могут образовываться
25 полусоли кислот и оснований, например, гемисульфатные и гемикальциевые соли. Для ознакомления с подходящими солями см. Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use by Stahl and Wermuth (Wiley-VCH, 2002), включенный в данный документ посредством ссылки.

Соединения, описанные в данном документе, можно вводить в форме
30 пролекарств. Пролекарство может включать ковалентно связанный носитель, который высвобождает активное исходное лекарственное средство, когда вводится субъекту, относящемуся к млекопитающим. Пролекарства могут быть получены посредством модификации функциональных групп, присутствующих в соединениях,

таким образом, что модификации расщепляются либо при стандартных действиях, либо *in vivo* до исходных соединений. Пролекарства включают, например, соединения, где гидроксильная группа связана с любой группой таким образом, что при введении субъекту, относящемуся к млекопитающим, расщепляется с образованием свободной гидроксильной группы. Примеры пролекарств включают без ограничения ацетатные, формиатные и бензоатные производные спиртовых функциональных групп в соединениях. Способы формирования структуры соединения в виде пролекарств можно найти в книге Testa and Mayer, *Hydrolysis in Drug and Prodrug Metabolism*, Wiley (2006). Типичные пролекарства образуют активный метаболит посредством трансформации пролекарства при помощи гидролитических ферментов, гидролиза амида, лактамов, пептидов, сложных эфиров карбоновых кислот, эпокидов или расщепления сложных эфиров неорганических кислот.

Фармацевтические композиции для применения, согласно настоящему раскрытию, как правило, содержат эффективное количество соединения и подходящий фармацевтически приемлемый носитель. Препараты могут быть получены известным способом *per se*, который обычно включает смешивание по меньшей мере одного соединения в соответствии с настоящим раскрытием с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми носителями и, если требуется, в комбинации с другими фармацевтически активными соединениями, когда необходимо, в асептических условиях. Снова приводится ссылка на патент США № 6372778, патент США № 6369086, патент США № 6369087 и патент США № 6372733 и на дополнительные ссылки, упоминавшиеся выше, а также стандартные справочные пособия, такие как последнее издание *Remington's Pharmaceutical Sciences*.

Как правило, для фармацевтического применения соединения могут быть составлены в виде фармацевтического препарата, содержащего по меньшей мере одно соединение и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель или наполнитель и/или вспомогательное средство и необязательно одно или несколько дополнительных фармацевтически активных соединений.

Фармацевтические препараты по настоящему раскрытию предпочтительно находятся в стандартной лекарственной форме и могут быть подходящим образом упакованы, например, в коробку, блистер, флакон, бутылку, саше, ампулу или в

любую другую подходящую емкость или контейнер для одной дозы или некоторого количества доз (которые могут быть надлежащим образом маркированы), необязательно с одним или несколькими вкладышами, содержащими информацию о продукте и/или инструкции по применению. Как правило, такие стандартные дозы
5 будут содержать 1-1000 мг, а обычно 5-500 мг, по меньшей мере одного соединения по настоящему раскрытию, например, приблизительно 10, 25, 50, 100, 200, 300 или 400 мг на стандартную дозу.

Соединения можно вводить посредством ряда путей, включая пероральный, окулярный, ректальный, трансдермальный, подкожный, внутривенный,
10 внутримышечный или интраназальный пути, преимущественно в зависимости от конкретного применяемого препарата. Как правило, соединение будет вводиться в "эффективном количестве", под которым имеется в виду любое количество соединения, которое при соответствующем введении достаточно для достижения необходимого терапевтического или профилактического эффекта у субъекта,
15 которому оно вводится. Обычно, в зависимости от состояния, подлежащего предупреждению или лечению, и пути введения, такое эффективное количество будет обычно составлять 0,01-1000 мг на килограмм веса тела пациента в сутки, чаще 0,1-500 мг, например, 1-250 мг, например, приблизительно 5, 10, 20, 50, 100, 150, 200 или 250 мг на килограмм веса тела пациента в сутки, которое можно
20 вводить в виде однократной суточной дозы, разделенной на одну или несколько суточных доз. Количество(количества), подлежащее(подлежащие) введению, путь введения и дополнительная схема лечения могут быть определены лечащим врачом в зависимости от таких факторов, как возраст, пол, и общее состояние пациента, и природа и тяжесть заболевания/симптомов, подлежащих лечению. Снова приводится
25 ссылка на патент США № 6372778, патент США № 6369086, патент США № 6369087 и патент США № 6372733 и на дополнительные ссылки, упоминавшиеся выше, а также стандартные справочные пособия, такие как последнее издание Remington's Pharmaceutical Sciences.

В зависимости от пути введения соединения, описанные в данном документе,
30 могут быть составлены посредством ряда способов. Составы, содержащие одно или несколько соединений, могут быть получены в виде различных форм выпуска, таких как гранулы, таблетки, капсулы, суппозитории, порошки, составы с контролируемым высвобождением, суспензии, эмульсии, крема, гели, мази, бальзамы, лосьоны или

аэрозоли и т. п. Предпочтительно данные составы используют в твердых лекарственных формах, подходящих для простого и предпочтительно перорального введения точных доз. Твердые лекарственные формы для перорального введения включают без ограничения таблетки, мягкие или твердые желатиновые или
5 нежелатиновые капсулы и капсуловидные таблетки. Тем не менее, также можно использовать жидкие лекарственные формы, такие как растворы, сиропы, суспензии, коктейли и т. д. В другом варианте осуществления состав вводят местно. Подходящие составы для местного применения включают без ограничения лосьоны, мази, крема и гели. В предпочтительном варианте осуществления состав для
10 местного применения представляет собой гель. В другом варианте осуществления состав вводят интраназально.

Составы, содержащие одно или несколько соединений, описанных в данном документе, могут быть получены с использованием фармацевтически приемлемого носителя, состоящего из материалов, которые считаются безопасными и
15 эффективными и которые можно вводить индивидууму, не вызывая нежелательных биологических побочных эффектов или нежелательных взаимодействий. Носитель представляет собой все компоненты, присутствующие в фармацевтическом составе, отличные от активного ингредиента или ингредиентов. Как правило, применяющийся в данном документе термин "носитель" включает без ограничения
20 разбавители, связующие, смазывающие вещества, разрыхлители, наполнители, средства, регулирующие рН, консерванты, антиоксиданты, усилители растворимости и композиции для нанесения покрытия.

Носитель также включает все компоненты композиции для нанесения покрытия, которые могут включать пластификаторы, пигменты, красители,
25 стабилизаторы и вещества, способствующие скольжению. Дозированные составы с отсроченным высвобождением, замедленным высвобождением и/или пульсирующим высвобождением могут быть получены, как описано в стандартных справочных пособиях, таких как "Pharmaceutical dosage form tablets", eds. Liberman et al. (New York, Marcel Dekker, Inc., 1989), "Remington – The science and practice of
30 pharmacy", 20th ed., Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, MD, 2000 и "Pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems", 6th Edition, Ansel et al., (Media, PA: Williams and Wilkins, 1995). Данные справочные пособия предоставляют информацию о носителях, материалах, оборудовании и способе получения таблеток

и капсул и лекарственных форм в виде таблеток, капсул и гранул с отсроченным высвобождением.

Примеры подходящих материалов для нанесения покрытия включают без ограничения целлюлозные полимеры, такие как ацетатфталат целлюлозы, гидроксипропилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза, фталат гидроксипропилметилцеллюлозы и ацетатсукцинат гидроксипропилметилцеллюлозы; поливинилацетатфталат, полимеры и сополимеры акриловой кислоты и метакриловые смолы, которые коммерчески доступны под торговым названием EUDRAGIT® (Roth Pharma, Вестерштадт, Германия), зеин, шеллак и полисахариды.

Кроме того, материал для нанесения покрытия может содержать традиционные носители, такие как пластификаторы, пигменты, красители, вещества, способствующие скольжению, стабилизаторы, порообразователи и поверхностно-активные вещества.

Необязательные фармацевтически приемлемые наполнители, присутствующие в таблетках, сферах, гранулах или частицах, содержащих лекарственное средство, включают без ограничения разбавители, связующие, смазывающие вещества, разрыхлители, красители, стабилизаторы и поверхностно-активные вещества. Разбавители, также называемые "заполнителями", как правило, необходимы для увеличения объема твердой лекарственной формы с тем, чтобы обеспечить практичный размер для прессования таблеток или формирования сфер и гранул. Подходящие разбавители включают без ограничения дикальцийфосфат дигидрат, сульфат кальция, лактозу, сахарозу, маннит, сорбит, целлюлозу, микрокристаллическую целлюлозу, каолин, хлорид натрия, сухой крахмал, гидролизованные крахмалы, прежелатинизированный крахмал, диоксид кремния, оксид титана, алюмосиликат магния и сахарную пудру.

Связующие применяются для придания когезивных свойств твердому дозированному составу и, таким образом, обеспечивают целостность таблетки, или сферы, или гранулы после формирования лекарственных форм. Подходящие связующие материалы включают без ограничения крахмал, прежелатинизированный крахмал, желатин, сахара (включая сахарозу, глюкозу, декстрозу, лактозу и сорбит), полиэтиленгликоль, воска, натуральные и синтетические смолы, такие как аравийская камедь, трагакант, альгинат натрия, целлюлоза, включая

гидроксипропилметилцеллюлозу, гидроксипропилцеллюлозу, этилцеллюлозу и вигум, и синтетические полимеры, такие как сополимеры акриловой кислоты и метакриловой кислоты, сополимеры метакриловой кислоты, сополимеры метилиметакрилата, сополимеры аминоалкилметакрилата, полиакриловая кислота/полиметакриловая кислота и поливинилпирролидон.

Смазывающие вещества применяются для облегчения изготовления таблеток. Примеры подходящих смазывающих веществ включают без ограничения стеарат магния, стеарат кальция, стеариновую кислоту, глицерилбегенат, полиэтиленгликоль, тальк и минеральное масло.

Разрыхлители применяются для улучшения распадаемости или "дробления" лекарственной формы после введения и, как правило, включают без ограничения крахмал, натрия крахмал гликолят, натрия карбоксиметилкрахмал, натрия карбоксиметилцеллюлоза, гидроксипропилцеллюлоза, прежелатинизированный крахмал, глины, целлюлоза, альгинин, смолы или сшитые полимеры, такие как сшитый PVP (Polyplasdone XL от GAF Chemical Corp).

Стабилизаторы применяются для подавления или замедления реакций разложения лекарственного средства, которые включают, в качестве примера, окислительные реакции.

Поверхностно-активные вещества могут представлять собой анионные, катионные, амфотерные или неионогенные поверхностно-активные средства. Подходящие анионные поверхностно-активные вещества включают без ограничения поверхностно-активные вещества, которые содержат карбоксилатные, сульфонатные и сульфатные ионы. Примеры анионных поверхностно-активных веществ включают натриевые, калиевые, аммонийные производные длинноцепочечных алкилсульфонатов и алкиларилсульфонатов, такие как додецилбензолсульфонат натрия; диалкилсульфосукцинаты натрия, такие как додецилбензолсульфонат натрия; диалкилсульфосукцинаты натрия, такие как бис-(2-этилтиоксил)-сульфосукцинат натрия, и алкилсульфаты натрия, такие как лаурилсульфат натрия. Катионные поверхностно-активные вещества включают без ограничения четвертичные аммонийные соединения, такие как хлорид бензалкония, хлорид бензетония, бромид цетримония, хлорид стеарилдиметилбензиламмония, полиоксиэтилен и амин жирных кислот кокосового масла. Примеры неионогенных поверхностно-активных веществ включают этиленгликольмоностеарат,

пропиленгликольмиристат, глицерилмоностеарат, глицерилстеарат, полиглицерил-4-олеат, сорбитанацилат, ацилат сахарозы, PEG-150 лаурат, PEG-400 монолаурат, полиоксиэтиленмонолаурат, полисорбаты, полиоксиэтилен октилфениловый эфир, PEG-1000 цетиловый эфир, полиоксиэтилентридецилэфир, бутиловый эфир

5 полипропиленгликоля, Poloxamer® 401, стеароилмоноизопропаноламид и полиоксиэтиленовый амид гидрогенизованного сала. Примеры амфотерных поверхностно-активных веществ включают натрий N-додецил-бета-аланин, натрий N-лаурил-бета-иминодипропионат, миристоамфоацетат, лаурилбетаин и лаурилсульфобетаин.

10 Если требуется, таблетки, сферы, гранулы или частицы могут также содержать незначительное количество нетоксичных вспомогательных веществ, таких как смачивающие или эмульгирующие средства, красители, рН-буферные средства или консерванты.

Концентрация соединения относительно носителя и/или других веществ

15 может варьироваться от приблизительно 0,5 до приблизительно 100 вес. % (весовой процент). Фармацевтический состав для перорального применения будет, как правило, содержать от приблизительно 5 до приблизительно 100% по весу активного материала. Фармацевтический состав для других вариантов применения будет, как правило, содержать от приблизительно 0,5 до приблизительно 50 вес. % активного

20 вещества.

Композиции, описанные в данном документе, могут представлять собой состав для модифицированного или контролируемого высвобождения. Примеры лекарственных форм с контролируемым высвобождением включают лекарственные

25 формы с замедленным высвобождением, лекарственные формы с отсроченным высвобождением, лекарственные формы с пульсирующим высвобождением и их комбинации.

Составы с замедленным высвобождением, как правило, получают в качестве диффузионных или осмотических систем, например, как описано в "Remington – The science and practice of pharmacy" (20th ed., Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore,

30 MD, 2000). Диффузионная система, как правило, состоит из двух типов средств – резервуарного и матричного, и хорошо известна и описана в уровне техники. Матричные средства, как правило, получают посредством прессования в таблетированную форму лекарственного средства с медленно растворяющимся

полимерным носителем. Три основных типа материалов, используемых при получении матричных средств, представляют собой нерастворимые пластмассы, гидрофильные полимеры и жирные соединения. Матрицы на основе пластмасс включают без ограничения метилакрилат-метилметакрилат, поливинилхлорид и полиэтилен. Гидрофильные полимеры включают без ограничения целлюлозные полимеры, такие как метилцеллюлоза и этилцеллюлоза, гидроксикалцеллюлозы, такие как гидроксипропилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза, натрия карбоксиметилцеллюлоза, и Carborol® 934, полиэтиленоксиды и их смеси. Жирные соединения включают без ограничения различные воска, такие как карнаубский воск, и глицерилтристеарат, и воскоподобные вещества, включая гидрогенизированное касторовое масло или гидрогенизированное растительное масло, или их смеси.

В определенных предпочтительных вариантах осуществления пластмассовый материал представляет собой фармацевтически приемлемый акриловый полимер, включая без ограничения сополимеры акриловой кислоты и метакриловой кислоты, метилметакрилат, сополимеры метилметакрилата, этоксиэтилметакрилаты, цианоэтилметакрилат, сополимер аминоалкилметакрилата, поли(акриловую кислоту), поли(метакриловую кислоту), алкиламиновый сополимер метакриловой кислоты, поли(метилметакрилат), поли(метакриловую кислоту)(ангидрид), полиметакрилат, полиакриламид, поли(ангидрид метакриловой кислоты) и сополимеры глицидилметакрилата.

В определенных предпочтительных вариантах осуществления акриловый полимер состоит из одного или нескольких аммонийно-метакрилатных сополимеров. Аммонийно-метакрилатные сополимеры хорошо известны из уровня техники и описаны в NF XVII как полностью полимеризованные сополимеры сложных эфиров акриловой и метакриловой кислоты с низким содержанием групп четвертичного аммония.

В одном предпочтительном варианте осуществления акриловый полимер представляет собой лак на основе акриловой смолы, например, такой, который является коммерчески доступным от Rohm Pharma под торговым названием Eudragit®. В других предпочтительных вариантах осуществления акриловый полимер включает смесь двух лаков на основе акриловой смолы, коммерчески доступных от Rohm Pharma под торговыми названиями соответственно Eudragit®

RL30D и Eudragit® RS30D. Eudragit® RL30D и Eudragit® RS30D представляет собой сополимеры сложных эфиров акриловой и метакриловой кислот с низким содержанием групп четвертичного аммония, при этом молярное соотношение аммонийных групп и остальных нейтральных сложных эфиров (мет)акриловой кислоты составляет 1:20 в Eudragit® RL30D и 1:40 в Eudragit® RS30D. Средняя молекулярная масса составляет приблизительно 150000. Eudragit® S-100 и Eudragit® L-100 также являются предпочтительными. Кодовые обозначения RL (высокая проницаемость) и RS (низкая проницаемость) относятся к свойствам проницаемости данных средств. Eudragit® RL/RS-смеси нерастворимы в воде и пищеварительных соках. Тем не менее, многочастичные системы, образованные для включения того же, поддаются набуханию и проницаемы в водных растворах и пищеварительных соках.

Описанные выше полимеры, такие как Eudragit® RL/RS можно смешивать вместе в любом необходимом соотношении, чтобы в итоге получить состав с пролонгированным высвобождением, имеющий необходимый профиль растворимости. необходимые многочастичные системы пролонгированного высвобождения можно получить, например, из 100% Eudragit® RL, 50% Eudragit® RL и 50% Eudragit® RS, а также 10% Eudragit® RL и 90% Eudragit® 90% RS. Специалисту в данной области будет понятно, что также можно использовать другие акриловые полимеры, такие как, например, Eudragit® L.

В качестве альтернативы, составы с замедленным высвобождением можно получать с использованием осмотических систем или при покрытии лекарственной формы полупроницаемым покрытием. В последнем случае необходимый профиль высвобождения лекарственного средства может быть обеспечен посредством комбинирования материалов для нанесения покрытия с низкой проницаемостью и высокой проницаемостью в подходящей пропорции.

Средства с различными механизмами высвобождения лекарственного средства, описанные выше, можно комбинировать в готовой лекарственной форме, содержащей одинарные или кратные единицы. Примеры кратных единиц включают без ограничения многослойные таблетки и капсулы, содержащие таблетки, сферы или гранулы.

Часть с немедленным высвобождением может быть добавлена к системе с замедленным высвобождением либо посредством нанесения слоя с немедленным

высвобождением поверх ядра с замедленным высвобождением с применением процесса покрытия или прессования, либо в системе с кратными единицами, такой как капсула, содержащая сферы с замедленным высвобождением и немедленным высвобождением.

5 Таблетки с замедленным высвобождением, содержащие гидрофильные полимеры, получают посредством известных в данной области техники методик, таких как способы прямого прессования, влажной грануляции или сухой грануляции. В их составы обычно включают полимеры, разбавители, связующие и смазывающие вещества, а также активный фармацевтический ингредиент. Обычные
10 разбавители включают инертные порошкообразные вещества, такие как крахмалы, порошкообразная целлюлоза, в особенности кристаллическая и микрокристаллическая целлюлоза, сахара, такие как фруктоза, маннит и сахароза, зерновая мука и подобные пищевые порошки. Типичные разбавители включают, например, различные типы крахмала, лактозу, маннит, каолин, фосфат кальция или
15 сульфат кальция, неорганические соли, такие как хлорид натрия, и сахарную пудру. Также применимы производные порошкообразной целлюлозы. Типичные связующие для таблеток включают такие вещества, как крахмал, желатин и сахара, такие как лактоза, фруктоза и глюкоза. Можно также использовать природные и синтетические смолы, включая аравийскую камедь, альгинаты, метилцеллюлозу и
20 поливинилпирролидон. Полиэтиленгликоль, гидрофильные полимеры, этилцеллюлоза и воски также могут выполнять функцию связующих. В случае таблетированного состава смазывающее вещество необходимо для предотвращения слипания таблетки и пуансонов в пресс-форме. Смазывающее вещество выбрано из таких скользких твердых веществ как тальк, стеарат магния и кальция, стеариновая
25 кислота и гидрогенизированные растительные масла.

Таблетки с замедленным высвобождением, содержащие воскообразные вещества, как правило, получают с применением способов, известных в данной области техники, таких как способ прямого смешивания, способ застывания и водно-дисперсионный способ. Способ застывания заключается в том, что лекарственное
30 средство смешивают с воскообразным материалом и применяют либо распыление с застыванием, либо обеспечивают застывание, затем просеивают и обрабатывают.

Составы с замедленным высвобождением создаются путем покрытия твердой лекарственной формы полимерной пленкой, которая нерастворима в кислой среде желудка, но растворима в нейтральной среде тонкого кишечника.

Единицы дозирования с замедленным высвобождением могут быть получены, например, путем покрытия лекарственного средства или композиции, содержащей лекарственное средство, выбранным материалом для нанесения покрытия. Композиция, содержащая лекарственное средство, может представлять собой, например, таблетку для включения в капсулу, таблетку для применения в качестве внутреннего ядра в дозированной форме в виде "ядра с покрытием" или множество сфер, частиц или гранул, содержащих лекарственное средство, подлежащих включению либо в таблетку, либо в капсулу. Предпочтительные материалы для нанесения покрытия включают биоразлагаемые, постепенно гидролизуемые, постепенно растворимые в воде и/или разлагаемые под действием ферментов полимеры и могут представлять собой традиционные "кишечнорастворимые" полимеры. Кишечнорастворимые полимеры, как будет понятно специалистам в данной области техники, становятся растворимыми в среде с более высоким pH нижних отделов желудочно-кишечного тракта или медленно разрушаются, когда лекарственная форма проходит через желудочно-кишечный тракт, тогда как разлагаемые под действием ферментов полимеры разрушаются бактериальными ферментами, присутствующими в нижнем отделе желудочно-кишечного тракта, особенно в толстой кишке. Подходящие материалы для нанесения покрытия способствующие отсроченному высвобождению включают без ограничения целлюлозные полимеры, такие как гидроксипропилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза, гидроксиметилцеллюлоза, ацетатсукцинат гидроксипропилметилцеллюлозы, фталат гидроксипропилметилцеллюлозы, метилцеллюлоза, этилцеллюлоза, ацетат целлюлозы, ацетатфталат целлюлозы, ацетаттримеллилат целлюлозы и натрия карбоксиметилцеллюлоза; полимеры и сополимеры акриловой кислоты, предпочтительно образованные из акриловой кислоты, метакриловой кислоты, метилакрилата, этилакрилата, метилметакрилата и/или этилметакрилата и других метакриловых смол, которые коммерчески доступны под торговым названием Eudragit® (Rohm Pharma; Вестерштадт, Германия), включая Eudragit® L30D-55 и L100-55 (растворимые при pH 5,5 и выше), Eudragit® L-100 (растворимый при pH 6,0

и выше), Eudragit® S (растворимый при pH 7,0 и выше в результате более высокой степени этерификации) и Eudragit® NE, RL и RS (нерастворимые в воде полимеры, характеризующиеся различными значениями степени проницаемости и растяжимости); полимеры и сополимеры винила, такие как поливинилпирролидон, 5 винилацетат, винилацетатфталат, сополимер винилацетата с кротоновой кислотой и сополимер этилена с винилацетатом; разлагаемые под действием ферментов полимеры, такие как азополимеры, пектин, хитозан, амилоза и гуаровая камедь; зеин и шеллак. Также могут быть использованы комбинации различных материалов для 10 нанесения покрытия. Также могут применяться многослойные покрытия с использованием различных полимеров.

Предпочтительные значения веса покрытия для определенных материалов для нанесения покрытия могут быть легко определены специалистами в данной области техники посредством оценивания индивидуальных профилей высвобождения для таблеток, сфер и гранул, полученных с различными 15 количествами различных материалов для нанесения покрытия. Именно комбинация материалов, способ и форма применения обеспечивают необходимые характеристики высвобождения, которые можно определить только из клинических исследований.

Композиция для нанесения покрытия может содержать традиционные 20 добавки, такие как пластификаторы, пигменты, красители, стабилизаторы, вещества, способствующие скольжению и т. д. Пластификатор обычно присутствует с целью снижения хрупкости покрытия и, как правило, он составляет от приблизительно 10 вес. % до 50 вес. % относительно сухого веса полимера. Примеры типичных пластификаторов включают полиэтиленгликоль, пропиленгликоль, триацетин, 25 диметилфталат, диэтилфталат, дибутилфталат, дибутилсебацинат, триэтилцитрат, трибутилцитрат, триэтилацетилцитрат, касторовое масло и ацетилированные моноглицериды. Стабилизатор предпочтительно используют для стабилизации частиц в дисперсии. Типичными стабилизаторами являются неионогенные эмульгаторы, такие как сложные эфиры сорбитана, полисорбаты и 30 поливинилпирролидон. Вещества, способствующие скольжению, рекомендуются для снижения эффектов прилипания при образовании пленки и высушивании и, как правило, составляют примерно от 25 вес. % до 100 вес. % от веса полимера в растворе для нанесения покрытия. Тальк представляет собой одно из эффективных

веществ, способствующих скольжению. Могут также использоваться другие вещества, способствующие скольжению, такие как стеарат магния и моностеараты глицерина. Можно также использовать такие пигменты, как диоксид титана. К композиции для нанесения покрытия также можно добавлять небольшие количества

5 противовспенивающего средства, такого как силикон (например, симетикон).

Состав может обеспечивать пульсирующую доставку одного или нескольких соединений. Под "пульсирующей" имеется в виду, что множество доз лекарственного средства высвобождается через отдельные интервалы времени. Как правило, при приеме внутрь лекарственной формы высвобождение начальной дозы

10 является, по сути, немедленным, т. е. первый «импульс» высвобождения лекарственного средства происходит в течение приблизительно одного часа после приема внутрь. За этим начальным импульсом следует первый интервал времени (время задержки), в течение которого либо высвобождается очень малое количество лекарственного средства, либо оно вообще не высвобождается из лекарственной

15 формы, после чего затем высвобождается вторая доза. Аналогично можно предусмотреть второй интервал, когда практически не происходит высвобождения лекарственного средства, между вторым и третьим импульсами высвобождения лекарственного средства. Длительность интервала времени, когда практически не происходит высвобождения лекарственного средства, будет варьироваться в

20 зависимости от схемы приема лекарственной формы, например, профиль дозирования два раза в сутки, профиль дозирования три раза в сутки и т. д. Для лекарственных форм, которые имеют профиль дозирования два раза в сутки, интервал, когда практически не происходит высвобождения лекарственного средства, имеет продолжительность примерно от 3 часов до 14 часов между первой и

25 второй дозой. Для лекарственных форм с профилем три раза в сутки интервал, когда практически не происходит высвобождения лекарственного средства, имеет продолжительность примерно от 2 часов до 8 часов между каждой из трех доз.

В одном варианте осуществления профиль пульсирующего высвобождения достигается с помощью лекарственных форм, которые являются закрытыми и

30 предпочтительно герметичными капсулами, содержащими по меньшей мере две "единицы дозирования", содержащие лекарственное средство, где каждая единица дозирования внутри капсулы обеспечивает различный профиль высвобождения лекарственного средства. Контроль за единицей(единицами) дозирования с

отсроченным высвобождением осуществляется за счет полимерного покрытия с контролируемым высвобождением на единице дозирования или посредством включения активного средства в полимерную матрицу с контролируемым высвобождением. Каждая единица дозирования может включать спрессованную или

5 формованную таблетку, где каждая таблетка в капсуле обеспечивает различный профиль высвобождения лекарственного средства. В случае лекарственных форм, имитирующих профиль дозирования два раза в сутки, первая таблетка высвобождает лекарственное средство практически немедленно после приема внутрь

10 лекарственной формы, тогда как вторая таблетка высвобождает лекарственное средство по прошествии примерно от 3 часов до менее 14 часов после приема внутрь лекарственной формы. В случае лекарственных форм, имитирующих профиль дозирования три раза в сутки, первая таблетка высвобождает лекарственное средство практически немедленно после приема внутрь лекарственной формы, вторая

15 таблетка высвобождает лекарственное средство по прошествии примерно от 3 часов до менее 10 часов после приема внутрь лекарственной формы, и третья таблетка высвобождает лекарственное средство по прошествии по меньшей мере от 5 часов до примерно 18 часов после приема внутрь лекарственной формы. Лекарственная форма может включать более трех таблеток. Хотя лекарственная форма, как правило, не включает более трех таблеток, могут применяться лекарственные формы

20 заключающие в себе более трех таблеток.

В качестве альтернативы, каждая единица дозирования в капсуле может содержать множество сфер, гранул или частиц, содержащих лекарственное средство. Как известно в данной области техники, "сферы", содержащие лекарственное средство, относятся к сферам, выполненным из лекарственного средства и одного

25 или нескольких наполнителей или полимеров. Сферы, содержащие лекарственное средство, могут быть получены посредством нанесения лекарственного средства на инертную подложку, например, инертные сферы из сахара, покрытые лекарственным средством, или посредством образования "ядра", содержащего как лекарственное средство, так и один или несколько наполнителей. Как также

30 известно, "гранулы" и "частицы", содержащие лекарственное средство, содержат частицы лекарственного средства, которые могут содержать или не содержать один или несколько дополнительных наполнителей или полимеров. В отличие от сфер, содержащих лекарственное средство, гранулы и частицы не содержат инертной

подложки. Гранулы, как правило, содержат частицы лекарственного средства и требуют дальнейшей обработки. Как правило, частицы имеют меньший размер, чем гранулы, и в дальнейшем не обрабатываются. Хотя сферы, гранулы и частицы могут быть составлены для обеспечения немедленного высвобождения, сферы и гранулы, как правило, используют, чтобы обеспечить отсроченное высвобождение.

В одном варианте осуществления соединения составляют для обеспечения местного применения. Подходящие лекарственные формы для местного применения включают лосьоны, крема, мази и гели. "Гель" представляет собой полутвердую систему, содержащую дисперсию активного средства, т. е. соединения, в жидкой среде-носителе, которая считается полутвердой из-за действия загустителя или полимерного материала, растворенного или суспендированного в жидкой среде-носителе. Жидкость может включать липофильный компонент, водный компонент или и тот, и другой. Некоторые эмульсии могут представлять собой гели или включать гелевый компонент. Тем не менее, некоторые гели не являются эмульсиями, поскольку они не содержат гомогенизованную смесь несмешивающихся компонентов. Способы получения лосьонов, кремов, мазей и гелей хорошо известны из уровня техники.

Соединение, описанное в данном документе, можно вводить совместно с другими активными соединениями. Такие соединения включают без ограничения анальгетики, противовоспалительные лекарственные средства, антипиретики, антидепрессанты, противоэпилептические средства, антигистаминные препараты, противомигренозные лекарственные средства, антимускарины, анксиолитики, седативные средства, снотворные средства, антипсихотические средства, бронходилаторы, противоастматические лекарственные средства, сердечно-сосудистые лекарственные средства, кортикостероиды, дофаминергические препараты, электролиты, желудочно-кишечные препараты, миорелаксанты, питательные вещества, витамины, парасимпатомиметики, стимуляторы, анорексик и препараты от нарколепсии. "Совместное введение" в контексте данного документа означает, что соединение можно вводить в той же лекарственной форме или в отдельных лекарственных формах с одним или несколькими другими активными средствами.

Конкретные примеры соединений, которые могут быть совместно введены с этими соединениями, включают без ограничения ацеклофенак, ацетаминофен,

адомексетин, алмотриптан, алпразолам, амантадин, амцинонид, аминоклопропан, амитриптилин, амлодипин, амоксапин, амфетамин, арипипразол, аспирин, атомоксетин, азасетрон, азатадин, беклометазон, бенактизин, беноксапрофен, бермопрофен, бетаметазон, бицифадин, бромокриптин, будезонид, бупренорфин, бупропион, буспирон, буторфанол, бутриптилин, кофеин, карбамазепин, карбидопа, каризопродол, целекоксиб, хлордиазепоксид, хлорпромазин, холин салицилат, циталопрам, кломипрамин, клоназепам, клонидин, клонитазен, клоразепат, клотиазепам, клоксазолам, клозапин, кодеин, кортикостерон, кортизон, циклобензаприн, ципрогептадин, демексиптилин, дезипрамин, дезоморфин, дексаметазон, дексанабинол, декстроамфетаминсульфат, декстроморамид, декстропропаксифен, дезоцин, диазепам, дибензепин, диклофенак натрия, дифлунисал, дигидрокодеин, дигидроэрготамин, дигидроморфин, диметакрин, дивальпроекс, дизатриптан, доласетрон, донепезил, дотиепин, доксепин, дулоксетин, эрготамин, эсциталопрам, эстазолам, этосуксимид, этодолак, фемоксетин, фенаматы, фенопрофен, фентанил, флудиазепам, флуоксетин, флуфеназин, флуразепам, флурбипрофен, флутазолам, флувоксамин, фроватриптан, габапентин, галантамин, гепирон, гинко-билоба, гранисетрон, галоперидол, гуперзин А, гидрокодон, гидрокортизон, гидроморфон, гидроксизин, ибупрофен, имипрамин, индиплон, индометацин, индопрофен, иприндол, ипсапирон, кетасерин, кетопрофен, кеторолак, лесопитрон, леводопа, липаза, лофепрамин, лоразепам, локсапин, мапротилин, мазиндол, мефенамовая кислота, мелатонин, мелитрацен, мемантин, меперидин, мепробамат, мезаламин, метапрамин, метаксалон, метадон, метадон, метамфетамин, метокарбамол, метилдопа, метилфенидат, метилсалицилат, метисергид, метоклопрамид, миансерин, мифепристон, милнаципран, минаприн, миртазапин, моклобемид, модафинил (от нарколепсии), молиндон, морфин, морфина гидрохлорид, набуметон, надолол, напроксен, наратриптан, нефазодон, нейронтин, номифензин, нортриптилин, оланзапин, олсалазин, ондансетрон, опипрамол, орфенадрин, оксафлоран, оксапразин, оксазепам, окситриптан, оксикодон, оксиморфон, панкрелипаза, парекоксиб, пароксетин, пемолин, пентазоцин, пепсин, перфеназин, фенацетин, фендиметразин, фенметразин, фенилбутазон, фенитоин, фосфатидилсерин, пимозид, пирлиндол, пироксикам, пизотифен, пизотилин, прамипексол, преднизолон, преднизон, прегабалин, пропранолол, пропизепин, пропаксифен, протриптилин, квазепам, хинупрамин, ребокситин, резерпин,

рисперидон, ритансерин, ривастигмин, ризатриптан, рофекоксиб, ропинирол, ротиготин, салсалат, сертралин, сибутрамин, силденафил, сульфасалазин, сулиндак, суматриптан, такрин, темазепам, тетрабенозин, тиазиды, тиоридазин, тиотиксен, тиаприд, тиазипирон, тизанидин, тофенацин, толметин, толоксатон, топирамат, трамадол, тразодон, триазолам, трифторперазин, триметобензамид, тримипрамин, тропизетрон, валдекоксиб, вальпроевая кислота, венлафаксин, виллоксазин, витамин Е, зимелдин, зипрасидон, золмитриптан, золпидем, зопиклон и их изомеры, соли и комбинации.

Дополнительное(дополнительные) активное(активные) средство(средства) может(могут) быть составлен(составлены) для немедленного высвобождения, контролируемого высвобождения или их комбинаций.

ПРИМЕРЫ

Пример 1. Синтез N4-гидроксицитидина или 1-(3,4-дигидрокси-5-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-2-ил)-4-(гидроксиамино)пиримидин-2-она (EIDD-01931)

Защита уридина путем персиллирования сопровождается активацией 4-положения нуклеоснования с помощью затрудненной арилсульфонильной группы (см. фигуру 1). Замена данной группы гидроксиламином обеспечивает размещение N-4-гидрокси-фрагмента. Общее снятие защиты с применением одного из ряда доступных источников фторида обеспечивает необходимый продукт.

Соединение может быть получено в одну стадию из цитидина посредством нагревания в рН-регулируемом растворе гидроксилamina. Несмотря на то, что он короче, данный путь обычно имеет тенденцию обеспечивать меньший выход и требует очистки посредством колоночной флэш-хроматографии с обращенной фазой, ограничивая его применение получением меньших количеств.

Пример 2. Общие способы. Все химические реакции осуществляли в высушенной в печи лабораторной посуде из стекла в атмосфере азота, за исключением случаев, где указано иное. Химические вещества и растворители были чистыми для анализа и приобретались у коммерческих поставщиков (как правило, Aldrich, Fisher, Acros, Carbosynth Limited и Oakwood Chemical) и использовались в том виде, в котором поставлялись, за исключением случаев, где указано иное. В частности, EIDD-1910, EIDD-1993 и EIDD-2003 приобретались в Carbosynth Limited. Применяемые для реакций растворители (тетрагидрофуран, метанол, ацетонитрил, дихлорметан, толуол, пиридин, диметилформамид) были на $\geq 99,9\%$ безводными во всех случаях. Все реакции сопровождалась тонкослойной хроматографией (TLC) до завершения, если не указано иное. TLC-анализ осуществляли на силикагеле с использованием освещения, получаемого с помощью УФ-лампы (254 нм), или окрашивания с помощью KMnO_4 и нагревания. Ручную колоночную флэш-хроматографию осуществляли с помощью силикагеля 40-60 микрон (размер частиц 60 Å) RediSep R_f, приобретенного в Teledyne Isco, в качестве неподвижной фазы. Автоматическую градиентную колоночную флэш-хроматографию осуществляли на Teledyne Isco CombiFlash Companion; разделения с нормальной фазой осуществляли с помощью расфасованного силикагеля RediSep R_f в качестве неподвижной фазы, и разделения с

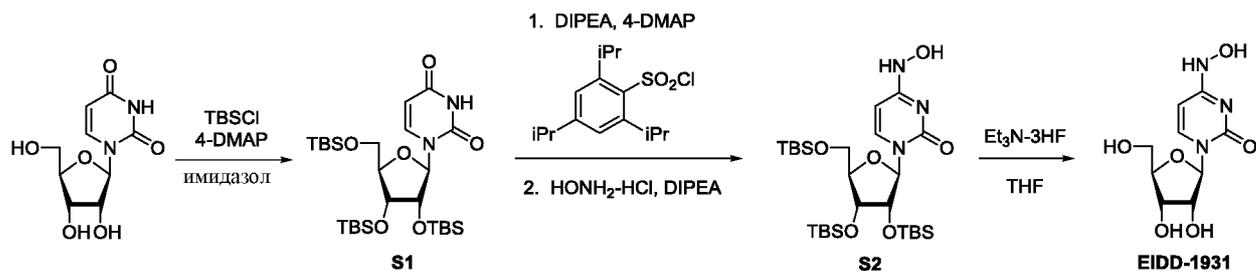
обращенной фазой осуществляли с помощью неподвижной фазы в виде расфасованного RediSep R_f C₁₈ High Performance Gold. Очистки с использованием трифосфата осуществляли с использованием ионообменной хроматографии с DEAE (диэтиламиноэтил) Sephadex A-25 в качестве неподвижной фазы и водным ТЕАВ (бикарбонат триэтиламония) в качестве подвижной фазы.

¹H ЯМР-спектры измеряли на приборе Varian (400 МГц) и обрабатывали с использованием программного обеспечения MestReNova, версия 9.0.1. Химические сдвиги измеряли относительно соответствующего пика растворителя: CDCl₃ (δ 7,27), DMSO-*d*₆ (δ 2,50), CD₃OD (δ 3,31), D₂O (δ 4,79). Следующие сокращения использовались для описания сочетания: s = синглет, d = дуплет, t = триплет, q = квартет, p = пентет, m = мультиплет, br = широкий. ¹³C ЯМР-спектр измеряли на приборе Varian при 100 МГц с химическими сдвигами относительно соответствующего пика растворителя: CDCl₃ (δ 77,0), DMSO-*d*₆ (δ 39,5), CD₃OD (δ 49,0). ¹⁹F-спектры измеряли на приборе Varian при 376 МГц, и ³¹P-спектры измеряли на приборе Varian при 162 МГц. Химические сдвиги для ¹⁹F-спектров, ³¹P-спектров и ¹³C-спектров (только в D₂O) калибровали с помощью программного обеспечения MestReNova с применением функции абсолютного эталона к соответствующему ¹H ЯМР-спектру в том же растворителе.

20

В штатном режиме (низкое разрешение) жидкостную хроматографию / масс-спектрометрию осуществляли с использованием жидкостного хроматографа 1200 серии от Agilent (детектор поглощения УФ при 254 нм) с использованием Zorbax Eclipse XDB C₁₈ 4,6x50 мм, колонка 3,5 микрона, с элюированием смесью MeOH/вода (как правило, 95/5 изократическая) и квадрупольного анализатора Agilent 6120 LCMS. Масс-спектрометрию высокого разрешения осуществляли в Emory University Mass Spectrometry Center на Thermo LTQ-FTMS с использованием либо APCI, либо ESI.

Пример 3



S1. В 2-л 3-горлую колбу, оборудованную мешалкой с верхним приводом и системой впуска азота, помещали уридин (25 г, 102 ммоль) и 1 л дихлорметана. Полученный раствор охлаждали до 0°C и последовательно добавляли 4-DMAP (1,251 г, 10,24 ммоль) и имидазол (27,9 г, 409 ммоль). Добавляли TBSCl (61,7 г, 409 ммоль) в течение 10 минут и полученную смесь нагревали до температуры окружающей среды и перемешивали в течение 18 часов. К реакционной смеси добавляли воду (300 мл) и перемешивали при к. т. в течение 2 ч., слои разделяли и водный слой экстрагировали дополнительным количеством дихлорметана.

Объединенные органические слои промывали солевым раствором (1 x 300 мл), высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением 75 г прозрачного бесцветного масла. Очистка флэш-хроматографией (градиент EtOAc в гексанах от 5 до 20%) обеспечивала получение соединения **S1** (45 г, 75%) в виде прозрачного бесцветного масла, которое твердело при высушивании *in vacuo*: ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8,09 (s, 1H), 8,02 (d, *J* = 8,2 Гц, 1H), 5,87 (d, *J* = 3,6 Гц, 1H), 5,67 (dd, *J* = 8,1, 2,2 Гц, 1H), 4,07 (q, *J* = 3,8, 3,3 Гц, 1H), 3,98 (dd, *J* = 11,7, 1,7 Гц, 1H), 3,75 (dd, *J* = 11,7, 1,1 Гц, 1H), 0,94 (s, 9H), 0,90 (s, 9H), 0,88 (s, 9H), 0,13 (s, 3H), 0,12 (s, 3H), 0,08 (s, 3H), 0,07 (s, 3H), 0,07 (s, 3H), 0,06 (s, 3H).

20

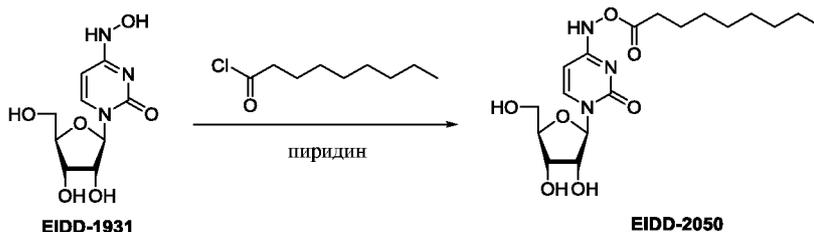
S2. В 1-л круглодонную колбу помещали соединение **S1** (28 г, 47,7 ммоль) и дихлорметан (700 мл). Раствор охлаждали до 0°C с использованием ледяной бани; последовательно добавляли 4-DMAP (0,583 г, 4,77 ммоль) и *N,N*-диизопропилэтиламин (41,7 мл, 239 ммоль). В колбу медленно добавляли 2,4,6-триизопропилбензол-1-сульфонилхлорид (28,9 г, 95 ммоль) и после завершения добавления колбу нагревали до температуры окружающей среды и перемешивали в течение 18 часов. Темно-оранжевый раствор охлаждали до 0°C с помощью ледяной бани и с помощью шприца добавляли *N,N*-диизопропилэтиламин (24,66 г, 191 ммоль), после чего сразу добавляли весь твердый гидросиламина гидрохлорид

25

(13,26 г, 191 ммоль). Смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 3 часов. Реакционную смесь гасили водой (200 мл) и разделяли полученные слои. Водный слой экстрагировали дихлорметаном (200 мл) и объединенные органические вещества промывали солевым раствором, высушивали над сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении с получением темно-оранжевого масла. Очистка флэш-хроматографией (градиент EtOAc в гексанах от 15 до 50%) обеспечивала получение соединения **S2** (19,8 г, 69% в 2 стадии) в виде масла, которое твердело до полутвердого состояния при высушивании *in vacuo*: ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8,15 (s, 1H), 6,31 (s, 1H), 5,91 (d, *J* = 4,6 Гц, 1H), 5,56 (dd, *J* = 8,2, 2,0 Гц, 1H), 4,07 (m, 2H), 4,02 (m, 1H), 3,91 (dd, *J* = 11,6, 2,4 Гц, 1H), 3,73 (dd, *J* = 11,6, 2,4 Гц, 1H), 0,95 (s, 9H), 0,92 (s, 9H), 0,89 (s, 9H), 0,12 (s, 6H), 0,098 (s, 3H), 0,083 (s, 3H), 0,063 (s, 3H), 0,057 (s, 3H); LRMS масса/заряд 602,3 [M+H]⁺.

EIDD-1931. В круглодонную колбу объемом 50 мл помещали соединение **S2** (23,3 г, 38,7 ммоль) и THF (50 мл). Триэтиламина тригидрофторид (6,30 мл, 38,7 ммоль) добавляли весь сразу и смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 18 часов. Смесь концентрировали при пониженном давлении, и остаток растворяли в минимальном количестве MeOH, и такой раствор медленно добавляли в колбу Эрленмейера, содержащую быстро перемешиваемый дихлорметан (500 мл) для осаждения продукта; смесь перемешивали при к. т. в течение 15 минут. Измельченное в порошок твердое вещество собирали посредством вакуумной фильтрации и промывали дихлорметаном, затем простым эфиром. Твердое вещество высушивали *in vacuo* с получением указанного в заголовке соединения (7,10 г, 71%) в виде твердого белого вещества: ¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD) δ 7,16 (d, *J* = 8,2 Гц, 1H), 5,86 (d, *J* = 5,6 Гц, 1H), 5,59 (d, *J* = 8,2 Гц, 1H), 4,19 - 4,04 (m, 2H), 3,93 (q, *J* = 3,3 Гц, 1H), 3,77 (dd, *J* = 12,2, 2,9 Гц, 1H), 3,68 (dd, *J* = 12,1, 2,9 Гц, 1H); ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) δ 9,95 (s, 1H), 9,46 (s, 1H), 7,02 (d, *J* = 8,2 Гц, 1H), 5,71 (d, *J* = 6,3 Гц, 1H), 5,54 (d, *J* = 7,7 Гц, 1H), 5,23 (d, *J* = 6,0 Гц, 1H), 5,02 (d, *J* = 4,6 Гц, 1H), 4,98 (t, *J* = 5,1 Гц, 1H), 3,95 (q, *J* = 5,9 Гц, 1H), 3,89 (td, *J* = 4,9 Гц, 3,0 Гц, 1H), 3,75 (q, *J* = 3,4 Гц, 1H), 3,50 (qdd, *J* = 11,9 Гц, 5,2 Гц, 3,5 Гц, 2H); ¹³C ЯМР (101 МГц, DMSO-*d*₆) δ 150,0, 143,9, 130,5, 98,89, 87,1, 85,0, 72,8, 70,8, 61,8. LRMS масса/заряд 260,1 [M+H]⁺.

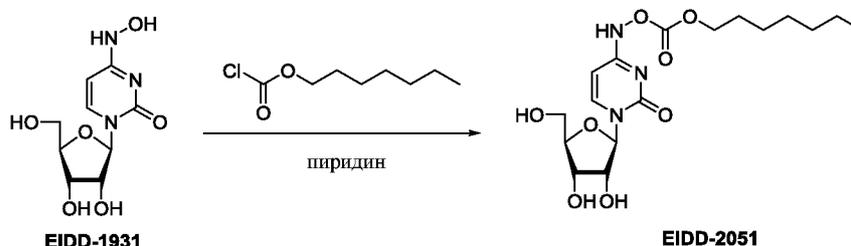
Пример 4.



EIDD-2050. Раствор соединения **EIDD-1931** (124 мг, 0,478 ммоль) в безводном пиридине (5 мл) охлаждали до -20°C и обрабатывали по каплям нонаноилхлоридом (95 мкл, 0,528 ммоль) в течение периода, составляющего 5 минут. Смесь перемешивали при 0°C в течение 15 ч. и затем гасили метанолом (2 мл). Через 20 мин. при к. т. смесь концентрировали до сухого состояния, а затем очищали посредством флэш-хроматографии (градиент MeOH в DCM от 1 до 5%). Полученное очищенное твердое вещество совместно выпаривали с метиленхлоридом (3 x 10 мл) и затем высушивали в глубоком вакууме в течение 40 ч. с получением указанного в заголовке соединения (82 мг, 43%) в виде твердого белого вещества: ^1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD) δ 7,50 (d, $J = 8,3$ Гц, 1H), 5,88 (d, $J = 5,1$ Гц, 1H), 5,70 (d, $J = 8,2$ Гц, 1H), 4,19 - 4,08 (m, 1H), 3,97 (q, $J = 3,1$ Гц, 1H), 3,80 (dd, $J = 12,2, 2,9$ Гц, 1H), 3,70 (dd, $J = 12,2, 3,3$ Гц, 1H), 2,49 (t, $J = 7,4$ Гц, 2H), 1,67 (p, $J = 7,4$ Гц, 2H), 1,37 - 1,24 (m, 9H), 0,93 - 0,84 (m, 3H); ^{13}C ЯМР (101 МГц, CD_3OD) δ 171,4, 149,7, 149,4, 134,6, 95,97, 88,5, 84,9, 73,7, 70,2, 61,1, 31,8, 31,6, 28,9, 28,9, 28,8, 24,6, 22,3, 13,0; LRMS масса/заряд 400,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

20

Пример 5

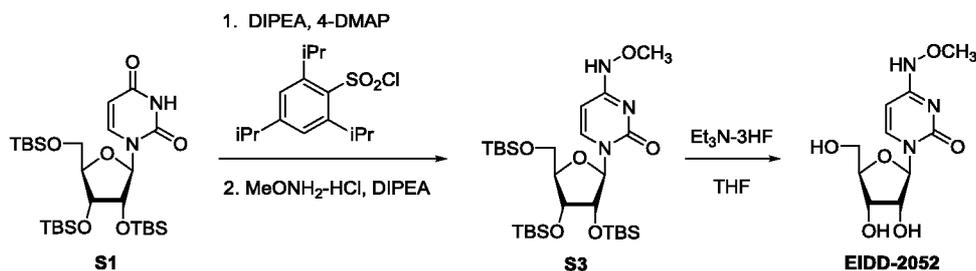


EIDD-2051. К перемешанному раствору соединения **EIDD-1931** (0,194 г, 0,75 ммоль) в пиридине (4,8 мл) при 0°C в атмосфере азота по каплям с помощью шприца добавляли гептилхлорформиат (0,15 мл, 0,825 ммоль). Смесь перемешивали

25

при 0°C в течение 4 ч. и затем концентрировали посредством ротационного выпаривания. Смесь поглощали с помощью DCM с каплей MeOH и проводили автоматизированную флэш-хроматографию (колонка 40 г, градиент MeOH в DCM от 0 до 15%) с получением указанного в заголовке соединения (0,126 г, 42%) в виде порошкообразного белого твердого вещества. ЯМР-анализ демонстрирует смесь ротамеров 9:1 (большинство сигналов вблизи нуклеосахаридной части удваиваются или являются единичными, но расширенными): ¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD, только основной ротамер) δ 7,50 (d, *J* = 8,3 Гц, 1H), 5,86 (d, *J* = 5,0 Гц, 1H), 5,69 (d, *J* = 8,2 Гц, 1H), 4,23 (t, *J* = 6,6 Гц, 2H), 4,13 (q, *J* = 5,1 Гц, 1H), 4,10 (q, *J* = 4,0 Гц, 1H), 3,96 (q, *J* = 3,4 Гц, 1H), 3,79 (dd, *J* = 12,2, 2,8 Гц, 1H), 3,69 (dd, *J* = 12,2 Гц, 3,2 Гц, 1H), 1,77-1,65 (m, 2H), 1,45-1,25 (m, 8H), 0,90 (t, *J* = 6,9 Гц, 3H); ¹³C ЯМР (100 МГц, CD₃OD, только основной ротамер) δ 153,3, 149,0, 148,7, 133,9, 94,9, 88,0, 84,2, 73,1, 69,5, 68,0, 60,5, 30,9, 28,0, 27,7, 24,7, 21,6, 12,4; HRMS расщ. для C₁₇H₂₈N₃O₈ [M+H]⁺: 402,18709, найденное значение : 402,18774.

15 Пример 6



S3. К перемешанному раствору соединения **S1** (2,20 г, 3,75 ммоль) в DCM (37 мл) при 0°C в атмосфере азота последовательно добавляли 4-DMAP (0,460 г, 3,75 ммоль), триэтиламин (0,78 мл, 5,62 ммоль) и 2,4,6-триизопропилбензол-1-сульфонилхлорид (1,70 г, 5,62 ммоль). Смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали 16 ч. Смесь повторно охлаждали до 0°C и с помощью шприца добавляли триэтиламин (2,60 мл, 18,75 ммоль), после чего добавляли сразу весь *O*-метилгидроксиамина гидрохлорид (1,56 г, 18,75 ммоль). Смесь нагревали до к. т. и перемешивали 3 ч., затем гасили добавлением воды. Органический слой удаляли и органический слой промывали солевым раствором. Объединенные водные слои экстрагировали с помощью DCM (2 x 25 мл) и объединенные органические слои высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали посредством ротационного выпаривания. Неочищенное вещество очищали посредством флэш-хроматографии (градиент EtOAc в гексанах от 10 до 20%) с получением соединения

хроматографию (колонка 40 г, градиент EtOAc в гексанах от 5 до 20%) с получением соединения **S4** (1,50 г, 96%) в виде белого хлопьевидного твердого вещества: ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8,27 (d, $J = 8,2$ Гц, 1H), 7,92 (s, 1H), 5,92 (s, 1H), 5,64 (dd, $J = 8,2$ Гц, 2,3 Гц, 1H), 4,05-3,95 (m, 2H), 3,83 (d, $J = 9,1$ Гц, 1H), 3,73 (d, $J = 11,2$ Гц, 1H), 1,21 (s, 3H), 0,20 (s, 9H), 0,18 (s, 9H), 0,17 (s, 9H); LRMS *масса/заряд* 475,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

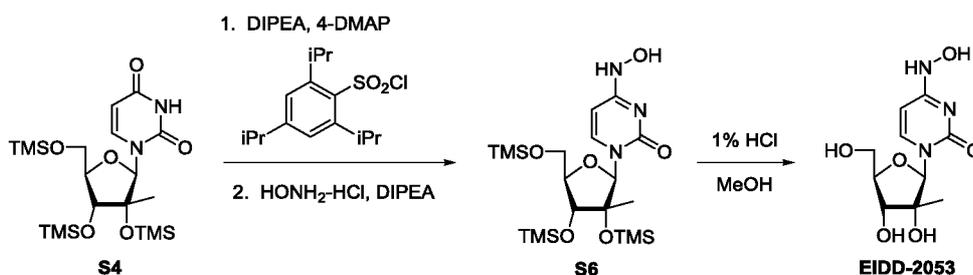
S5. К перемешанному раствору соединения **S4** (1,50 г, 3,16 ммоль) и 4-DMAP (0,039 г, 0,316 ммоль) в DCM (20 мл) при 0°C в атмосфере азота с помощью шприца добавляли *N,N*-диизопропилэтиламин (2,75 мл, 15,80 ммоль), после чего добавляли сразу весь твердый 2,4,6-триизопропилбензол-1-сульфонилхлорид (1,91 г, 6,32 ммоль). Обеспечивали нагревание перемешанной смеси до к. т. Через 16 ч. перемешивания при к. т. смесь охлаждали до 0°C и промывали ледяным нас. водн. NaHCO_3 (3 x 25 мл), высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали посредством ротационного выпаривания с получением 4,2 г неочищенного вещества в виде коричневого масла. Неочищенное вещество поглощали с помощью гексанов и проводили автоматизированную флэш-хроматографию (колонка 80 г, градиент EtOAc в гексанах от 1 до 10%) с получением необходимого продукта активации сульфонилла (~1,57 г, ~2,12 ммоль), в основном чистого по LCMS (предполагаемая идентичность подтверждена с помощью ^1H ЯМР). Всю эту смесь сразу же переводили на следующую стадию без дальнейшей очистки или анализа.

К перемешанному раствору свежеполученного описанного выше материала (~1,57 г, ~2,12 ммоль) в MeCN (21 мл) при 0°C в атмосфере азота с помощью шприца добавляли триэтиламин (0,89 мл, 6,35 ммоль), после чего добавляли сразу весь *O*-метилгидроксиламина гидрохлорид (0,531 г, 6,35 ммоль) в виде твердого веществ. Смесь нагревали до к. т. и перемешивали в течение ночи. Через 16 ч. перемешивания смесь выливали в нас. водн. NaHCO_3 (50 мл) и экстрагировали с помощью DCM (3 x 50 мл). Объединенные органические слои высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали посредством ротационного выпаривания. Проводили автоматизированную флэш-хроматографию на CombiFlash (колонка 80 г, градиент EtOAc в гексанах от 5 до 15%) с получением соединения **S5** (0,571 г, 36% в 2 стадии) в виде прозрачного вязкого масла, представленного в виде соотношения таутомеров 9:1 в соответствии с ЯМР: ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3 , только основной таутомер) δ

8,01 (br s, 1H), 7,59 (d, $J = 8,3$ Гц, 1H), 5,88 (s, 1H), 5,54 (d, $J = 8,1$ Гц, 1H), 4,03-3,93 (m, 2H), 3,84 (s, 3H), 3,82 (d, $J = 9,0$ Гц, 1H), 3,71 (d, $J = 12,0$ Гц, 1H), 1,20 (s, 3H), 0,23-0,15 (m, 27H); LRMS *масса/заряд* 504,2 $[M+H]^+$.

- 5 **EIDD-2054.** В круглодонную колбу помещали соединение **S5** (0,510 г, 1,01 ммоль) и якорь магнитной мешалки в атмосфере азота при к. т. С помощью шприца добавляли раствор конц. HCl, 1% об./об. в MeOH (10 мл, 1,20 ммоль HCl), и смесь перемешивали при к. т. в течение 30 мин. Добавляли сразу весь твердый Na₂CO₃ (1 г) и смесь перемешивали при к. т. 30 мин. Добавляли целит и смесь концентрировали
- 10 посредством ротационного выпаривания с получением неочищенного вещества, иммобилизованного на твердом носителе. Проводили автоматизированную флэш-хроматографию (колонка 12 г, градиент MeOH в DCM от 0 до 10%) с получением
- указанного в заголовке соединения (0,265 г, 91%) в виде белого порошкообразного
- твердого вещества: ¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD) δ 7,36 (d, $J = 8,3$ Гц, 1H), 5,89 (s, 1H),
- 15 5,54 (d, $J = 8,2$ Гц, 1H), 3,95 (dd, $J = 12,5$ Гц, 2,2 Гц, 1H), 3,86 (dt, $J = 9,2$ Гц, 2,4 Гц, 1H), 3,82-3,72 (m, 2H), 3,78 (s, 3H), 1,17 (s, 3H); ¹³C ЯМР (100 МГц, CD₃OD) δ 151,3, 146,2, 132,8, 98,2, 92,6, 83,4, 79,8, 73,8, 61,9, 60,7, 20,3; LRMS *масса/заряд* 288,1 $[M+H]^+$.

Пример 8



- S6.** К перемешанному раствору соединения **S4** (1,67 г, 3,52 ммоль) и 4-DMAP (0,043 г, 0,352 ммоль) в DCM (25 мл) при 0°C в атмосфере азота с помощью шприца добавляли *N,N*-диизопропилэтиламин (3,06 мл, 17,59 ммоль), после чего добавляли
- 25 сразу весь твердый 2,4,6-триизопропилбензол-1-сульфонилхлорид (1,92 г, 6,33 ммоль). Обеспечивали нагревание перемешанной смеси до к. т. Через 16 ч. перемешивания при к. т. смесь охлаждали до 0°C и промывали ледяным нас. водн. NaHCO₃ (3 x 25 мл), высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали

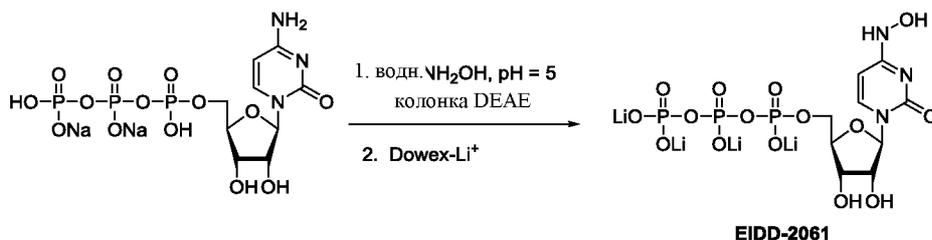
посредством ротационного выпаривания, с получением 4,1 г неочищенного вещества в виде коричневого масла. Неочищенное вещество поглощали с помощью гексанов и проводили автоматизированную флэш-хроматографию (колонка 80 г, градиент EtOAc в гексанах от 1 до 10%) с получением необходимого продукта активации сульфонила (~1,81 г, ~2,44 ммоль), в основном чистого по LCMS (предполагаемая идентичность подтверждена с помощью ^1H ЯМР). Всю эту смесь сразу же переводили на следующую стадию без дальнейшей очистки.

К перемешанному раствору свежеполученного описанного выше материала (~1,81 г, ~2,44 ммоль) в MeCN (25 мл) при 0°C в атмосфере азота с помощью шприца добавляли триэтиламин (1,02 мл, 7,33 ммоль), после чего добавляли сразу весь гидроксиламина гидрохлорид (0,509 г, 7,33 ммоль) в виде твердого вещества. Смесь нагревали до к. т. и перемешивали 2 ч. Смесь вливали в нас. водн. NaHCO_3 (50 мл) и экстрагировали с помощью DCM (3 x 50 мл). Объединенные органические слои высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали посредством ротационного выпаривания. Проводили автоматизированную флэш-хроматографию (колонка 40 г, градиент EtOAc в гексанах от 5 до 35%) с получением соединения **S6** (0,931 г, 54% в 2 стадии) в виде белого хлопьевидного твердого вещества, представленного в виде соотношения таутомеров 7:1 в соответствии с ЯМР: ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$, только основной таутомер) δ 9,99 (s, 1H), 9,57 (d, $J = 2,1$ Гц, 1H), 7,25 (d, $J = 8,3$ Гц, 1H), 5,72 (s, 1H), 5,45 (dd, $J = 8,2$ Гц, 2,1 Гц, 1H), 3,92 (d, $J = 12,0$ Гц, 1H), 3,85-3,75 (m, 2H), 3,66 (d, $J = 12,0$ Гц, 1H), 1,13 (s, 3H), 0,15 (s, 9H), 0,14 (s, 9H), 0,12 (s, 9H); LRMS масса/заряд 490,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

EIDD-2053. В круглодонную колбу помещали соединение **S6** (0,200 г, 0,408 ммоль) и якорь магнитной мешалки в атмосфере азота при к. т. С помощью шприца добавляли раствор конц. HCl, 1% об./об. в MeOH (6 мл, 0,72 ммоль HCl), и смесь перемешивали при к. т. в течение 30 мин. Добавляли сразу весь твердый Na_2CO_3 (0,75 г) и смесь перемешивали при к. т. 30 мин. Добавляли целит и смесь концентрировали посредством ротационного выпаривания с получением неочищенного вещества, иммобилизованного на твердом носителе. Проводили автоматизированную флэш-хроматографию (колонка 4 г, градиент MeOH в DCM от 5 до 25%) с получением указанного в заголовке соединения (0,110 г, 99%) в виде

белого порошкообразного твердого вещества: ^1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD) δ 7,30 (d, $J = 8,3$ Гц, 1H), 5,90 (s, 1H), 5,56 (d, $J = 8,2$ Гц, 1H), 3,95 (dd, $J = 12,5$ Гц, 2,1 Гц, 1H), 3,86 (dt, $J = 9,2$ Гц, 2,7 Гц, 1H), 3,80 (d, $J = 9,2$ Гц, 1H), 3,75 (dd, $J = 12,5$ Гц, 3,0 Гц, 1H), 1,18 (s, 3H); ^{13}C ЯМР (100 МГц, D_2O) δ 151,6, 147,3, 131,8, 98,9, 91,7, 81,9, 79,5, 73,3, 60,4, 49,5, 19,6; LRMS масса/заряд 274,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Пример 9

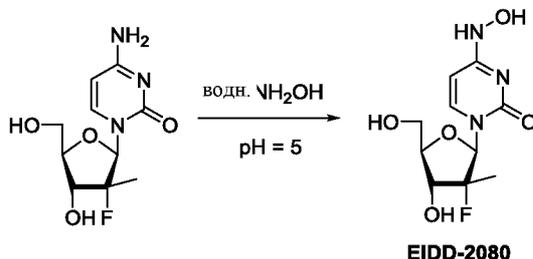


EIDD-2061. В герметично закрывающуюся пробирку, предназначенную для работы под давлением, помещали якорь магнитной мешалки, динатриевую соль цитидинтрифосфата (0,137 г, 0,260 ммоль) и 2 н. водный раствор гидроксиламина, доведенный до $\text{pH} = 5$ (2,0 мл, 4,0 ммоль). После смешивания реагентов измеряли pH раствора ($\text{pH} = 3$) и добавляли дополнительные капли 10% вес/вес водн. раствора NaOH с повторным доведением раствора до $\text{pH} = 5$. Пробирку закрывали и нагревали при перемешивании при 55°C в течение 5 ч. Смесь охлаждали до к. т., закрытую пробирку открывали и добавляли 100 мМ раствор бикарбоната триэтиламмония (TEAB) (2 мл). Содержимое пробирки перемещали в круглодонную колбу и концентрировали посредством ротационного выпаривания. Неочищенный материал поглощали с помощью 100 мМ TEAB и проводили хроматографию на DEAE, после чего лиофилизировали продукт с получением триэтиламмониевой соли необходимого продукта.

Ионообменную колонку (CV 17 мл) свежеполученного Dowex (Li^+ -форма) промывали водой в количестве 5 CV. Полученную триэтиламмониевую соль поглощали с помощью воды и элюировали через ионообменную колонку. Фракции, содержащие продукт, объединяли и лиофилизировали с получением указанного в заголовке соединения (0,030 г, 22%) в виде рассыпчатого коричневатого твердого вещества: ^1H ЯМР (400 МГц, D_2O) δ 7,19 (d, $J = 8,3$ Гц, 1H), 5,95 (d, $J = 6,3$ Гц, 1H), 5,82 (d, $J = 8,3$ Гц, 1H), 4,42-4,34 (m, 2H), 4,24-4,10 (m, 3H); ^{31}P ЯМР (162 МГц, D_2O)

δ -8,5 (br s), -11,2 (d, $J = 19,6$ Гц), -22,0 (t, $J = 19,3$ Гц); LRMS масса/заряд 498,0 [M-H].

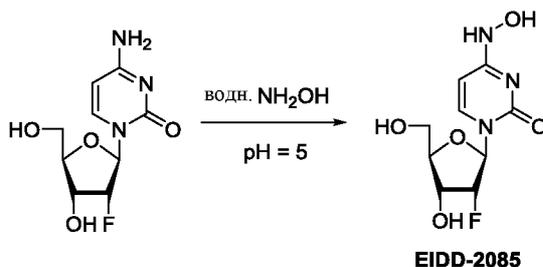
Пример 10



- 5 **EIDD-2080.** В круглодонную колбу помещали 2'-дезоксидезокси-2'-фтор-2'-метилцитидин (120 мг, 0,463 ммоль) и 2 н. водный раствор гидроксиламина, доведенный до pH = 5 (1,1 мл, 2,2 ммоль), и смесь нагревали до 50°C. Через 16 ч. смесь концентрировали до сухого состояния и затем очищали посредством флэш-хроматографии (объем колонки 19 мм x 170 мм, 10% MeOH в DCM). Полученную смолу совместно
- 10 выпаривали с помощью DCM (3 x 4 мл) с получением белого твердого вещества, которое затем высушивали в глубоком вакууме при 40°C в течение 24 ч. с получением указанного в заголовке соединения (94 мг, 74%) в виде белого порошка:
- ^1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD) δ 7,23 (d, $J = 8,3$ Гц, 1H), 6,07 (d, $J = 19,8$ Гц, 1H), 5,60 (d, $J = 8,3$ Гц, 1H), 4,04 – 3,95 (m, 1H), 3,91 (d, $J = 8,3$ Гц, 2H), 3,77 (dd, $J = 12,5, 2,3$ Гц, 1H), 1,36 (d, $J = 22,2$ Гц, 3H); ^{13}C ЯМР (101 МГц, CD_3OD) δ 150,0, 144,6, 129,9, 101,4, 99,6, 98,0, 88,7 (d, $J = 46,5$ Гц), 81,5, 71,5 (d, $J = 18,1$ Гц), 58,9, 15,5 (d, $J = 25,8$ Гц); HRMS расщ. для $\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{FN}_3\text{O}_5$ [M+H] $^+$: 276,09903, найденное значение : 276,09910.
- 15

20

Пример 11



EIDD-2085. Получали ~2 н. раствор гидроксилamina гидрохлорида (3,33 г, 48,0 ммоль) в воде (24 мл) и довели до pH = 5 с помощью небольшого количества водн. Раствора NaOH (10% вес/вес). В герметично закрывающуюся пробирку, предназначенную для работы под давлением, помещали данный раствор и 2'-фтор-2'-

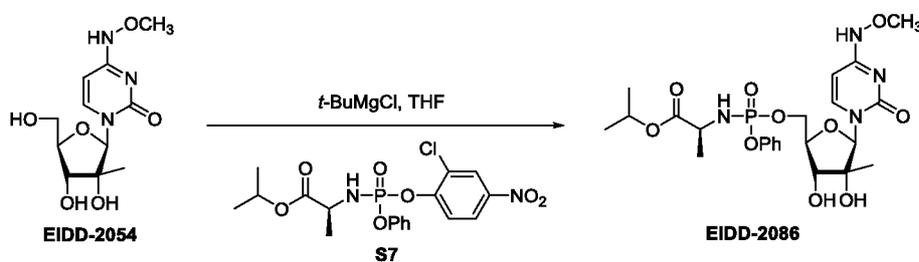
5 дезоксицитидин (0,736 г, 3,00 ммоль), колбу закрывали и нагревали при перемешивании при 55°C в течение 16 ч. Смесь охлаждали до комнатной температуры, переносили в круглодонную колбу и концентрировали посредством ротационного выпаривания. Неочищенный материал суспендировали в MeOH и иммобилизовали на целите. Проводили автоматизированную флэш-хроматографию

10 (колонка 40 г, градиент MeOH в DCM от 5 до 25%) с получением указанного в заголовке соединения (0,365 г, 47%) в виде грязно-белого твердого вещества. ЯМР анализ демонстрировал, что соединение является на ~90% чистым по весу, при этом остаток окклюдирован DCM и MeOH. Образец (103 мг) растворяли в воде, замороженной в бане с сухим льдом, и лиофилизировали с получением 91 мг

15 указанного в заголовке соединения, не содержащего растворителя. Данный очищенный материал использовали для всех биологических испытаний: ¹H ЯМР (400 МГц, D₂O) δ 7,00 (d, J = 8,3 Гц, 1H), 5,91 (dd, J = 21,0 Гц, 2,0 Гц, 1H), 5,71 (d, J = 8,2 Гц, 1H), 5,19 (ddd, J = 53,1 Гц, 5,0 Гц, 2,0 Гц, 1H), 4,36 (ddd, J = 20,0 Гц, 8,2 Гц, 5,0 Гц, 1H), 4,08-4,02 (br m, 1H), 3,95 (dd, J = 12,9 Гц, 2,5 Гц, 1H), 3,78 (dd, J = 12,9

20 Гц, 4,6 Гц, 1H); ¹³C ЯМР (100 МГц, D₂O) δ 150,8, 146,7, 132,5, 98,4, 93,1 (d, J = 183,1 Гц), 89,0 (d, J = 35,9 Гц), 82,1, 68,3 (d, J = 16,5 Гц), 60,2 Гц; ¹⁹F ЯМР (376 МГц, D₂O) δ -200,51 (dt, J = 53,1 Гц, 20,4 Гц); HRMS расщ. для C₉H₁₃FN₃O₅ [M+H]⁺: 262,08338, найденное значение : 262,08332.

Пример 12

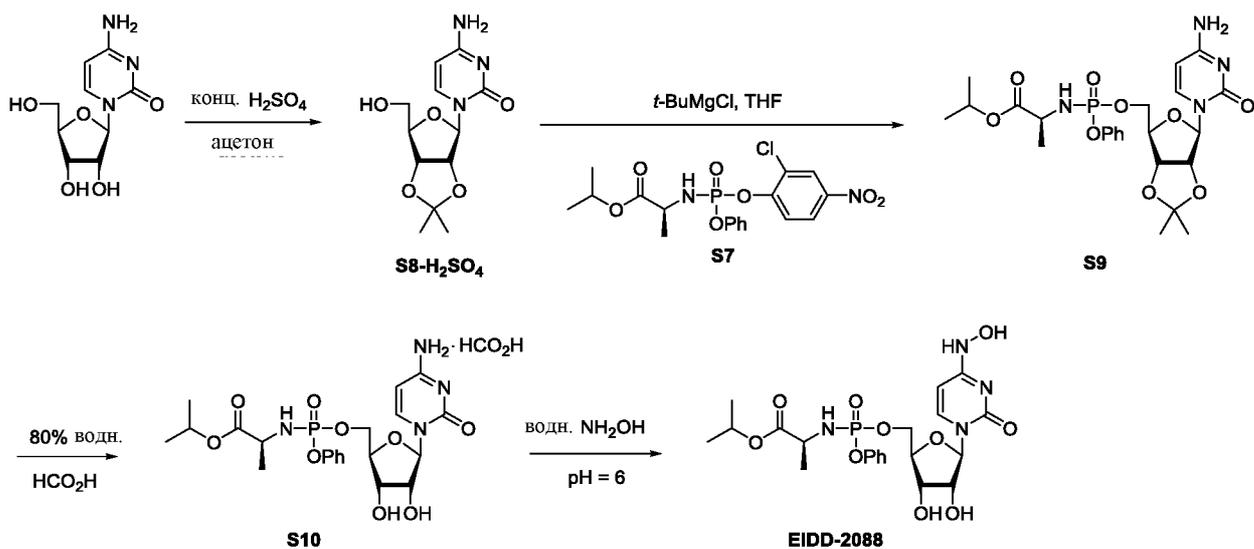


25

EIDD-2086. Раствор соединения **EIDD-2054** (45 мг, 0,16 ммоль) в безводном THF (1 мл) при 0°C обрабатывали с помощью 1 М THF-раствора *трет*-бутилмагния хлорида (0,31 мл, 0,31 ммоль). Через 1 ч. при 0°C смесь по каплям обрабатывали раствором соединения **S7** (139 мг, 0,31 ммоль) в безводном THF (1 мл) в течение

периода 5 мин. Обеспечивали нагревание смеси до к. т. и перемешивали в течение ночи. Смесь гасили с помощью нас. водн. NH_4Cl (5 мл) и затем экстрагировали этилацетатом (50 мл). Органическую фазу промывали с помощью нас. водн. NaHCO_3 (2 x 15 мл), высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали до сухого состояния. Полученное неочищенное желтое масло очищали посредством флэш-хроматографии (объем колонки 19 мм x 170 мм, градиент MeOH в DCM от 5 до 10%) с получением диастереомерной смеси указанного в заголовке соединения 1:1 (49 мг, 56%) в виде грязно-белого твердого вещества: ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3 , диастереомерная смесь) δ 8,25 (s, 1H), 7,32 (t, $J = 7,7$ Гц, 2H), 7,18 (dd, $J = 16,8, 8,0$ Гц, 3H), 6,81 (d, $J = 8,2$ Гц, 1H), 6,66 (d, $J = 8,2$ Гц, 1H), 5,87 (d, $J = 14,0$ Гц, 1H), 5,55 (d, $J = 8,2$ Гц, 1H), 5,48 (d, $J = 8,2$ Гц, 1H), 5,00 (h, $J = 6,3$ Гц, 1H), 4,49 - 4,39 (m, 2H), 4,34 (ddd, $J = 11,8, 8,3, 3,4$ Гц, 1H), 4,07 - 3,86 (m, 2H), 3,82 (s, 3H), 3,74 (dd, $J = 38,5, 8,4$ Гц, 1H), 1,36 (d, $J = 2,2$ Гц, 3H), 1,35 (d, $J = 2,2$ Гц, 3H), 1,25 - 1,20 (m, 6H), 1,17 (s, 3H), 1,11 (s, 3H); ^{31}P ЯМР (162 МГц, CDCl_3 , диастереомерная смесь) δ 3,55, 3,19; ^{13}C ЯМР (101 МГц, CDCl_3 , диастереомерная смесь) δ 173,02, 172,95, 172,91, 172,84, 150,49, 150,42, 149,28, 149,18, 144,31, 144,22, 130,74, 130,46, 129,87, 129,83, 125,28, 125,16, 119,93, 119,88, 97,94, 91,57, 91,18, 77,33, 73,52, 73,03, 69,55, 69,51, 65,05, 64,99, 64,51, 61,80, 50,41, 50,32, 29,68, 21,70, 21,67, 21,61, 21,58, 20,93, 20,88, 20,82, 20,46; HRMS расщ. для $\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{N}_4\text{O}_{10}\text{PNa}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 579,18265; найденное значение : 579,18184.

Пример 13



S8. К перемешанной суспензии цитидина (0,972 г, 4,00 ммоль) в безводном ацетоне (50,0 мл) по каплям добавляли каталитическое количество H_2SO_4 (0,13 мл,

2,439 ммоль). Полученную реакционную смесь перемешивали при к. т. в течение ночи. После фильтрации полученное белое твердое вещество повторно растворяли в MeOH при небольшом нагревании, затем повторно выпаривали с получением белого твердого вещества в виде сульфатной соли необходимого продукта (выход >95%),
5 которое использовали без дополнительной очистки: ^1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD) δ 8,23 (d, $J = 7,9$ Гц, 1H), 6,09 (d, $J = 7,9$ Гц, 1H), 5,86 (d, $J = 2,4$ Гц, 1H), 4,90 (dd, $J_1 = 6,2$ Гц, $J_2 = 2,3$ Гц, 1H), 4,82 (dd, $J_1 = 6,1$ Гц, $J_2 = 2,7$ Гц, 1H), 4,35 (q, $J = 3,4$ Гц, 1H), 3,80 (dd, $J_1 = 12,1$ Гц, $J_2 = 3,2$ Гц, 1H), 3,71 (dd, $J_1 = 12,1$ Гц, $J_2 = 4,1$ Гц, 1H), 1,54 (s, 3H), 1,35 (s, 3H); ^{13}C ЯМР (100 МГц, CD_3OD) δ 161,33, 148,49, 147,34, 114,86, 95,58,
10 94,22, 89,56, 86,59, 82,34, 62,85, 27,42, 25,41; HRMS расч. для $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}_5\text{N}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 284,12410, найденное значение : 284,12424.

S9. К суспензии соединения **S8** (0,566 г, 2,00 ммоль) в THF (20,0 мл) по каплям с помощью шприца добавляли 1 М раствор *трет*-бутилмагния хлорида в THF
15 (3,00 мл, 3,00 ммоль) при 0°C в атмосфере аргона и полученную смесь перемешивали при той же температуре в течение 1 ч. Раствор соединения **S7** (1,33 г, 3,00 ммоль) в THF (20 мл) добавляли при 0°C, после чего обеспечивали нагревание смеси до к. т. и перемешивали в течение еще 27 часов. Реакционную смесь осторожно гасили добавлением нас. водн. NH_4Cl при 0°C. Полученную смесь
20 фильтровали через подушку из целита и подушку промывали с помощью MeOH. Фильтрат концентрировали посредством ротационного выпаривания с получением коричневого твердого вещества, которое очищали посредством флэш-хроматографии (5% MeOH в DCM) с получением получистого продукта. Смесь дополнительно очищали посредством автоматизированной флэш-хроматографии
25 (колонка 40 г, градиент MeOH в DCM от 0 до 25%) с получением соединения **S9** (0,744 г, 67% в 2 стадии) в виде белого твердого вещества, представленного в виде смеси двух диастереомеров в соотношении 1:2 на основании интеграции ^{31}P -ЯМР: ^1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD , диастереомерная смесь) δ 7,61 (m, 1H), 7,34 (t, $J = 7,9$ Гц, 2H), 7,27 - 7,09 (m, 3H), 5,93 - 5,69 (m, 2H), 4,95 (p, $J = 6,3$ Гц, 1H), 4,90 (dd, $J = 6,4$
30 Гц, 2,2 Гц, 1H), 4,84 - 4,71 (m, 1H), 4,46 - 4,20 (m, 3H), 3,88 (p, $J = 7,8$ Гц, 1H), 2,15 (s, 1H), 1,53 (s, 3H), 1,32 (m, 6H), 1,21 (m, 6 H); ^{13}C ЯМР (100 МГц, CD_3OD , оба диастереомера) δ 210,06, 174,62, 174,57, 174,41, 174,35, 167,89, 157,81, 152,18, 152,11, 144,64, 144,38, 130,82, 130,78, 130,77, 126,24, 126,22, 126,17, 126,16, 121,48, 121,45,

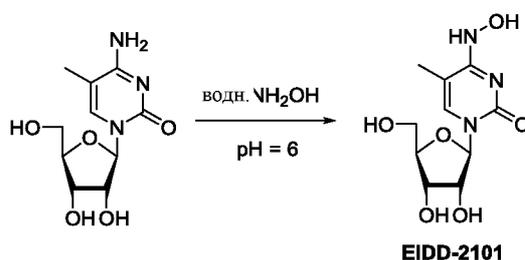
121,43, 121,40, 115,18, 115,08, 96,18, 95,96, 87,13, 87,05, 86,96, 86,88, 86,23, 82,48, 82,47, 70,14, 68,02, 51,81, 51,67, 49,64, 49,43, 49,21, 49,00, 48,79, 48,57, 48,36, 30,68, 27,46, 27,43, 25,51, 25,46, 22,00, 21,98, 21,90, 20,56, 20,49, 20,30; ^{31}P ЯМР (162 МГц, CD_3OD) δ 3,68, 3,45; HRMS расщ. для $\text{C}_{24}\text{H}_{33}\text{O}_9\text{N}_4\text{NaP}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 575,18774, найденное значение : 575,18824.

S10. Раствор соединения **S9** (0,289 г, 0,502 ммоль) в 80% водн. HCOOH (12,40 мл) перемешивали при к. т. в течение 3,5 часа. Реакционную смесь концентрировали посредством ротационного выпаривания и совместно выпаривали с помощью MeOH (3 x 10 мл). Неочищенный продукт **S9** (0,257 г, колич.) получали в виде коричневого стеклообразного твердого вещества, которое использовали на следующей стадии без дополнительной очистки: ^1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD , диастереомерная смесь) δ 8,16 (s, 1H), 7,79 (d, $J = 7,5$ Гц, 1H), 7,73 (d, $J = 7,5$ Гц, 1H), 7,50 – 7,08 (m, 5H), 6,03 – 5,68 (m, 2H), 4,96 (септет, $J = 8$ Гц, 1H), 4,55 - 4,24 (m, 2H), 4,23 - 4,08 (m, 2H), 4,08 - 3,99 (m, 1H), 3,97 - 3,82 (m, 1H), 1,43 - 1,26 (m, 4H), 1,26 - 1,10 (m, 6H); ^{13}C ЯМР (100 МГц, CD_3OD , оба диастереомера) δ 174,65, 174,61, 174,38, 174,33, 166,90, 157,46, 152,15, 152,08, 142,73, 130,89, 130,88, 130,85, 130,85, 126,28, 126,26, 121,42, 121,40, 121,37, 121,36, 96,19, 92,05, 91,97, 83,49, 83,42, 75,90, 75,84, 70,70, 70,64, 70,18, 67,14, 67,08, 51,88, 51,87, 51,71, 51,70, 49,64, 49,43, 49,21, 49,00, 48,79, 48,57, 48,36, 21,98, 21,91, 21,89, 21,80, 20,61, 20,55, 20,30; ^{31}P ЯМР (162 МГц, CD_3OD) δ 3,91, 3,76; HRMS расщ. для $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_9\text{N}_4\text{P}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 513,17449, найденное значение : 513,17413.

EIDD-2088. К раствору соединения **S10** (0,257 г, 0,502 ммоль) в THF (5 мл) добавляли 2 н. гидроксилламин при pH 6 (6,27 мл, 12,54 ммоль) и полученную смесь перемешивали при 37°C в течение 1,5 суток. Реакционную смесь концентрировали посредством ротационного выпаривания. Полученное желтое твердое вещество повторно растворяли в MeOH и иммобилизовали на силикагель, который помещали на слой диоксида кремния. Элюировали с помощью 10% MeOH в CH_2Cl_2 через слой диоксида кремния с получением светло-коричневой жидкости после ротационного выпаривания фракций, содержащих продукт. Проводили автоматизированную флэш-хроматографию (колонка 12 г, градиент MeOH в DCM от 2,5 до 15%) с получением указанного в заголовке соединения (0,155 мг, 59%) в виде пены грязно-белого цвета: ^1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD , диастереомерная смесь) δ 7,89 (d, $J = 8,0$ Гц, 0,3H), 7,80

(d, $J = 8,1$ Гц, 0,65H), 7,48 - 7,31 (m, 2H), 7,31 - 7,13 (m, 3H), 6,02 - 5,79 (m, 2H), 4,97 (hept, $J = 8$ Гц, 1H), 4,55 - 4,08 (m, 6H), 3,90 (m, 1H), 1,44 - 1,26 (m, 4H), 1,22 (m, 6H); ^{13}C ЯМР (100 МГц, CD_3OD , оба диастереомера) δ 174,72, 174,68, 174,36, 174,30, 155,25, 152,10, 152,03, 148,74, 148,68, 142,86, 130,92, 130,87, 126,33, 126,32, 121,43, 121,39, 91,71, 91,63, 91,58, 84,08, 84,02, 83,95, 75,48, 75,41, 70,71, 70,67, 70,20, 67,03, 51,90, 51,73, 51,71, 49,64, 49,43, 49,21, 49,00, 48,79, 48,57, 48,36, 21,98, 21,92, 21,89, 21,79, 20,59, 20,53, 20,31; ^{31}P ЯМР (162 МГц, CD_3OD) δ 3,98, 3,81; HRMS расщ. для $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_{10}\text{N}_4\text{P}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 529,16941, найденное значение : 529,16900.

Пример 14



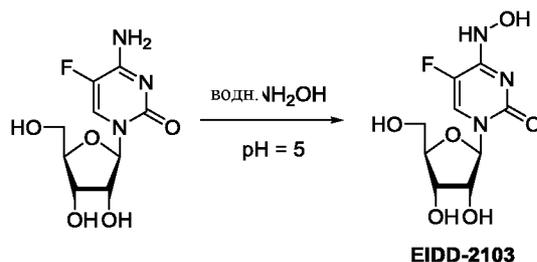
10

EIDD-2101. Раствор 5-метилцитидина (0,257 г, 1,00 ммоль) в 2 н. водн. растворе гидроксиламина с pH 6 (8 мл, 16,0 ммоль) нагревали до 55°C в герметично закрытой пробирке при перемешивании в течение 5 часов. Раствор охлаждали до к. т., переносили в круглодонную колбу, концентрировали посредством ротационного выпаривания и совместно выпаривали с помощью MeOH (2 x 20 мл). Неочищенный остаток поглощали с помощью MeOH и иммобилизовали на силикагеле. Проводили флэш-хроматографию (градиент MeOH в DCM от 2 до 10%) с получением указанного в заголовке соединения (140 мг, 51%) в виде светло-фиолетового твердого вещества: ^1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD) δ 6,99 (s, 1H), 5,86 (d, $J = 5,7$ Гц, 1H), 4,23 - 4,06 (m, 2H), 3,93 (q, $J = 3,2$ Гц, 1H), 3,78 (dd, $J = 12,1$ Гц, 2,8 Гц, 1H), 3,70 (dd, $J = 12,1$ Гц, 3,4 Гц, 1H), 1,79 (s, 3H); ^{13}C ЯМР (100 МГц, CD_3OD) δ 152,0, 146,6, 128,4, 108,4, 89,4, 86,1, 74,4, 71,8, 62,8, 12,9; HRMS расщ. для $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}_6\text{N}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 274,10336, найденное значение : 274,10350.

15

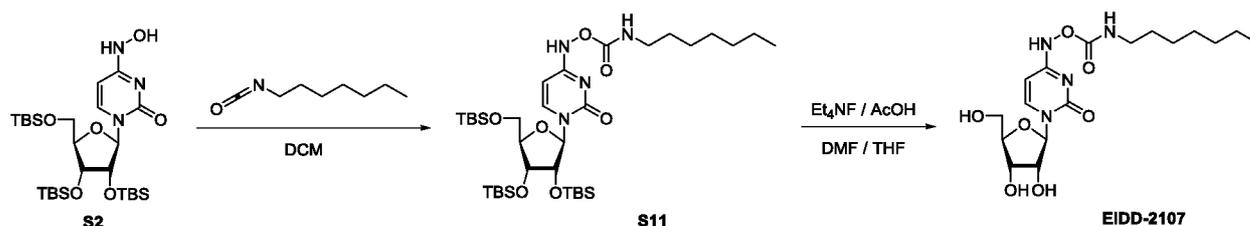
20

Пример 15



EIDD-2103. Получали ~2 н. раствор гидроксилamina гидрохлорида (1,11 г, 16,0 ммоль) в воде (8 мл) и доводили до pH = 5 с помощью небольшого количества водн. раствора NaOH (10% вес/вес). В герметично закрывающуюся пробирку, предназначенную для работы под давлением, помещали данный раствор и 5-фторцитидин (0,261 г, 1,00 ммоль), колбу закрывали и нагревали при перемешивании при 55°C в течение 16 ч. Смесь охлаждали до комнатной температуры, переносили в круглодонную колбу и концентрировали посредством ротационного выпаривания. Неочищенный материал суспендировали в MeOH и иммобилизовали на целите. Проводили автоматизированную флэш-хроматографию (колонка 40 г, градиент MeOH в DCM от 0 до 20%) с получением 600 мг 10
получистого твердого вещества розового цвета. Данное твердое вещество растворяли в 2 мл воды и проводили автоматизированную хроматографию с 15
обращенной фазой (колонка 43 г, градиент MeOH в воде от 5 до 100%) с получением необходимого продукта, не содержащего органических и неорганических примесей. Твердое вещество растворяли в воде, замороженной в бане с сухим льдом/ацетоном, и лиофилизировали, с получением указанного в заголовке соединения (0,066 г, 0,238 ммоль, выход 24%) в виде белого хлопьеобразного твердого вещества. ¹H ЯМР (400 МГц, D₂O) δ 7,31 (d, J = 7,6 Гц, 1H), 5,87 (dd, J = 5,5 Гц, 1,8 Гц, 1H), 4,26 (t, J = 5,5 Гц, 1H), 4,19 (t, J = 4,8 Гц, 1H), 4,07 (q, J = 3,8 Гц, 1H), 3,85 (dd, J = 12,8 Гц, 3,1 Гц, 1H), 3,77 (dd, J = 12,7 Гц, 4,2 Гц, 1H); ¹³C ЯМР (100 МГц, D₂O) δ 150,0, 139,7, 137,4, 115,6 (d, J = 36,1 Гц), 88,0, 84,2, 72,8, 69,8, 61,0; ¹⁹F ЯМР (376 МГц, D₂O) δ - 164,70 (d, J = 7,6 Гц); HRMS расщ. для C₉H₁₃FN₃O₆ [M+H]⁺: 278,07829, найденное 20
25 значение : 278,07848.

Пример 16



S11. К перемешанному раствору соединения **S2** (0,903 г, 1,50 ммоль) в DCM (15 мл) в атмосфере азота при к. т. по каплям с помощью шприца в течение 2 минут добавляли гептилизоцианат (0,266 мл, 1,65 ммоль). Реакционную смесь

5 перемешивали при к. т. в течение 6 ч., затем концентрировали посредством ротационного выпаривания с получением неочищенного остатка. Проводили автоматизированную флэш-хроматографию (колонка 40 г, градиент EtOAc в гексанах от 5 до 25%) с получением соединения **S11** (0,930 г, 83%) в виде хлопьевидного твердого вещества светло-розового цвета: ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3)

10 δ 8,26 (br s, 1H), 7,50 (d, $J = 8,3$ Гц, 1H), 6,29 (t, $J = 5,8$ Гц, 1H), 5,90 (d, $J = 4,4$ Гц, 1H), 5,57 (dd, $J = 8,2$ Гц, 2,3 Гц, 1H), 4,10-4,00 (m, 3H), 3,93 (dd, $J = 11,6$ Гц, 2,3 Гц, 1H), 3,74 (d, $J = 11,6$ Гц, 1H), 3,28 (q, $J = 6,7$ Гц, 1H), 1,62-1,52 (m, 2H), 1,40-1,25 (m, 8H), 0,96 (s, 9H), 0,91 (s, 9H), 0,91-0,86 (m, 3H), 0,89 (s, 9H), 0,13 (s, 6H), 0,10 (s, 3H), 0,08 (s, 3H), 0,05 (s, 6H).

15

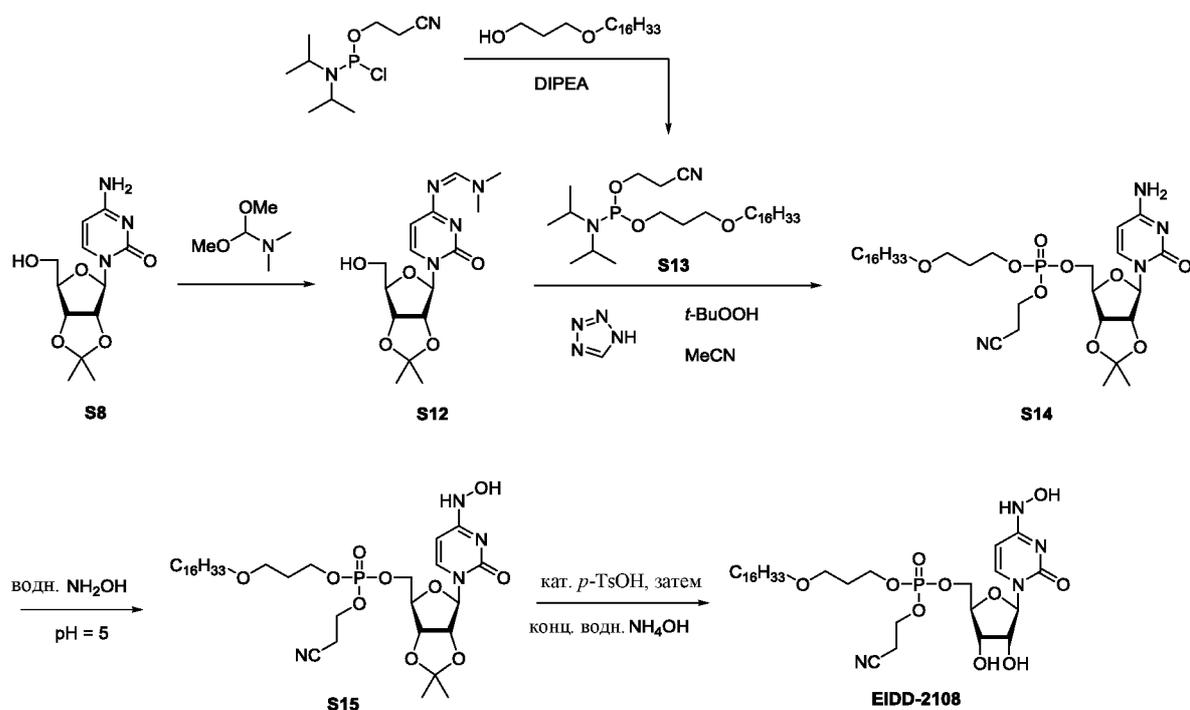
EIDD-2107. К перемешанному раствору соединения **S11** (0,910 г, 1,22 ммоль) в смеси THF (18 мл) и DMF (6 мл) при 0°C в атмосфере азота добавляли уксусную кислоту (0,350 мл, 6,12 ммоль), после чего добавляли сразу весь твердый тетраэтиламмония фторид (0,877 г, 5,88 ммоль). Смесь нагревали до к. т. и

20 перемешивали в течение 20 ч. Смесь затем концентрировали посредством ротационного выпаривания с получением неочищенного вещества в виде масла. Масло поглощали с помощью DCM и проводили автоматизированную флэш-хроматографию (колонка 40 г, градиент MeOH в DCM от 1 до 10%) с получением 300 мг хлопьевидного белого твердого вещества, состоящего из необходимого

25 продукта и ацетата тетраэтиламмония. Смесь поглощали с помощью MeOH и иммобилизовали на целите. Проводили вторую автоматизированную флэш-хроматографию (колонка 12 г, градиент MeOH в DCM от 1 до 10%) с получением указанного в заголовке соединения (0,228 г, выход 47%) в виде белого порошкообразного твердого вещества. ЯМР анализ продемонстрировал

соотношение сигналов 5:1, вероятнее всего ротамеров относительно одной из связей карбамата (большинство сигналов, связанных с нуклеосоманием, двойные или одинарные, но расширенные): ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, только основной ротамер) δ 10,30 (s, 1H), 7,38 (d, $J = 8,2$ Гц, 1H), 6,85 (t, $J = 5,8$ Гц, 1H), 5,75 (d, $J = 5,8$ Гц, 1H), 5,69 (dd, $J = 8,4$ Гц, 2,2 Гц, 1H), 5,32 (d, $J = 5,9$ Гц, 1H), 5,10-5,00 (m, 2H), 3,99 (q, $J = 5,6$ Гц, 1H), 3,94 (q, $J = 4,7$ Гц, 1H), 3,83-3,76 (m, 1H), 3,63-3,46 (m, 2H), 3,04 (q, $J = 6,5$ Гц, 1H), 1,46-1,36 (m, 2H), 1,32-1,19 (m, 8H), 0,86 (t, $J = 7,0$ Гц, 3H); ^{13}C ЯМР (100 МГц, CD_3OD , только пики основного ротамера) δ 157,5, 150,8, 149,3, 135,3, 97,5, 89,9, 86,1, 75,0, 71,5, 64,7, 62,5, 41,9, 32,9, 30,8, 30,1, 27,7, 23,6, 14,4; HRMS расщ. для $\text{C}_{17}\text{H}_{29}\text{N}_4\text{O}_7$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 401,20308, найденное значение : 401,20319.

Пример 17



S12. В раствор соединения **S8** в безводном DMF (56 мл) добавляли 1,1-диметокси- N,N -диметилметанами́н (9,4 мл, 70,6 ммоль). Через 18 ч. при к. т. реакционную смесь концентрировали до сухого состояния и неочищенное белое твердое вещество измельчали в порошок с помощью эфира (3 x 100 мл). Твердое вещество собирали посредством фильтрации и высушивали в глубоком вакууме в течение 12 ч. с получением соединения **S12** (4,52 г, 95%) в виде белого твердого вещества: ^1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD) δ 8,67 (s, 1H), 7,99 (d, $J = 7,3$ Гц, 1H), 6,14 (d, $J = 7,2$ Гц, 1H), 5,87 (d, $J = 2,4$ Гц, 1H), 4,92 (dd, $J = 6,3, 2,4$ Гц, 1H), 4,84 (dd, $J = 6,3, 3,5$ Гц, 1H), 4,25 (q, J

= 4,7, 1H), 3,81 (dd, $J = 11,9, 3,6$ Гц, 1H), 3,73 (dd, $J = 11,9, 4,6$ Гц, 1H), 3,22 (s, 3H), 3,14 (s, 3H), 1,55 (s, 3H), 1,34 (s, 3H).

S13. Суспензию 3-гексадецилоксипропан-1-ола (1,58 г, 5,26 ммоль) и DIPEA (0,92 мл, 5,26 ммоль) в безводном ацетонитриле (25 мл) в течение периода, составляющего 10 мин., по каплям обрабатывали 3-((хлор(диизопропиламино)фосфино)окси)-пропаннитрилом (1,2 мл, 5,26 ммоль). Через 18 ч. при к. т. смесь гасили нас. водн. NaHCO_3 (15 мл) и экстрагировали этилацетатом (2 x 100 мл). Объединенные органические фазы концентрировали посредством ротационного выпаривания и проводили флэш-хроматографию (объем колонки 25 мм x 140 мм, градиент EtOAc в гексанах от 10 до 20%) с получением соединения **S13** (1,40 г, 53%) в виде белого твердого вещества: ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 3,89 – 3,54 (m, 6H), 3,49 (t, $J = 6,3$ Гц, 2H), 3,39 (t, $J = 6,7$ Гц, 2H), 2,64 (t, $J = 6,6$ Гц, 2H), 1,87 (p, $J = 6,3$ Гц, 2H), 1,57 (p, $J = 6,3$ Гц, 2H), 1,25 (s, 26H), 1,18 (dd, $J = 6,8, 3,5$ Гц, 12H), 0,87 (t, $J = 6,6$ Гц, 3H); ^{31}P ЯМР (162 МГц, CDCl_3) δ 147,40.

S14. Раствор соединения **S12** (800 мг, 2,36 ммоль) и соединения **S13** (2,15 г, 4,29 ммоль) в безводном THF (20 мл) по каплям обрабатывали раствором тетразола (19 мл 0,45 М раствора в ацетонитриле, 8,59 ммоль). Через 19 ч. при к. т. смесь по каплям обрабатывали нонановым раствором *трет*-бутилгидропероксида (1,9 мл 5,5 М раствора, 10,73 ммоль) и продолжали перемешивание в течение дополнительного 1 ч. Избыток *трет*-бутилгидропероксида гасили насыщенным раствором тиосульфата натрия (50 мл), смесь перемешивали в течение 45 мин. и затем экстрагировали этилацетатом (2 x 100 мл). Объединенные органические фазы концентрировали посредством ротационного выпаривания и проводили флэш-хроматографию (объем колонки 25 мм x 180 мм, градиент MeOH в DCM от 0 до 5%) с получением соединения **S14** (1,2 г, 80%) в виде пены, смесь диастереомеров: ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3 , диастереомерная смесь) δ 7,38 (d, $J = 7,6$ Гц, 1H, диастереомер a), 7,37 (d, $J = 7,6$, 1H, диастереомер b), 5,78 (d, $J = 7,3$ Гц, 1H), 5,54 (d, $J = 5,6$, 1H, диастереомер a), 5,53 (d, $J = 5,6$, 1H, диастереомер b), 5,14 (ddd, $J = 6,5, 3,1, 1,4$ Гц, 1H), 4,93 (dt, $J = 7,0, 3,6$ Гц, 1H), 4,34 (td, $J = 7,4, 6,8, 4,8$ Гц, 3H), 4,28 – 4,08 (m, 4H), 3,48 (t, $J = 6,1, 2\text{H}$), 3,38 (t, $J = 6,8, 2\text{H}$), 2,78 (t, $J = 6,5$ Гц, 2H, диастереомер a), 2,75 (t, $J = 6,5$ Гц, 2H диастереомер b), 1,93 (m, 2H), 1,55 (s, 5H),

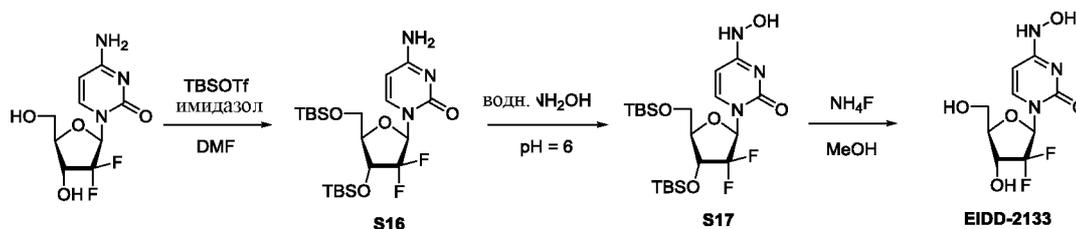
1,34 (s, 3H), 1,25 (s, 26H), 0,87 (t, $J = 6,8$, 3H); ^{13}C ЯМР (101 МГц, CDCl_3 , диастереомерная смесь) δ 166,26, 155,40, 144,20, 144,16, 116,62, 116,59, 113,93, 97,45, 97,38, 95,74, 95,69, 86,73, 86,64, 86,54, 84,90, 84,80, 81,87, 81,66, 71,23, 67,84, 67,79, 67,69, 67,64, 66,25, 66,22, 66,03, 65,97, 62,08, 62,03, 31,90, 30,51, 30,50, 30,44, 30,43, 5 29,68, 29,67, 29,64, 29,61, 29,52, 29,34, 27,06, 27,04, 26,13, 25,23, 25,21, 22,67, 19,57, 19,50, 14,12; ^{31}P ЯМР (162 МГц, CDCl_3 , диастереомерная смесь) δ -1,75, -1,83; LRMS масса/заряд 699,4 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

S15. Раствор соединения **S14** (310 мг, 0,44 ммоль) в THF (4 мл) обрабатывали 2 М водным раствором гидроксилamina при pH 5 (1,1 мл, 2,2 ммоль) при перемешивании при 50°C. Через 19 ч. посредством TLC (10% метанол в метилхлориде) наблюдали приблизительно 50% превращение в сторону более неполярного компонента. Дополнительное количество гидроксилamina и увеличенное время реакции не повышали степень превращения более 50%. После охлаждения до к. т. смесь разделяли между этилацетатом (100 мл) и солевым раствором (10 мл). Органическую фазу концентрировали и проводили флэш-хроматографию неочищенного вещества (объем колонки 19 мм x 170 мм, градиент MeOH в DCM от 1 до 5%) с получением соединения **S15** (70 мг, 22%) в виде пены, в смеси диастереомеров 1:1: ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8,94 (s, 1H), 6,60 (d, $J = 8,1$, 1H, диастереомер a), 6,58 (d, $J = 8,1$, 1H, диастереомер b), 5,67 (d, $J = 8,1$, 1H, диастереомер a), 5,65 (d, $J = 8,1$, 1H, диастереомер b), 5,59 (d, $J = 2,1$ Гц, 1H, диастереомер a), 5,55 (d, $J = 2,1$ Гц, 1H, диастереомер b), 4,98 (m, 1H), 4,84 (m, 1H), 4,35 - 4,10 (m, 6H), 3,48 (t, $J = 6,1$ Гц, 2H), 3,38 (t, $J = 6,7$, 2H), 2,76 (m, 2H), 1,94 (m, 2H), 1,59 - 1,49 (m, 5H), 1,34 (s, 3H), 1,24 (s, 26H), 0,87 (t, $J = 6,7$ Гц, 3H); ^{31}P ЯМР (162 МГц, CDCl_3 , диастереомерная смесь) δ - 1,57, -1,64. LRMS масса/заряд 715,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$. 10 15 20 25

EIDD-2108. Раствор соединения **S15** (62 мг, 0,087 ммоль) в метаноле (4 мл) обрабатывали каталитическим количеством *пара*-толуолсульфоновой кислоты (3,3 мг, 0,017 ммоль). Через 16 ч. перемешивания при к. т. смесь обрабатывали насыщенным водным раствором гидроксида аммония (1,5 мл) и обеспечивали перемешивание в течение дополнительных 4 ч. при к. т. Смесь концентрировали посредством ротационного выпаривания и полученный остаток измельчали в порошок с помощью 5% ацетонитрила в метаноле (2 x 15 мл). Полученное белое 30

твердое вещество очищали посредством флэш-хроматографии (объем колонки 11 мм x 45 мм, 25% MeOH в DCM, 2,5% об./об. нас. водн. NH₄OH) с получением указанного в заголовке соединения (25 мг, 46%) в виде белого твердого вещества: ¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD) δ 7,21 (d, J = 8,2 Гц, 1H), 5,95 (d, J = 5,5 Гц, 1H), 5,67 (d, J = 8,2 Гц, 1H), 4,22 - 4,16 (m, 2H), 4,07 - 3,98 (m, 3H), 3,94 (q, J = 6,3 Гц, 2H), 3,52 (t, J = 6,3 Гц, 2H), 3,41 (t, J = 6,6 Гц, 2H), 1,87 (p, J = 6,3 Гц, 2H), 1,53 (q, J = 6,9 Гц, 2H), 1,28 (s, 28H), 0,92 - 0,85 (m, 3H); ¹³C ЯМР (101 МГц, CD₃OD) δ 150,45, 144,99, 130,77, 98,13, 87,51, 83,39, 83,30, 72,98, 70,72, 70,55, 66,89, 64,80, 62,51, 62,46, 31,66, 30,71, 30,63, 29,38, 29,35, 29,24, 29,07, 25,87, 22,33, 13,07; ³¹P ЯМР (162 МГц, CD₃OD) δ 0,34; HRMS расщ. для C₂₈H₅₁N₃O₁₀P [M-H]⁻: 620,33175; найденное значение , 620,33205.

Пример 18



S16. К раствору 2'-дезоксидифторцитидина (0,526 г, 2,00 ммоль) и имидазола (0,408 г, 6,00 ммоль) в DMF (10 мл) добавляли TBS трифлат (1,147 мл, 5,00 ммоль) при 0°C в атмосфере аргона. Полученную смесь перемешивали при 0°C в течение 2 часов, затем ее медленно нагревали до к. т. и перемешивали в течение ночи. После разделения между Et₂O и водой органический слой отделяли и промывали с помощью H₂O и солевого раствора, высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали посредством ротационного выпаривания. Проводили автоматизированную флэш-хроматографию (колонка 24 г, градиент MeOH в DCM от 0 до 12,5%) с получением соединения **S16** (0,71 г, 72%) в виде прозрачного бесцветного масла: ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8,23 (s, 1H), 7,71 (d, J = 7,6 Гц, 1H), 6,72 (s, 1H), 6,25 (dd, J = 10,4 Гц, 4,2 Гц, 1H), 5,97 (d, J = 7,6 Гц, 1H), 4,30 (m, 1H), 3,98 (m, 1H), 3,89 (m, 1H), 3,79 (dd, J = 11,8 Гц, 2,1 Гц, 1H), 0,93 (s, 9H), 0,90 (s, 9H), 0,11 (t, J = 4,1 Гц, 12H); ¹³C ЯМР (100 МГц, CDCl₃) δ 164,6, 154,6, 140,8, 121,9 (t, J = 259 Гц), 95,7, 84,1 (dd, J = 40 Гц, 24 Гц), 81,3 (d, J = 9 Гц), 77,2, 69,7 (dd, J = 28 Гц, 18 Гц), 60,1, 53,4, 25,8, 25,5, 18,3, 18,0, -4,8, -5,3, -5,49, -5,52; ¹⁹F ЯМР (376 МГц, CDCl₃)

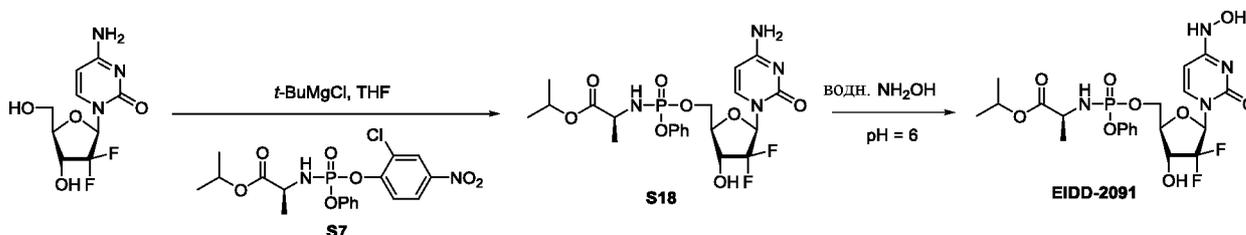
δ -115,95 (dd, $J = 238,4$ Гц, 12,1 Гц), -117,55 (dt, $J = 239,1$ Гц, 10,7 Гц); HRMS расщ. для $C_{21}H_{40}O_4N_3F_2Si_2$ $[M+H]^+$: 492,25199, найденное значение : 492,25172.

S17. К раствору соединения **S16** (0,250 г, 0,508 ммоль) в THF (5,1 мл) добавляли водный 2 н. раствор гидроксилamina при pH 6 (6,4 мл, 12,71 ммоль) и полученную смесь перемешивали при 55°C в течение 1,5 суток. После разделения между EtOAc и H₂O водный слой отделяли и экстрагировали с помощью EtOAc (2 x 15 мл). Объединенные органические слои промывали водой и солевым раствором, высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали посредством ротационного выпаривания. Проводили автоматизированную флэш-хроматографию (колонка 24 г, градиент MeOH в DCM от 0 до 7,5%) с получением соединения **S17** (0,124 г, 48%) в виде белого твердого вещества: ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8,69 (s, 1H), 8,34 (s, 1H), 6,94 (d, $J = 8,2$ Гц, 1H), 6,13 (dd, $J = 11,0$ Гц, 4,8 Гц, 1H), 5,62 (d, $J = 8,3$ Гц, 1H), 4,30 (dq, $J = 12$ Гц, 4 Гц, 1H), 3,95 (d, $J = 12$ Гц, 1H), 3,83 (d, $J = 4$ Гц, 1H), 3,77 (dd, $J = 12$ Гц, 4 Гц, 1H), 0,92 (s, 9H), 0,90 (s, 9H), 0,18 - 0,03 (m, 12H); ¹³C ЯМР (100 МГц, CDCl₃) δ 149,1, 144,8, 130,2, 122,1 (t, $J = 259$ Гц), 98,4, 83,4 (dd, $J = 40$ Гц, 24 Гц), 80,8 (d, $J = 9$ Гц), 69,8 (dd, $J = 27$ Гц, 18 Гц), 77,2, 60,0, 25,8, 25,5, 18,3, 18,0, 4,8, -5,3, -5,5, -5,6; ¹⁹F ЯМР (376 МГц, CDCl₃) δ -115,67 (dd, $J = 239,5$ Гц, 12,4 Гц), -117,02 (dt, $J = 239,4$ Гц, 10,8 Гц); HRMS расщ. для $C_{21}H_{40}O_5N_3F_2Si_2$ $[M+H]^+$: 508,24691, найденное значение : 508,24697.

EIDD-2133. Смесь соединения **S17** (0,220 г, 0,433 ммоль) и NH₄F (0,128 г, 3,47 ммоль) в MeOH (22 мл) перемешивали с обратным холодильником в течение ночи. Смесь охлаждали до к. т. и концентрировали посредством ротационного выпаривания. Проводили флэш-хроматографию (градиент MeOH в DCM от 5 до 10%) с получением получистого продукта. После еще двух циклов очистки посредством флэш-хроматографии (необходимый продукт совместно элюировали с неизвестной примесью, собирали только те фракции, которые не могли быть окрашены моментально посредством KMnO₄ при TLC) получали указанное в заголовке соединение (18 мг, 15% выход) в виде твердого вещества белого цвета: ¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD) δ 7,05 (d, $J = 8,3$ Гц, 1H), 6,06 (m, 1H), 5,59 (d, $J = 8,3$ Гц, 1H), 4,21 (m, 1H), 3,90 (d, $J = 12,6$ Гц, 1H), 3,81 (td, $J = 12$ Гц, 4 Гц, 1H), 3,74 (dd, $J = 12$ Гц, 4 Гц, 1H); ¹³C ЯМР (100 МГц, CD₃OD) δ 151,1, 145,7, 131,5, 124,1 (t, $J = 256$

Гц), 99,3, 84,8 (dd, $J = 39$ Гц, 26 Гц), 82,0 (d, $J = 9$ Гц), 70,7 (dd, $J = 26$ Гц, 21 Гц), 60,6.
 ^{19}F ЯМР (376 МГц, CD_3OD) δ 118,62 (ddd, $J = 240,2$ Гц, 13,4 Гц, 6,1 Гц), -119,67
 (широкий d, $J = 240,7$ Гц); HRMS расщ. для $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}_5\text{N}_3\text{F}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 280,07395,
 найденное значение : 280,07347.

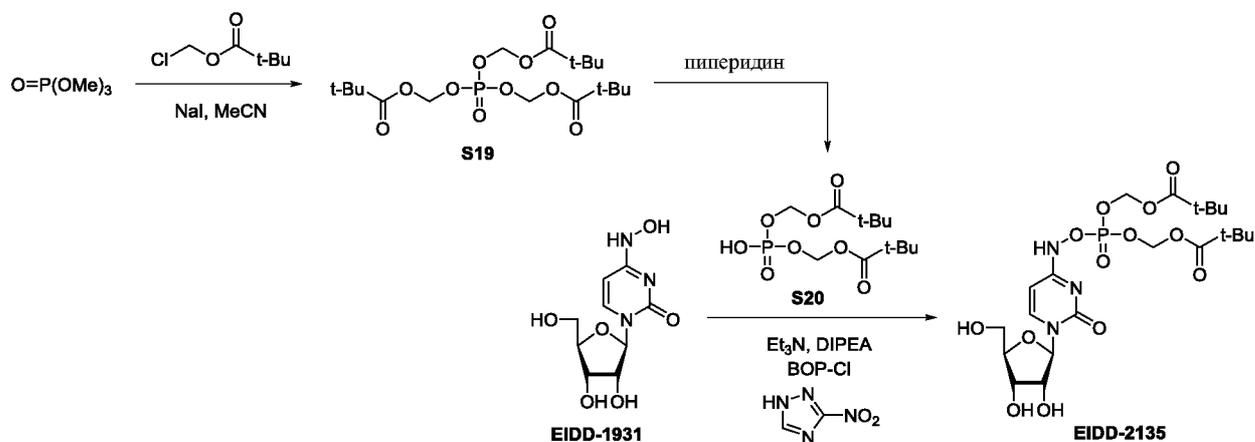
5 Пример 19



S18. К суспензии 2'-дезоксидеокси-2',2'-дифторцитидина (0,526 г, 1,998 ммоль) в THF (13,32 мл) при 0°C в атмосфере азота по каплям с помощью шприца добавляли 1 М раствор трет-бутилмагния хлорида в THF (4,00 мл, 4,00 ммоль) и полученную смесь перемешивали при той же температуре в течение 30 мин. По каплям с помощью шприца добавляли раствор соединения **S7** (1,770 г, 4,00 ммоль) в THF (13,32 мл) при 0°C, обеспечивали нагревание смеси до к. т. и перемешивали в течение еще 24 часов. Реакционную смесь охлаждали до 0°C и осторожно гасили нас. водн. NH_4Cl . Смесь концентрировали посредством ротационного выпаривания и полученное твердое вещество повторно растворяли в MeOH и фильтровали через слой целита, промывая слой с помощью MeOH. Фильтрат концентрировали посредством ротационного выпаривания и проводили автоматизированную флэш-хроматографию (колонка 40 г, градиент MeOH в DCM от 0 до 15%) с получением соединения **S18** (0,620 г, 58%) в виде коричневой пены в виде диастереомерной смеси. ^1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD , диастереомерная смесь) δ 7,60 (dd, $J = 26,1$ Гц, 7,4 Гц, 1H), 7,43 - 7,30 (m, 2H), 7,31 - 7,12 (m, 3H), 6,26 (q, $J = 7,7$ Гц, 1H), 5,92 (dd, $J = 21,2$ Гц, 7,2 Гц, 1H), 4,97 (m, 1H), 4,60 - 4,30 (m, 2H), 4,29 - 4,15 (m, 1H), 4,10 (m, 1H), 3,88 (m, 1H), 1,33 (t, $J = 8,0$ Гц, 3H), 1,22 (m, 6H); ^{13}C ЯМР (100 МГц, CD_3OD , диастереомерная смесь) δ 174,61, 174,57, 174,35, 174,30, 167,18, 154,42, 152,15, 152,08, 142,62, 142,52, 139,86, 130,84, 130,20, 126,30, 124,17, 121,49, 121,44, 80,45, 70,18, 69,95, 66,90, 65,69, 51,88, 51,72, 21,97, 21,94, 21,91, 21,89, 21,85, 21,25, 21,19, 20,52, 20,45, 20,34, 20,26, 15,44; ^{19}F ЯМР (376 МГц, CD_3OD) δ -118,20 (dd, $J = 238,6$ Гц, 73,5 Гц), -120,20 (d, $J = 237,0$ Гц); ^{31}P ЯМР (162 МГц, CD_3OD) δ 3,81, 3,74; HRMS расщ. для $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{O}_8\text{N}_4\text{F}_2\text{P}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 533,16073, найденное значение : 533,16038.

EIDD-2091. К суспензии соединения **S18** (0,266 г, 0,500 ммоль) в THF (5 мл) добавляли 2 н. водный раствор гидроксилamina при pH 6 (6,3 мл, 12,49 ммоль) и полученную смесь перемешивали при 37°C в течение 1,5 суток. Реакционную смесь (при незавершенной реакции согласно TLC) разделяли между EtOAc и H₂O. Водный слой экстрагировали с помощью EtOAc (2 x 15 мл). Объединенные органические слои промывали с помощью H₂O и солевого раствора, высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали посредством ротационного выпаривания. Проводили автоматизированную флэш-хроматографию (колонка 24 г, градиент MeOH в DCM от 0 до 10%) с получением указанного в заголовке соединения (34 мг, 12%) в виде белого твердого вещества в виде смеси диастереомеров. ¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD, диастереомерная смесь) δ 7,36 (t, *J* = 7,7 Гц, 2H), 7,28 - 7,12 (m, 3H), 6,78 (t, *J* = 9,0 Гц, 1H), 6,09 (q, *J* = 8 Гц, 1H), 5,55 (dd, *J* = 19,8 Гц, 8,3 Гц, 1H), 4,97 (септ, *J* = 6,3 Гц, 1H), 4,63 - 4,27 (m, 3H), 4,20 (m, 1H), 4,10 - 3,96 (m, 1H), 3,95 - 3,76 (m, 1H), 1,33 (t, *J* = 7,8 Гц, 3H), 1,22 (m, 6H); ¹³C ЯМР (100 МГц, CD₃OD, диастереомерная смесь) δ 174,58, 174,54, 174,36, 174,31, 152,14, 152,07, 150,98, 145,48, 131,51, 131,34, 130,83, 126,26, 121,39, 121,37, 121,34, 121,32, 99,77, 85,24, 84,60, 80,02, 79,93, 79,88, 79,78, 71,52, 71,30, 71,05, 70,83, 70,18, 65,78, 65,72, 65,49, 65,44, 51,79, 51,66, 49,64, 49,43, 49,21, 49,00, 48,79, 48,57, 48,36, 21,97, 21,89, 20,54, 20,48, 20,39, 20,31; ¹⁹F ЯМР (376 МГц, CD₃OD) δ -118,04 (dd, *J* = 240,8, 22,2 Гц), -119,47 (d, *J* = 242,6 Гц); ³¹P ЯМР (162 МГц, CD₃OD) δ 3,76, 3,69; HRMS расч. для C₂₁H₂₇O₈N₄F₂NaP [M+Na]⁺: 571,13759, найденное значение : 571,13708.

Пример 20



S19. К раствору триметилфосфата (4,68 мл, 40,0 ммоль) в MeCN (40,0 мл) последовательно добавляли хлорметилпивалат (23 мл, 160 ммоль) и NaI (17,98 г, 120 ммоль). Полученную смесь желтого цвета перемешивали с обратным холодильником в течение ночи в присутствии молекулярных сит 4 Å. Продукт
5 можно было визуализировать на пластине TLC посредством фосфомолибденовой кислоты. После охлаждения до к. т. реакцию смесь фильтровали через слой целита и конденсировали на роторном вакуумном испарителе. Полученный желтый остаток повторно растворяли в Et₂O, промывали с помощью H₂O, солевого раствора и окончательно высушивали над Na₂SO₄. Органические вещества объединяли и
10 конденсировали на роторном вакуумном испарителе с получением остатка коричневатого-красного цвета. Проводили флэш-хроматографию (градиент EtOAc в гексанах от 10 до 20%) с получением соединения **S19** (11,24 г, 63,8% выход) в виде жидкости бледно-желтого цвета: ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 5,67 (s, 3H), 5,64 (s, 3H), 1,23 (s, 27H); ¹³C ЯМР (100 МГц, CDCl₃) δ 176,6, 82,7 (d, J = 5 Гц), 38,7, 26,8; ³¹P
15 ЯМР (162 МГц, CDCl₃) δ -5,24; HRMS расщ. для C₁₈H₃₃O₁₀NaP [M+Na]⁺: 463,17035, найденное значение : 463,17022.

S20. Раствор соединения **S19** в пиперидине (51,0 мл, 25,5 ммоль) перемешивали при к. т. в течение 7 часов. Реакционную смесь концентрировали посредством
20 ротационного выпаривания и затем повторно растворяли в CH₂Cl₂. Органический раствор промывали с помощью ~0,5 н. ледяной HCl (4 x 200 мл) и солевого раствора и высушивали над Na₂SO₄. После фильтрации и концентрирования посредством ротационного выпаривания остаток желтого цвета лиофилизировали с получением соединения **S19** (8,1 г, 97%) в виде светло-желтого воска: ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃)
25 δ 12,20 (s, 1H), 5,61 (s, 2H), 5,57 (s, 2H), 1,21 (s, 18H); ¹³C ЯМР (100 МГц, CDCl₃) δ 177,2, 82,7, 38,7, 26,8; ³¹P ЯМР (162 МГц, CDCl₃) δ -3,58; режим положительных ионов HRMS расщ. для C₁₂H₂₄O₈P [M+H]⁺: 327,12033, найденное значение : 327,12053; режим отрицательных ионов HRMS расщ. для C₁₂H₂₂O₈P [M-H]⁻: 325,10578, найденное значение : 325,10568.

30

EIDD-2135. Раствор триэтиламония бис(ПОМ)фосфата получали путем добавления триэтиламина (0,362 мл, 2,60 ммоль) к раствору соединения **S20** (0,782 г, 2,398 ммоль) в THF (8 мл). К раствору соединения **EIDD-1931** (0,518 г, 1,998 ммоль)

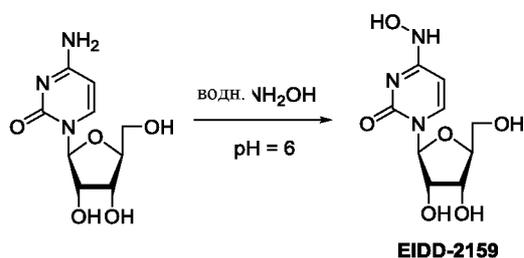
в THF (32 мл) в атмосфере азота добавляли полученный раствор триэтиламония бис(РОМ)фосфата при к. т., затем его охлаждали до 0°C. К реакционной смеси последовательно добавляли DIPEA (1,392 мл, 7,99 ммоль), BOP-Cl (1,017 г, 4,00 ммоль) и 3-нитро-1H-1,2,4-триазол (0,456 г, 4,00 ммоль) и полученную смесь

5 перемешивали при 0°C в течение 6 часов, после чего нагревали до к. т. и перемешивали в течение ночи. Реакционную смесь разделяли между EtOAc и насыщенным водн. NaHCO₃. Водный слой экстрагировали с помощью EtOAc и объединенные органические слои промывали солевым раствором, высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали посредством ротационного выпаривания.

10 Проводили автоматизированную флэш-хроматографию (колонка 40 г, градиент MeOH в DCM от 0 до 10%) с получением указанного в заголовке соединения (30,0 мг, 2,6%) в виде пены белого цвета: ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 10,25 (s, 1H), 7,43 (d, J = 8,2 Гц, 1H), 6,83 (d, J = 8,1 Гц, 1H), 5,99 - 5,42 (m, 6H), 4,58 - 4,00 (m, 5H), 3,89 (m, 2H), 1,21 (s, 18H); ³¹P ЯМР (162 МГц, CDCl₃) δ -4,77, -5,16; HRMS расщ. для

15 C₂₁H₃₄O₁₃N₃NaP [M+Na]⁺: 590,17215, найденное значение : 590,17171.

Пример 21



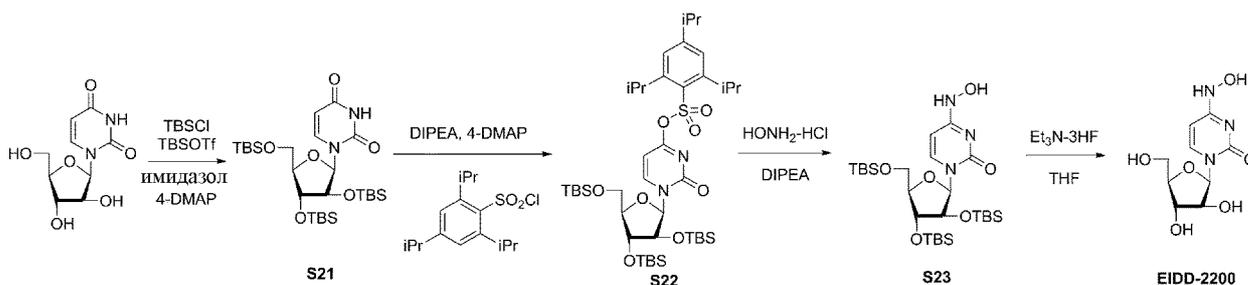
EIDD-2159. 2 н. водный раствор гидроксилamina (30,0 мл, 60,0 ммоль) получали путем внесения в 50% вес/вес водн. раствор NH₂OH ледяной AcOH и затем

20 разбавлением водой для достижения необходимой концентрации. В герметично закрывающийся сосуд высокого давления помещали описанный выше раствор, L-цитидин (0,486 г, 2,0 ммоль) и якорь магнитной мешалки. Сосуд закрывали и смесь нагревали при 50°C в течение 40 ч. Смесь охлаждали до к. т. и концентрировали посредством ротационного выпаривания. Неочищенный остаток растворяли в воде и

25 проводили автоматизированную хроматографию с обращенной фазой (колонка 100 г, градиент от 100% воды до 100% MeCN) с получением 300 мг получистого материала в виде желтого хлопьевидного твердого вещества. Соединение поглощали с помощью MeOH и иммобилизовали на целите. Проводили автоматизированную флэш-хроматографию (колонка 12 г, градиент MeOH в DCM от 10 до 25%) с

получением ~150 мг белого хлопьевидного твердого вещества, содержащего некоторое количество окклюдированного растворителя. Остаток растворяли в воде, замороженной в бане с сухим льдом/ацетоном, и лиофилизировали с получением указанного в заголовке соединения (0,128 г, 0,494 ммоль, 25% выход) в виде хлопьеобразного твердого вещества грязно-белого цвета. Спектральный анализ продемонстрировал степень чистоты 90-95%; при этом примесь была неизвестна и неотделима посредством хроматографии. ^1H ЯМР (400 МГц, D_2O) δ 7,04 (d, $J = 8,3$ Гц, 1H), 5,83 (d, $J = 5,7$ Гц, 1H), 5,72 (d, $J = 8,2$ Гц, 1H), 4,27 (t, $J = 5,5$ Гц, 1H), 4,16 (t, $J = 4,7$ Гц, 1H), 4,03 (q, $J = 3,9$ Гц, 1H), 3,80 (dd, $J = 12,9$ Гц, 3,0 Гц, 1H), 3,72 (dd, $J = 12,9$ Гц, 4,2 Гц, 1H); ^{13}C ЯМР (100 МГц, D_2O) δ 151,1, 146,5, 131,2, 98,6, 87,8, 83,9, 72,4, 69,7, 60,9; HRMS расщ. для $\text{C}_9\text{H}_{14}\text{N}_3\text{O}_6$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 260,08771, найденное значение : 260,08734.

Пример 22



15

S21. В круглодонную колбу помещали 1- β -D-арабинофуранозилурацил (4,88 г, 20,0 ммоль) и дихлорметан (40 мл). Полученную смесь охлаждали до 0°C и добавляли сразу весь 4-DMAP (0,244 г, 2,00 ммоль) и имидазол (5,45 г, 80,0 ммоль). Добавляли сразу весь TBSCl (12,06 г, 80,0 ммоль) в виде твердого вещества, смесь нагревали до температуры окружающей среды и перемешивали в течение 16 часов. К реакционной смеси добавляли воду (100 мл), слои разделяли и водный слой экстрагировали дихлорметаном (2 x 100 мл). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (1 x 100 мл), высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали посредством ротационного выпаривания с получением ~12 г неочищенного вещества. Анализы ^1H ЯМР и LCMS продемонстрировали соотношение бис-силилированных и персилилированных продуктов, составляющее 3:1. Неочищенное вещество повторно растворяли в дихлорметане (40 мл) и имидазоле (2,04 г, 30,0 ммоль) и добавляли сразу весь 4-DMAP (0,122 г, 1,00 ммоль).

25

TBS трифлат (6,89 мл, 30,0 ммоль) добавляли по каплям с помощью шприца и смесь перемешивали в течение 16 часов при температуре окружающей среды. К реакционной смеси добавляли воду (100 мл), слои разделяли и водный слой экстрагировали дихлорметаном (2 x 100 мл). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (1 x 100 мл), высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали посредством ротационного выпаривания с получением ~25 г неочищенного вещества. Проводили автоматизированную флэш-хроматографию (колодка 330 г, градиент EtOAc в гексанах от 5 до 60%) с получением соединения **S21** (2,90 г, 25%) в виде прозрачного бесцветного масла: ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,93 (br s, 1H), 7,51 (d, *J* = 8,2 Гц, 1H), 6,15 (d, *J* = 3,2 Гц, 1H), 5,67 (dd, *J* = 8,2 Гц, 2,8 Гц, 1H), 4,18 (s, 1H), 4,12 (dd, *J* = 3,2 Гц, 1,3 Гц, 1H), 3,97 (dd, *J* = 8,6 Гц, 5,8 Гц, 1H), 3,82 (dd, *J* = 9,8 Гц, 5,7 Гц, 1H), 3,74 (dd, *J* = 9,7 Гц, 8,6 Гц, 1H), 0,92 (s, 9H), 0,91 (s, 9H), 0,84 (s, 9H), 0,13 (s, 3H), 0,12 (s, 3H), 0,09 (s, 3H), 0,08 (s, 3H), 0,07 (s, 3H), -0,06 (s, 3H); LRMS *масса/заряд* 587,3 [M+H]⁺, 609,3 [M+Na]⁺.

15

S22. К перемешанному раствору соединения **S21** (2,90 г, 4,94 ммоль) и 4-DMAP (0,060 г, 0,49 ммоль) в дихлорметане (50 мл) при 0°C в атмосфере азота с помощью шприца добавляли *N,N*-диизопропилэтиламин (4,30 мл, 24,70 ммоль), затем одной порцией добавляли твердый 2,4,6-триизопропилбензол-1-сульфонилхлорид (2,99 г, 9,88 ммоль). Смесь нагревали до температуры окружающей среды и перемешивали в течение 4 ч., затем повторно охлаждали до 0°C. Смесь промывали ледяным нас. водн. NaHCO₃ (3 x 50 мл), высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали посредством ротационного выпаривания. Неочищенное масло поглощали с помощью дихлорметана и проводили автоматизированную флэш-хроматографию (колодка 80 г, градиент EtOAc в гексанах от 1 до 10%) с получением соединения **S22** (3,30 г, 78%) в виде прозрачного бесцветного масла: ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,92 (d, *J* = 7,3 Гц, 1H), 7,20 (s, 2H), 6,10 (d, *J* = 3,0 Гц, 1H), 6,05 (d, *J* = 7,3 Гц, 1H), 4,33-4,23 (m, 3H), 4,14 (s, 1H), 4,01 (dd, *J* = 8,8 Гц, 6,2 Гц, 1H), 3,80 (dd, *J* = 9,6 Гц, 6,2 Гц, 1H), 3,70 (t, *J* = 9,3 Гц, 1H), 2,90 (p, *J* = 7,0 Гц, 1H), 1,32-1,22 (m, 21H), 0,91 (s, 9H), 0,89 (s, 9H), 0,72 (s, 9H), 0,10 (s, 6H), 0,08 (s, 3H), 0,07 (s, 3H), -0,03 (s, 3H), -0,34 (s, 3H).

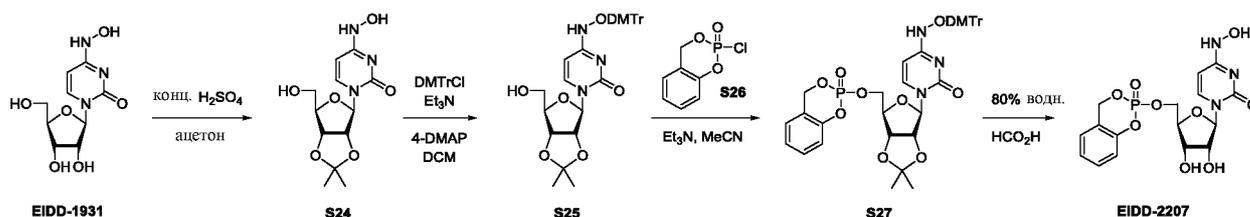
30

S23. К перемешанному раствору соединения **S22** (3,30 г, 3,87 ммоль) в ацетонитриле (40 мл) в атмосфере азота при 0°C с помощью шприца добавляли триэтиламин (1,08 мл, 7,73 ммоль), затем одной порцией добавляли твердый гидроксилamina гидрохлорид (0,537 г, 7,73 ммоль). Смесь нагревали до температуры окружающей среды и перемешивали 16 ч. Смесь повторно охлаждали до 0°C и добавляли нас. водн. NaHCO₃ (80 мл). Смесь экстрагировали дихлорметаном (3 x 80 мл) и объединенные органические слои высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали посредством ротационного выпаривания. Неочищенное вещество подвергали автоматизированной флэш-хроматографии (колонка 80 г, градиент EtOAc в дихлорметане от 5 до 20%) с получением получистого вещества. Проводили вторую автоматизированную флэш-хроматографию (колонка 80 г, градиент EtOAc в гексанах от 5 до 50%) с получением соединения **S23** (1,17 г, 50%) в виде белого хлопьевидного твердого вещества: ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8,20 (br s, 1H), 6,90 (d, J = 8,4 Гц, 1H), 6,42 (s, 1H), 6,12 (d, J = 3,4 Гц, 1H), 5,51 (dd, J = 8,3 Гц, 1,8 Гц, 1H), 4,15 (br m, 1H), 4,07 (dd, J = 3,4 Гц, 1,4 Гц, 1H), 3,91 (dd, J = 8,2 Гц, 6,4 Гц, 1H), 3,80 (dd, J = 9,8 Гц, 5,6 Гц, 1H), 3,74 (dd, J = 9,8 Гц, 8,6 Гц, 1H), 0,91 (s, 9H), 0,90 (s, 9H), 0,86 (s, 9H), 0,12 (s, 3H), 0,11 (s, 3H), 0,08 (s, 3H), 0,07 (s, 6H), -0,02 (s, 3H); LRMS масса/заряд 602,3 [M+H]⁺.

EIDD-02200. К перемешанному раствору соединения **S23** (0,602 г, 1,00 ммоль) в THF (8 мл) при комнатной температуре в атмосфере азота с помощью шприца по каплям добавляли триэтиламина тригидрофторид (0,163 мл, 1,00 ммоль). Смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 4 суток. К реакционной смеси добавляли целит и посредством ротационного выпаривания неочищенное вещество иммобилизовали на целит. Проводили автоматизированную флэш-хроматографию (колонка 24 г, градиент MeOH в дихлорметане от 5 до 25%) с получением 600 мг получистого продукта. Смесь поглощали с помощью воды и проводили автоматизированную флэш-хроматографию с обращенной фазой (колонка 43 г, градиент ацетонитрила в воде от 0 до 15%) с получением необходимого продукта, не содержащего примеси. Твердое вещество растворяли в воде, замороженной в бане с сухим льдом/ацетоном, и лиофилизировали с получением указанного в заголовке соединения (0,164 г, выход 63%) в виде белого хлопьеобразного твердого вещества: ¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD) δ 7,13 (d, J = 8,3 Гц,

1Н), 6,07 (d, $J = 4,4$ Гц, 1Н), 5,51 (d, $J = 8,3$ Гц, 1Н), 4,10 (dd, $J = 4,5$ Гц, 1,3 Гц, 1Н), 4,03 (t, $J = 3,4$ Гц, 1Н), 3,87-3,72 (m, 3Н); ^1H ЯМР (400 МГц, D_2O) δ 7,08 (d, $J = 8,3$ Гц, 1Н), 6,09 (d, $J = 5,6$ Гц, 1Н), 5,67 (d, $J = 8,3$ Гц, 1Н), 4,33 (t, $J = 5,4$ Гц, 1Н), 4,06 (t, $J = 5,6$ Гц, 1Н), 3,89-3,86 (m, 2Н), 3,76 (dd, $J = 13,1$ Гц, 6,1 Гц, 1Н); ^{13}C ЯМР (100 МГц, D_2O) δ 150,9, 146,8, 132,8, 97,0, 84,1, 82,1, 75,8, 74,8, 60,4; LRMS масса/заряд 260,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Пример 23



- 10 **S24.** К перемешанной суспензии соединения **EIDD-1931** (1,25 г, 4,82 ммоль) в сухом ацетоне (60 мл) в атмосфере азота при комнатной температуры добавляли конц. H_2SO_4 (0,05 мл, 0,964 ммоль) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Кислоту нейтрализовали добавлением триэтиламина (0,27 мл, 1,93 ммоль) и смесь концентрировали посредством ротационного выпаривания.
- 15 Проводили автоматизированную флэш-хроматографию (колонка 80 г, градиент метанола в дихлорметане от 0 до 10%) с получением соединения **S24** (0,831 г, 58%) в виде белого твердого вещества: ^1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD) δ 7,03 (d, $J = 8,2$ Гц, 1Н), 5,81 (d, $J = 3,2$ Гц, 1Н), 5,58 (d, $J = 8,2$ Гц, 1Н), 4,86 (dd, $J = 6,5$ Гц, 3,2 Гц, 1Н), 4,79 (dd, $J = 6,4$ Гц, 3,6 Гц, 1Н), 4,10 (q, $J = 4,0$ Гц, 1Н), 3,75 (dd, $J = 11,9$ Гц, 3,7 Гц, 1Н),
- 20 3,70 (dd, $J = 12,0$ Гц, 4,5 Гц, 1Н), 1,54 (s, 3Н), 1,35 (s, 3Н).

- S25.** К перемешанной суспензии соединения **S24** (0,831 г, 2,78 ммоль) в дихлорметане (14 мл) при комнатной температуре в атмосфере азота добавляли триэтиламин (0,58 мл, 4,16 ммоль) и 4-DMAP (3,4 мг, 0,028 ммоль) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 15 мин. По каплям добавляли раствор 4,4'-диметокситритилхлорида (0,988 г, 2,92 ммоль) в дихлорметане (14 мл) и смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакционную смесь промывали солевым раствором (1 x 30 мл), высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали посредством ротационного выпаривания.
- 30 Проводили флэш-хроматографию (9:1 гексань:EtOAc, 2,5% об./об. Et_3N) с

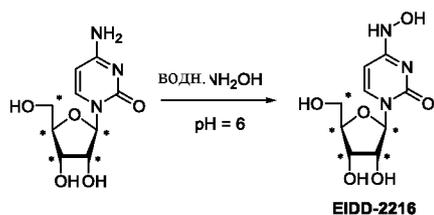
получением соединения **S25** (1,39 г, 83%) в виде пены желтого цвета: ^1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD) δ 7,35-7,20 (m, 10H), 7,01 (d, $J = 8,3$ Гц, 1H), 6,85-6,80 (m, 4H), 5,80 (d, $J = 3,0$ Гц, 1H), 5,52 (d, $J = 8,2$ Гц, 1H), 4,84 (dd, $J = 6,4$ Гц, 3,0 Гц, 1H), 4,77 (dd, $J = 6,4$ Гц, 3,6 Гц, 1H), 4,10 (q, $J = 4,0$ Гц, 1H), 3,73 (dd, $J = 11,9$ Гц, 3,6 Гц, 1H), 3,68 (dd, $J = 12,0$ Гц, 4,6 Гц, 1H), 1,53 (s, 3H), 1,34 (s, 3H).

S27. К перемешанному раствору соединения **S26** (0,523 г, 2,56 ммоль) и *N,N*-диизопропилэтиламина (0,46 мл, 2,64 ммоль) в ацетонитриле (5 мл) при 0°C в атмосфере азота добавляли соединение **S25** (0,300 г, 0,499 ммоль). Полученную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали 22 ч., затем разбавляли с помощью EtOAc (50 мл), промывали солевым раствором (2 x 50 мл), высушивали над Na_2SO_4 и концентрировали посредством ротационного выпаривания. Неочищенный остаток переносили непосредственно на следующую стадию без дополнительной очистки.

15

EIDD-2207. Все неочищенное вещество **S27**, полученное на предыдущей стадии, смешивали с 80% вес/вес водн. раствором муравьиной кислоты (10 мл) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 20 часов. Смесь концентрировали посредством ротационного выпаривания и проводили автоматизированную флэш-хроматографию (колонка 40 г, градиент метанола в дихлорметане от 0 до 15%) с получением указанного в заголовке соединения (0,104 г, 48% в 2 стадии) в виде пены желтого цвета в виде диастереомерной смеси по фосфору ~1:1: ^1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD , диастереомерная смесь) δ 7,41-7,35 (m, 1H), 7,26-7,18 (m, 2H), 7,12 (d, $J = 8,3$ Гц, 1H), 6,75 (d, $J = 8,3$ Гц, 0,5 x 1H), 6,69 (d, $J = 8,3$ Гц, 0,5 x 1H), 5,79 (d, $J = 4,8$ Гц, 0,5 x 1H), 5,75 (d, $J = 4,8$ Гц, 0,5 x 1H), 5,54-5,42 (m, 2H), 5,46 (d, $J = 8,2$ Гц, 0,5 x 1H), 5,32 (d, $J = 8,2$ Гц, 0,5 x 1H), 4,56-4,25 (m, 2H), 4,13-4,02 (m, 3H); ^{31}P ЯМР (162 МГц, CD_3OD , диастереомерная смесь) δ -9,13, -9,33; HRMS расч. для $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{O}_9\text{PNa}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 450,06729; найденное значение : 450,06777.

30 **Пример 24**



EIDD-2216. Получали ~5 н. раствор гидроксиламина гидрохлорида (4,71 г, 67,8 ммоль) в воде (13,5 мл) и доводили до pH = 6 с помощью небольшого количества водн. раствора NaOH (10% вес/вес). В герметично закрывающуюся пробирку, предназначенную для работы под давлением, помещали данный раствор и

5 пробирку, предназначенную для работы под давлением, помещали данный раствор и [1',2',3',4',5'-¹³C₅]цитидин (0,661 г, 2,26 ммоль), пробирку закрывали и нагревали при перемешивании при 37°C в течение 16 ч. Смесь охлаждали до комнатной температуры, переносили в круглодонную колбу и концентрировали посредством ротационного выпаривания. Неочищенный материал поглощали с помощью воды и

10 проводили автоматизированную флэш-хроматографию с обращенной фазой (колонка C18 240 г, градиент ацетонитрила в воде от 0 до 100%) с удалением основной массы примесей, с получением 1,4 г влажного твердого вещества. Данное твердое вещество растворяли в воде и проводили вторую автоматизированную хроматографию с обращенной фазой (колонка C18 240 г, градиент ацетонитрила в

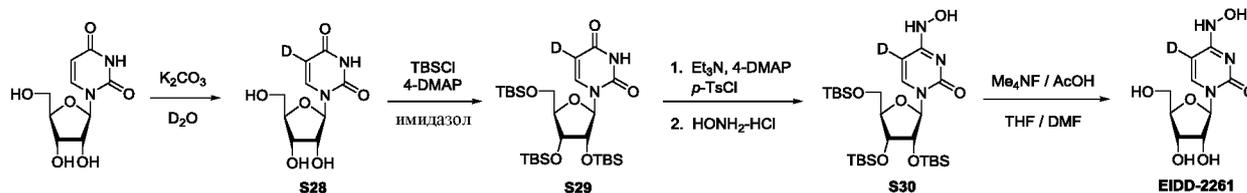
15 воде от 0 до 100%) с удалением большего количества примесей, с получением 400 мг почти чистого материала. Материал растворяли в MeOH и иммобилизовали на целите. Проводили автоматизированную флэш-хроматографию (колонка 24 г, градиент MeOH в дихлорметане от 5 до 25%) с получением ~200 мг почти чистого продукта. Твердое вещество растворяли в воде и проводили заключительную

20 автоматизированную хроматографию с обращенной фазой (колонка C18 48 г, градиент ацетонитрила в воде от 0 до 100%) с получением необходимого продукта, не содержащего органических и неорганических примесей. Твердое вещество растворяли в воде, замороженной в бане с сухим льдом/ацетоном, и лиофилизировали с получением указанного в заголовке соединения (0,119 г, 20%) в

25 виде хлопьеобразного твердого вещества бледно-фиолетового цвета с чистотой ~95% согласно анализу ЯМР/LCMS: ¹H ЯМР (400 МГц, D₂O) δ 7,03 (dd, *J* = 8,2 Гц, 2,2 Гц, 1H), 5,82 (ddd, *J* = 167,5 Гц, 5,3 Гц, 2,9 Гц, 1H), 5,70 (d, *J* = 8,2 Гц, 1H), 4,47-4,30 (br m, 1H), 4,23-4,03 (br m, 1H), 4,00-3,80 (br m, 2H), 3,65-3,50 (br m, 1H); ¹³C ЯМР (100 МГц, D₂O) δ 151,3, 146,6, 131,3, 98,7, 87,9 (dd, *J* = 43,1 Гц, 4,0 Гц), 84,0 (dd,

$J = 41,5$ Гц, $38,0$ Гц), $72,5$ (dd, $J = 43,3$ Гц, $37,8$ Гц), $69,8$ (td, $J = 37,9$ Гц, $3,9$ Гц), $61,1$ (d, $J = 41,5$ Гц); LRMS масса/заряд $265,1$ $[M+H]^+$.

Пример 25



- 5 **S28** В герметично закрывающуюся пробирку, предназначенную для работы под давлением, помещали уридин (1,00 г, 4,09 ммоль), K_2CO_3 (0,679 г, 4,91 ммоль) и оксид дейтерия (8,2 мл). Смесь продували азотом в течение 15 минут, пробирку закрывали и содержимое нагревали при перемешивании при $95^\circ C$ в течение 16 ч. Смесь охлаждали до к. т., пробирку открывали и смесь переносили в круглодонную колбу и концентрировали посредством ротационного выпаривания. Полученное неочищенное вещество совместно выпаривали с MeOH (x 3) с удалением воды. Анализ ЯМР продемонстрировал включение дейтерия $> 95\%$ по 5-положению нуклеоснования. Светло-коричневое твердое вещество **S28** (1,00 г, 100%) использовали на следующей стадии без дополнительной очистки: 1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD) δ 7,76 (s, 1H), 5,88 (d, $J = 4,2$ Гц, 1H), 4,17-4,12 (m, 2H), 4,00-3,96 (m, 1H), 3,84 (dd, $J = 12,3$ Гц, 2,8 Гц, 1H), 3,72 (dd, $J = 12,3$ Гц, 3,5 Гц, 1H); ^{13}C ЯМР (100 МГц, CD_3OD) δ 185,6, 177,4, 160,4, 141,1, 91,8, 85,8, 75,9, 71,2, 62,4.
- 10
- 15

- S29.** В круглодонную колбу помещали соединение **S28** (1,00 г, 4,09 ммоль) и дихлорметан (8 мл) в атмосфере азота. Полученную смесь охлаждали до $0^\circ C$ и добавляли сразу весь 4-DMAP (0,050 г, 0,408 ммоль) и имидазол (1,11 г, 16,3 ммоль). Добавляли сразу весь TBSCl (2,15 г, 14,3 ммоль) в виде твердого вещества, смесь нагревали до температуры окружающей среды и перемешивали в течение 16 часов. К реакционной смеси добавляли воду (25 мл), слои разделяли и водный слой экстрагировали дихлорметаном (2 x 25 мл). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (1 x 25 мл), высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали посредством ротационного выпаривания. Проводили автоматизированную флэш-хроматографию (колонка 40 г, градиент EtOAc в гексанах от 0 до 35%) с получением соединения **S29** (2,52 г, 84%) в виде пены грязно-белого цвета: 1H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ 8,08 (br s, 1H), 8,03 (s, 1H), 5,89 (d,
- 20
- 25
- 30

$J = 3,6$ Гц, 1H), 4,12-4,06 (m, 3H), 3,99 (dd, $J = 11,5$ Гц, 1,8 Гц, 1H), 3,76 (d, $J = 12,0$ Гц, 1H), 0,96 (s, 9H), 0,92 (s, 9H), 0,90 (s, 9H), 0,14 (s, 3H), 0,13 (s, 3H), 0,10 (s, 3H), 0,09 (s, 3H), 0,08 (s, 3H), 0,07 (s, 3H); ^{13}C ЯМР (100 МГц, CDCl_3) δ 163,7, 150,3, 140,3, 89,0, 84,3, 76,1, 70,5, 61,6, 26,0 (3C), 25,8 (3C), 25,7 (3C), 18,4, 18,3, 17,9, -4,2, -4,6, -4,8, -4,9, -5,4, -5,6; HRMS расч. для $\text{C}_{27}\text{H}_{54}\text{DN}_2\text{NaO}_6\text{Si}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 610,32446, найденное значение : 610,32482.

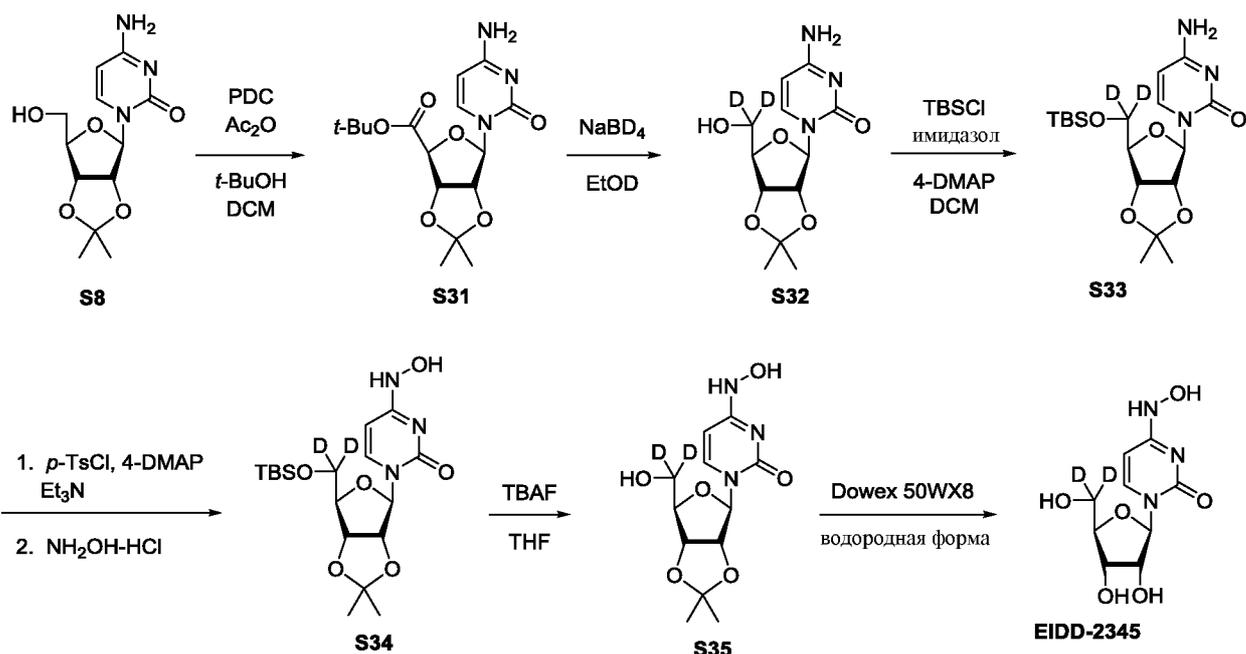
S30. К перемешанному раствору соединения **S29** (0,840 г, 1,43 ммоль) в ацетонитриле (14,3 мл) при 0°C в атмосфере азота последовательно добавляли *пара*-толуолсульфонилхлорид (0,545 г, 2,86 ммоль), 4-DMAP (0,175 г, 1,43 ммоль) и триэтиламин (0,80 мл, 5,71 ммоль). Смесь перемешивали при 0°C в течение 2,5 ч., во время чего добавляли сразу весь гидроксилamina гидрохлорид (0,993 г, 14,3 ммоль) в виде твердого вещества. Смесь нагревали при 50°C в течение 3 суток, затем охлаждали до к. т. Реакционную смесь разбавляли с помощью EtOAc (100 мл), затем промывали водой (2 x 100 мл) и солевым раствором (1 x 100 мл), высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали посредством ротационного выпаривания. Проводили автоматизированную флэш-хроматографию (колонка 40 г, градиент EtOAc в гексанах от 5 до 35%) с получением смеси исходного вещества и необходимого продукта. Проводили вторую автоматизированную флэш-хроматографию (колонка 24 г, градиент EtOAc в гексанах от 10 до 40%) с получением соединения **S30** (0,332 г, 39%) в виде пены грязно-белого цвета: ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8,37 (br s, 1H), 5,92 (d, $J = 4,6$ Гц, 1H), 4,10-4,05 (m, 2H), 4,04-4,00 (m, 1H), 3,91 (dd, $J = 11,6$ Гц, 2,4 Гц, 1H), 3,73 (dd, $J = 11,6$ Гц, 1,8 Гц, 1H), 0,95 (s, 9H), 0,92 (s, 9H), 0,89 (s, 9H), 0,12 (s, 6H), 0,10 (s, 3H), 0,08 (s, 3H), 0,06 (s, 3H), 0,05 (s, 3H).

EIDD-2261. В круглодонную колбу помещали соединение **S30** (0,332 г, 0,551 ммоль), фторид тетраметиламмония (0,196 г, 2,64 ммоль), THF (8,25 мл) и DMF (2,75 мл) в атмосфере азота при 0°C . С помощью шприца добавляли сразу всю уксусную кислоту (0,157 мл, 2,75 ммоль). Смесь нагревали до 45°C и продолжали нагревать при перемешивании в течение 4 суток, затем концентрировали посредством ротационного выпаривания. Проводили автоматизированную флэш-хроматографию (колонка 40 г, градиент MeOH в DCM от 0 до 20%) с получением

указанного в заголовке соединения (0,106 г, 74%) в виде белого твердого вещества. Заключительный анализ ЯМР показал включение дейтерия > 95% по 5-положению нуклеосооснования: ^1H ЯМР (400 МГц, D_2O) δ 7,16 (s, 1H), 5,85 (d, $J = 5,6$ Гц, 1H), 4,14 (t, $J = 5,5$ Гц, 1H), 4,10 (dd, $J = 5,6$ Гц, 3,8 Гц, 1H), 3,93 (q, $J = 3,4$ Гц, 1H), 3,77 (dd, $J = 12,2$ Гц, 2,9 Гц, 1H), 3,68 (dd, $J = 12,2$ Гц, 3,4 Гц, 1H); ^{13}C ЯМР (100 МГц, CD_3OD) δ 151,8, 146,3, 132,1, 89,7, 86,1, 74,6, 71,8, 62,8; HRMS расщ. для $\text{C}_9\text{H}_{13}\text{DN}_3\text{O}_6$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 261,09399, найденное значение : 261,09371.

10

Пример 26



15

S31. В круглодонную колбу помещали соединение **S8** (3,13 г, 11,0 ммоль) и дихлорметан (75 мл) в атмосфере азота при комнатной температуре. К данной перемешанной смеси при комнатной температуре последовательно добавляли дихромат пиридиния (8,28 г, 22,0 ммоль), уксусный ангидрид (10,4 мл, 110 ммоль) и *трет*-бутанол (21,1 мл, 220 ммоль). Смесь перемешивали в течение 22 часов при комнатной температуре, затем промывали водой (1 x 75 мл). Водный слой экстрагировали дихлорметаном (2 x 75 мл) и объединенные органические слои

20

промывали солевым раствором (1 x 100 мл), высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали посредством ротационного выпаривания. Полученный остаток поглощали с помощью EtOAc и фильтровали через слой целита, затем промывали с помощью EtOAc. Фильтрат концентрировали посредством ротационного выпаривания и проводили автоматизированную флэш-хроматографию (колонка 120 г, градиент EtOAc в гексанах от 40 до 80%) с получением соединения **S31** (3,10 г, 72%) в виде пены грязно-белого цвета: ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8,36 (br s, 1H), 7,42 (d, *J* = 8,0 Гц, 1H), 5,76 (dd, *J* = 8,0 Гц, 2,3 Гц, 1H), 5,59 (s, 1H), 5,27 (dd, *J* = 6,0 Гц, 1,8 Гц, 1H), 5,19 (d, *J* = 6,0 Гц, 1H), 4,62 (d, *J* = 1,8 Гц, 1H), 1,56 (s, 3H), 1,48 (s, 9H), 1,39 (s, 3H).

S32. К перемешанному раствору соединения **S31** (2,61 г, 7,37 ммоль) в EtOD (75 мл) при комнатной температуре в атмосфере азота добавляли NaBD₄ (1,234 г, 29,5 ммоль) одной порцией. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа, нагревали до 55°C в течение 6 часов, затем оставляли на ночь при комнатной температуре. Смесь охлаждали до 0°C и избытки реагента гасили с помощью AcOD. Смесь концентрировали посредством ротационного выпаривания с получением неочищенного соединения **S32** (2,57 г), которое переносили непосредственно на следующую стадию без дополнительной очистки.

S33. К перемешанной суспензии неочищенного соединения **S32** (2,00 г материала с примесями, ~5,74 ммоль) в дихлорметане (70 мл) при 0°C добавляли твердый имидазол (1,90 г, 27,9 ммоль) и 4-DMAP (0,171 г, 1,40 ммоль). Добавляли твердый *трет*-бутилдиметилсилилхлорид (2,11 г, 14,0 ммоль) и смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 4 суток. Смесь промывали последовательно водой и солевым раствором (1 x 70 мл каждого), высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали посредством ротационного выпаривания. Проводили автоматизированную флэш-хроматографию (колонка 120 г, градиент EtOAc в гексанах от 0 до 35%) с получением соединения **S33** (1,42 г, 66% в 2 стадии) в виде белого твердого вещества: ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8,30 (br s, 1H), 7,72 (m, 1H), 5,99 (d, *J* = 2,8 Гц, 1H), 5,69 (dd, *J* = 8,2 Гц, 2,3 Гц, 1H), 4,77 (dd, *J* = 6,1 Гц, 2,9 Гц, 1H), 4,69 (dd, *J* = 6,2 Гц, 2,8 Гц, 1H), 4,33 (d, *J* = 3,0 Гц, 1H), 1,60 (s, 3H), 1,37 (s, 3H), 0,91 (s, 9H), 0,11 (s, 3), 0,10 (s, 3H); ¹³C ЯМР (100 МГц, CDCl₃) δ 162,7, 149,9,

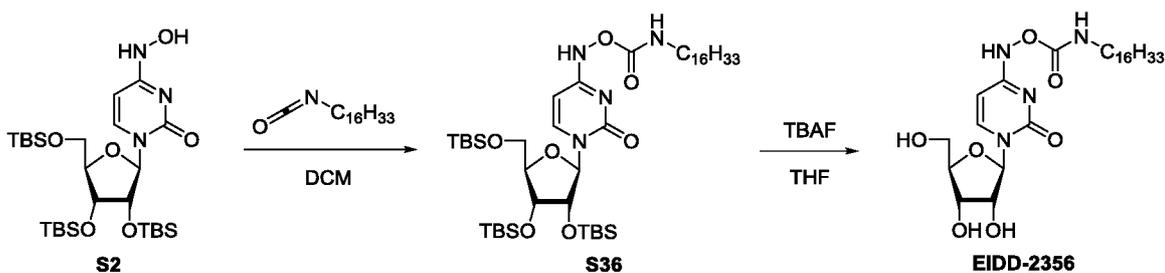
140,5, 114,1, 102,1, 91,9, 86,5, 85,4, 80,3, 27,4, 25,9 (3C), 25,4, 18,4, -5,4, -5,5; HRMS расщ. для $C_{18}H_{29}D_2N_2O_6Si$ $[M+H]^+$: 401,20714, найденное значение : 401,20663.

S34. К перемешанному раствору соединения **S33** (1,42 г, 3,55 ммоль) в ацетонитриле (35 мл) при 0°C в атмосфере азота последовательно добавляли *пара*-толуолсульфонилхлорид (1,35 г, 7,09 ммоль), 4-DMAP (0,433 г, 3,55 ммоль) и триэтиламин (9,88 мл, 70,9 ммоль). Полученную смесь перемешивали при 0°C в течение 2,5 часов. Добавляли гидроксилamina гидрохлорид (2,46 г, 35,5 ммоль) и смесь нагревали при перемешивании при 50°C в течение 2 суток. Смесь повторно охлаждали до к. т. и разбавляли с помощью EtOAc (100 мл), затем промывали водой (2 x 50 мл) и солевым раствором (1 x 50 мл), высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали посредством ротационного выпаривания. Проводили автоматизированную флэш-хроматографию (колонка 120 г, градиент метанола в дихлорметане от 1 до 3,5%) с получением соединения **S34** (0,416 г, 28%) в виде грязно-белого твердого вещества: 1H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ 8,36 (br s, 1H), 7,00 (m, 1H), 5,97 (d, $J = 3,1$ Гц, 1H), 5,58 (d, $J = 8,2$ Гц, 1H), 4,77 (dd, $J = 6,2$ Гц, 3,2 Гц, 1H), 4,68 (dd, $J = 6,3$ Гц, 3,2 Гц, 1H), 4,22 (d, $J = 3,2$ Гц, 1H), 1,59 (s, 3H), 1,36 (s, 3H), 0,92 (s, 9H), 0,11 (s, 3H), 0,10 (s, 3H); ^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$) δ 149,0, 145,4, 131,4, 114,1, 98,3, 90,8, 85,5, 84,5, 80,2, 27,4, 25,9 (3C), 25,5, 18,4, -5,4, -5,5; HRMS расщ. для $C_{18}H_{29}D_2N_3O_6Si$ $[M+H]^+$: 416,21804, найденное значение : 416,21827.

S35. К перемешанному раствору соединения **S34** (0,416 г, 1,00 ммоль) в THF (5 мл) при 0°C в атмосфере азота добавляли 1,0 М раствор TBAF в THF (1,50 мл, 1,5 ммоль) и полученную смесь выдерживали при 0°C в течение 24 часов. Реакционную смесь концентрировали посредством ротационного выпаривания и проводили автоматизированную флэш-хроматографию (колонка 40 г, градиент метанола в дихлорметане от 0 до 8%) с получением соединения **S35** (0,257 г, 85%) в виде белого твердого вещества: 1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD) δ 7,02 (m, 1H), 5,81 (d, $J = 3,2$ Гц, 1H), 5,58 (d, $J = 8,2$ Гц, 1H), 4,86 (dd, $J = 6,4$ Гц, 3,2 Гц, 1H), 4,79 (dd, $J = 6,5$ Гц, 3,6 Гц, 1H), 4,09 (d, $J = 3,7$ Гц, 1H), 1,54 (s, 3H), 1,34 (s, 3H); ^{13}C ЯМР (100 МГц, CD_3OD) δ 151,3, 146,2, 133,4, 115,2, 99,4, 92,9, 87,2, 84,9, 82,1, 27,6, 25,6; HRMS расщ. для $C_{12}H_{16}D_2N_3O_6$ $[M+H]^+$: 302,13157, найденное значение : 302,13130.

EIDD-2345. К перемешанному раствору соединения **S35** (0,140 г, 0,465 ммоль) в метаноле (8,4 мл) и воде (0,93 мл) при комнатной температуре добавляли водородную форму Dowex 50WX8 (0,30 г) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 24 часов. Реакционную смесь фильтровали и фильтрат концентрировали посредством ротационного выпаривания. Проводили автоматизированную флэш-хроматографию (колонка 40 г, градиент метанола в дихлорметане от 5 до 20%) с получением указанного в заголовке соединения (0,050 г, 41%) в виде грязно-белого твердого вещества: ^1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD) δ 7,17 (m, 1H), 5,86 (d, $J = 5,6$ Гц, 1H), 5,60 (d, $J = 8,2$ Гц, 1H), 4,15 (t, $J = 5,5$ Гц, 1H), 4,11 (dd, $J = 5,6$ Гц, 3,5 Гц, 1H), 3,94 (d, $J = 3,8$ Гц, 1H); ^{13}C ЯМР (100 МГц, CD_3OD) δ 151,8, 146,3, 132,2, 99,3, 89,7, 86,0, 74,6, 71,7, HRMS расч. для $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{D}_2\text{N}_3\text{O}_6$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 260,08571, найденное значение : 260,08578.

Пример 27

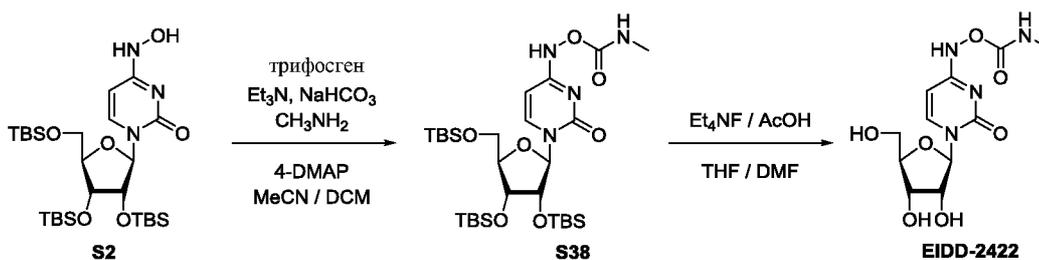


S36. К перемешанному раствору соединения **S2** (0,090 г, 0,150 ммоль) в DCM (1,5 мл) в атмосфере азота при к. т. по каплям с помощью шприца в течение 2 минут добавляли гексадецилизоцианат (0,051 мл, 0,165 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при к. т. в течение 4 ч., затем концентрировали посредством ротационного выпаривания с получением неочищенного остатка. Проводили автоматизированную флэш-хроматографию (колонка 12 г, градиент EtOAc в гексанах от 0 до 20%) с получением соединения **S36** (0,120 г, 92%) в виде пены грязно-белого цвета: ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8,27 (br s, 1H), 7,51 (d, $J = 8,4$ Гц, 1H), 6,29 (t, $J = 5,8$ Гц, 1H), 5,90 (d, $J = 4,5$ Гц, 1H), 5,57 (dd, $J = 8,2$ Гц, 2,2 Гц, 1H), 4,09-4,02 (m, 3H), 3,93 (dd, $J = 11,7$ Гц, 2,2 Гц, 1H), 3,73 (dd, $J = 11,6$ Гц, 1,6 Гц, 1H), 3,27 (q, $J = 6,6$ Гц, 2H), 1,56 (m, 2H), 1,26 (br s, 28H), 0,95 (s, 9H), 0,91 (s, 9H), 0,89 (s, 9H), 0,89 (m, 3H), 0,13 (s, 3H), 0,12 (s, 3H), 0,09 (s, 3H), 0,08 (s, 3H), 0,05 (s, 3H), 0,04 (s, 3H); ^{13}C ЯМР (100 МГц, CDCl_3) δ 154,6, 147,9, 146,9, 134,0, 96,0, 91,2, 87,9, 85,1, 75,5, 71,7, 62,5, 41,2, 31,9, 29,73, 29,70, 29,69 (2C, случайный изохронизм), 29,67,

3,28 (q, $J = 6,6$ Гц, 2H), 1,55 (m, 2H), 1,26 (br s, 30H), 0,95 (s, 9H), 0,91 (s, 9H), 0,89 (s, 9H), 0,89 (m, 3H), 0,13 (s, 3H), 0,12 (s, 3H), 0,09 (s, 3H), 0,08 (s, 3H), 0,05 (s, 3H), 0,04 (s, 3H); ^{13}C ЯМР (100 МГц, CDCl_3) δ 154,6, 147,9, 146,9, 134,0, 96,0, 91,2, 87,9, 85,1, 75,5, 71,7, 62,5, 41,2, 31,9, 29,73, 29,70 (5C, случайный изохронизм), 29,67, 29,66 (2C, случайный изохронизм), 29,60, 29,5, 29,4, 29,3, 26,8, 26,0 (3C), 25,8 (3C), 25,7 (3C), 22,7, 18,4, 18,1, 17,9, 14,1, -4,4, -4,6, -4,7, -4,8, -5,5, -5,6; HRMS расщ. для $\text{C}_{46}\text{H}_{93}\text{N}_4\text{O}_7\text{Si}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 897,63466, найденное значение : 897,63589.

EIDD-2357. К перемешанному раствору соединения **S37** (0,128 г, 0,143 ммоль) в THF (2,85 мл) в атмосфере азота при 0°C добавляли 1 М раствор TBAF в THF (0,499 мл, 0,499 ммоль). Раствор перемешивали при 0°C в течение 5 часов, затем концентрировали посредством ротационного выпаривания. Проводили автоматизированную флэш-хроматографию (колонка 12 г, градиент MeOH в дихлорметане от 0 до 10%) с получением указанного в заголовке соединения (0,059 г, 74%) в виде грязно-белого твердого вещества: ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 10,70 (br s, 1H), 7,47 (d, $J = 8,2$ Гц, 1H), 6,56 (t, $J = 6,2$ Гц, 1H), 5,76 (s, 1H), 5,60 (d, $J = 8,2$ Гц, 1H), 4,32-4,20 (br m, 2H), 4,12-4,02 (br m, 2H), 3,90 (d, $J = 11,7$ Гц, 1H), 1,56 (m, 2H), 1,26 (br s, 30H), 0,89 (t, $J = 7,0$ Гц, 3H); HRMS расщ. для $\text{C}_{28}\text{H}_{51}\text{N}_4\text{O}_7$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 555,37523, найденное значение : 555,37531.

20 Пример 29



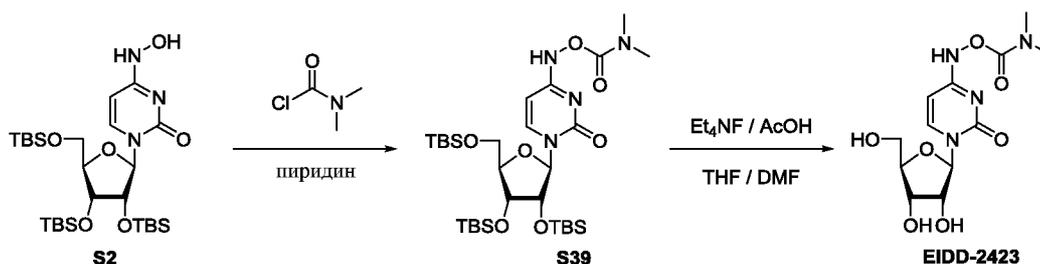
S38. К энергично перемешанной смеси трифосгена (0,297 г, 1,00 ммоль) и бикарбоната натрия (0,370 г, 4,40 ммоль) в ацетонитриле (5 мл) при -15°C по каплям с помощью шприца добавляли примешанный раствор метиламина (2,0 М в THF, 0,600 мл, 1,20 ммоль) и триэтиламина (0,488 мл, 3,50 ммоль). Смесь нагревали до температуры окружающей среды и перемешивали в течение 6 часов. Получали раствор соединения **S2** (0,662 г, 1,10 ммоль) и 4-DMAP (0,024 г, 0,200 ммоль) в ацетонитриле (5 мл) и DCM (5 мл) и к реакционной смеси по каплям с помощью шприца добавляли данный раствор. Всю смесь перемешивали при температуре

окружающей среды в течение 16 ч., разбавляли дихлорметаном (50 мл), промывали нас. водн. раствором NaHCO_3 и соевым раствором (1 x 25 мл каждого), высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали посредством ротационного выпаривания. Неочищенное вещество поглощали с помощью дихлорметана и проводили автоматизированную флэш-хроматографию (колонка 24 г, градиент EtOAc в гексанах от 5 до 35%) с получением соединения **S38** (0,340 г, 52%) в виде белого воскообразного твердого вещества. Анализ ЯМР демонстрировал соотношение ротамеров ~8:1: ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, основной ротамер) δ 10,53 (d, $J = 2,2$ Гц, 1H), 7,30 (d, $J = 8,2$ Гц, 1H), 6,83 (q, $J = 4,9$ Гц, 1H), 5,80 (d, $J = 6,5$ Гц, 1H), 5,67 (dd, $J = 8,3$ Гц, 2,2 Гц, 1H), 4,18 (dd, $J = 6,4$ Гц, 4,3 Гц, 1H), 4,05 (m, 1H), 3,92 (m, 1H), 3,82 (dd, $J = 11,6$ Гц, 4,0 Гц, 1H), 3,70 (dd, $J = 11,5$ Гц, 2,9 Гц, 1H), 2,64 (d, $J = 4,7$ Гц, 3H), 0,91 (s, 9H), 0,89 (s, 9H), 0,83 (s, 9H), 0,10 (s, 6H), 0,09 (s, 3H), 0,08 (s, 3H), 0,02 (s, 3H), -0,03 (s, 3H).

EIDD-2422. К перемешанному раствору соединения **S38** (0,330 г, 0,500 ммоль) в THF (3,75 мл) и DMF (1,25 мл) при 0°C добавляли уксусную кислоту (0,143 мл, 2,50 ммоль), затем добавляли сразу весь фторид тетраэтиламмония (0,359 г, 2,40 ммоль). Смесь нагревали до температуры окружающей среды и перемешивали 24 часа. Смесь концентрировали посредством ротационного выпаривания и неочищенное вещество поглощали с помощью дихлорметана. Проводили автоматизированную флэш-хроматографию (колонка 12 г, градиент MeOH в дихлорметане от 1 до 25%) с получением 80 мг получистого материала. Данный материал поглощали с помощью воды и проводили автоматизированную флэш-хроматографию с обращенной фазой (колонка 30 г, градиент ацетонитрила в воде от 0 до 100%) с получением необходимого продукта, не содержащего примесей. Твердое вещество растворяли в воде, замороженной в бане с сухим льдом/ацетоном, и лиофилизировали с получением указанного в заголовке соединения (0,057 г, 36% выход) в виде белого хлопьеобразного твердого вещества. Анализ ЯМР продемонстрировал соотношение сигналов 13:1 в D_2O и соотношение 8:1 в MeOH- d_4 , указывая на соотношения ротамеров, зависящие от растворителя, одного чистого соединения: ^1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD , основной ротамер) δ 7,45 (d, $J = 8,2$ Гц, 1H), 5,86 (d, $J = 5,1$ Гц, 1H), 5,69 (d, $J = 8,2$ Гц, 1H), 4,16-4,08 (m, 2H), 3,96 (q, $J = 3,2$ Гц, 1H), 3,79 (dd, $J = 12,2$ Гц, 2,8 Гц, 1H), 3,69 (dd, $J = 12,2$ Гц, 3,3 Гц, 1H), 2,79 (s, 3H);

^1H ЯМР (400 МГц, D_2O , основной ротамер) δ 7,27 (d, $J = 8,2$ Гц, 1H), 5,84 (d, $J = 5,4$ Гц, 1H), 5,80 (d, $J = 8,2$ Гц, 1H), 4,28 (t, $J = 5,2$ Гц, 1H), 4,17 (t, $J = 5,2$ Гц, 1H), 4,05 (q, $J = 4,2$ Гц, 1H), 3,82 (dd, $J = 12,8$ Гц, 3,1 Гц, 1H), 3,73 (dd, $J = 12,8$ Гц, 4,6 Гц, 1H), 2,76 (s, 3H); ^{13}C ЯМР (100 МГц, D_2O) δ 157,6, 150,2, 148,8, 134,0, 97,1, 88,4, 84,1, 73,1, 69,7, 61,0, 26,9; LRMS масса/заряд 315,1 [M-H].

Пример 30

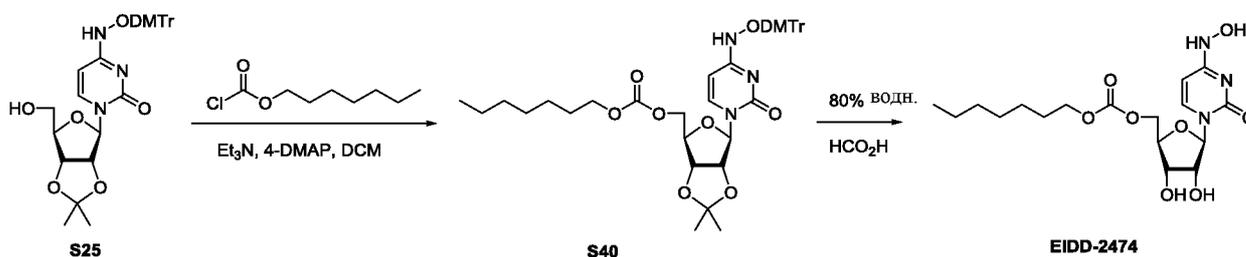


S39. К энергично перемешанному раствору соединения **S2** (1,10 г, 1,82 ммоль) в пиридине (12 мл) в атмосфере азота при 0°C по каплям с помощью шприца в течение 5 минут добавляли диметилкарбамилхлорид (0,184 мл, 2,00 ммоль). Смесь перемешивали при 0°C в течение 4 часов, затем нагревали до температуры окружающей среды и перемешивали еще 16 часов. Добавляли метанол (2 мл), смесь перемешивали в течение дополнительных 15 минут при комнатной температуре, затем концентрировали посредством ротационного выпаривания. Неочищенный продукт поглощали с помощью дихлорметана и проводили автоматизированную флэш-хроматографию (колонка 40 г, градиент EtOAc в гексанах от 5 до 50%) с получением соединения **S39** (1,16 г, 95%) в виде рассыпчатого белого твердого вещества. Анализ ЯМР продемонстрировал соотношение ротамеров $\sim 10:1$: ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$, основной ротамер) δ 10,76 (d, $J = 2,2$ Гц, 1H), 7,28 (d, $J = 8,3$ Гц, 1H), 5,80 (d, $J = 6,3$ Гц, 1H), 5,70 (dd, $J = 8,2$ Гц, 2,2 Гц, 1H), 4,20 (dd, $J = 6,3$ Гц, 4,6 Гц, 1H), 4,05 (dd, $J = 4,3$ Гц, 2,3 Гц, 1H), 3,92 (q, $J = 3,1$ Гц, 1H), 3,83 (dd, $J = 11,5$ Гц, 4,0 Гц, 1H), 3,70 (dd, $J = 11,5$ Гц, 2,8 Гц, 1H), 2,96 (br s, 3H), 2,83 (br s, 3H), 0,91 (s, 9H), 0,89 (s, 9H), 0,83 (s, 9H), 0,10 (s, 6H), 0,09 (s, 3H), 0,08 (s, 3H), 0,02 (s, 3H), -0,01 (s, 3H).

EIDD-2423. К перемешанному раствору соединения **S39** (1,16 г, 1,72 ммоль) в THF (12,9 мл) и DMF (4,3 мл) при 0°C , добавляли уксусную кислоту (0,493 мл, 8,62 ммоль), затем добавляли сразу весь фторид тетраэтиламмония (1,24 г,

8,27 ммоль). Смесь нагревали до температуры окружающей среды и перемешивали 16 часов. Смесь концентрировали посредством ротационного выпаривания и неочищенное вещество поглощали с помощью дихлорметана. Проводили автоматизированную флэш-хроматографию (колонка 80 г, градиент MeOH в дихлорметане от 1 до 15%) с получением 400 мг получистого материала. Данный материал поглощали с помощью воды и проводили автоматизированную флэш-хроматографию с обращенной фазой (колонка 100 г, градиент ацетонитрила в воде от 0 до 100%) с получением необходимого продукта, не содержащего примесей. Твердое вещество растворяли в воде, замороженной в бане с сухим льдом/ацетоном, и лиофилизировали с получением указанного в заголовке соединения (0,200 г, 35% выход) в виде белого хлопьеобразного твердого вещества. Анализ ЯМР продемонстрировал соотношение сигналов 9:1 в D₂O и соотношение 5:1 в MeOH-*d*₄, указывая на соотношения ротамеров, зависящие от растворителя, одного чистого соединения: ¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD, основной ротамер) δ 7,46 (d, *J* = 8,3 Гц, 1H), 5,85 (d, *J* = 4,8 Гц, 1H), 5,72 (d, *J* = 8,2 Гц, 1H), 4,18-4,11 (m, 2H), 3,97 (q, *J* = 3,5 Гц, 1H), 3,80 (dd, *J* = 12,1 Гц, 2,8 Гц, 1H), 3,70 (dd, *J* = 12,2 Гц, 3,2 Гц, 1H), 3,05 (br s, 3H), 2,98 (br s, 3H); ¹H ЯМР (400 МГц, D₂O, основной ротамер) δ 7,27 (d, *J* = 8,3 Гц, 1H), 5,84 (d, *J* = 5,4 Гц, 1H), 5,80 (d, *J* = 8,3 Гц, 1H), 4,28 (t, *J* = 5,4 Гц, 1H), 4,17 (d, *J* = 5,2 Гц, 1H), 4,05 (q, *J* = 4,3 Гц, 1H), 3,82 (dd, *J* = 12,7 Гц, 3,2 Гц, 1H), 3,73 (dd, *J* = 12,7 Гц, 4,5 Гц, 1H), 2,99 (br s, 3H), 2,91 (br s, 3H); ¹³C ЯМР (100 МГц, D₂O) δ 156,2, 150,1, 149,4, 133,9, 97,2, 88,3, 84,1, 73,0, 69,7, 61,0, 36,5, 35,7; LRMS масса/заряд 329,0 [M-H].

Пример 31



S40. Раствор соединения **S25** (0,50 г, 0,83 ммоль) в безводном дихлорметане (5 мл) в круглодонной колбе охлаждали до 0°C в бане со льдом в атмосфере азота и обрабатывали пиридином (0,14 мл, 1,66 ммоль) и DMAP (10 мг, 0,083 ммоль), затем по каплям добавляли гептилхлороформиат (0,165 мл, 0,914 ммоль). Смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 2 ч. После завершения

реакции реакцию смесь разбавляли дихлорметаном (25 мл) и промывали 5% водным раствором хлористоводородной кислоты (25 мл) и водным раствором бикарбоната натрия (25 мл). Органический слой высушивали над Na_2SO_4 и концентрировали посредством ротационного выпаривания с получением соединения

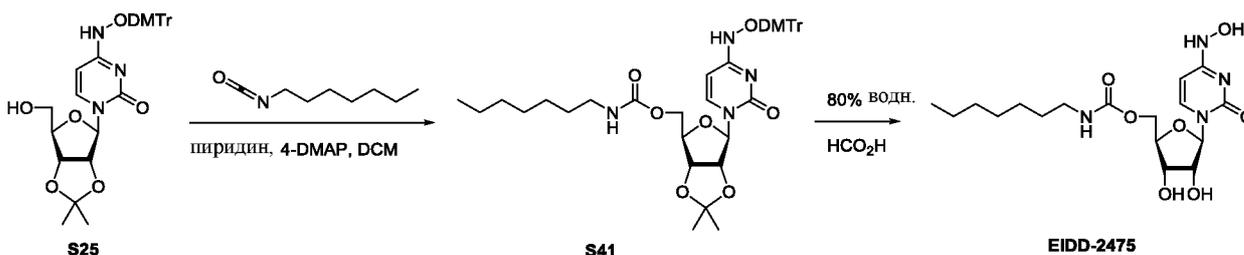
5 **S40**. Неочищенный продукт переносили непосредственно на следующую стадию без дополнительной очистки.

EIDD-2474. Весь неочищенный продукт **S40**, полученный, как описано выше, перемешивали с муравьиной кислотой (10 мл) при комнатной температуре в течение

10 12 ч. Растворитель удаляли посредством ротационного выпаривания и неочищенный продукт очищали посредством колоночной флэш-хроматографии с использованием метанола и дихлорметана с получением указанного в заголовке соединения (0,140 г, 42% в две стадии) в виде бесцветного твердого вещества: ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$) δ 10,05 (s, 1H), 9,61 (s, 1H), 6,85 (d, $J = 8,1$ Гц, 1H), 5,75 (d, $J = 5,8$ Гц, 1H), 5,57 (d, $J = 8,1$ Гц, 1H), 5,42 (d, $J = 5,8$ Гц, 1H), 5,30 (d, $J = 5,0$ Гц, 1H), 4,31 (dd, $J = 11,7$ Гц, 3,2 Гц, 1H), 4,20 (dd, $J = 11,8$ Гц, 5,4 Гц, 1H), 4,14-4,08 (m, 1H), 4,02 (q, $J = 5,7$ Гц, 1H), 3,97-3,90 (m, 2H), 3,10 (m, 1H), 1,61-1,18 (m, 10H), 0,90-0,86 (m, 3H); ^{13}C ЯМР (100 МГц, $\text{DMSO-}d_6$) δ 154,9, 149,9, 143,6, 130,3, 99,2, 87,9, 81,0, 72,1, 70,4, 68,2, 67,8, 45,9, 31,6, 28,5, 25,6, 22,5, 14,4; LRMS масса/заряд 402,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

15

20 Пример 32



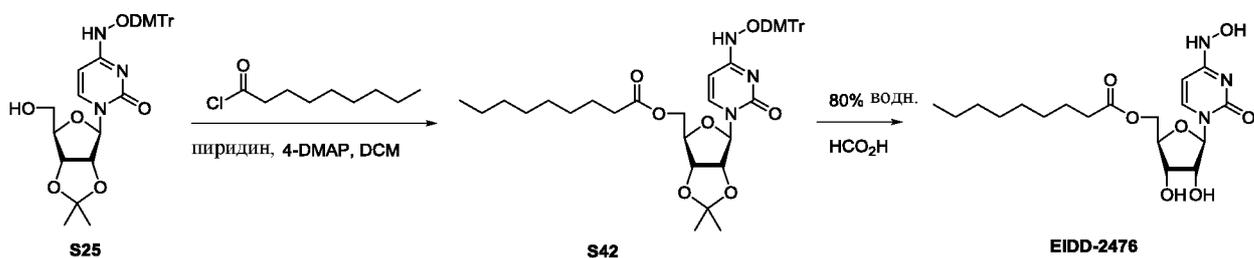
S41. Раствор соединения **S25** (0,40 г, 0,66 ммоль) в безводном дихлорметане (5 мл) в круглодонной колбе объемом 50 мл охлаждали до 0°C в бане со льдом в атмосфере азота и обрабатывали пиридином (0,10 мл, 1,33 ммоль) и DMAP (0,080 г, 0,66 ммоль), затем добавляли гептилизоцианат (0,16 мл, 0,99 ммоль) и перемешивали при 40°C в течение 12 ч. После завершения реакции реакцию смесь разбавляли дихлорметаном (25 мл) и промывали 5% водным раствором хлористоводородной кислоты (25 мл) и водным раствором бикарбоната натрия (25 мл). Органический слой высушивали над Na_2SO_4 и концентрировали посредством ротационного

25

выпаривания с получением неочищенного соединения **S41**. Неочищенный продукт переносили непосредственно на следующую стадию без дополнительной очистки.

EIDD-2475. Все неочищенное соединение **S41**, полученное, как описано выше, перемешивали с муравьиной кислотой (10 мл) при комнатной температуре в течение 12 ч. Растворитель удаляли посредством ротационного выпаривания и неочищенный продукт очищали посредством колоночной флэш-хроматографии с использованием метанола и дихлорметана с получением указанного в заголовке соединения (0,150 г, 56% в 2 стадии) в виде бесцветного твердого вещества: ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$) δ 9,98 (s, 1H), 9,53 (s, 1H), 7,26 (t, $J = 5,5$ Гц, 1H), 6,83 (d, $J = 8,2$ Гц, 1H), 5,71 (d, $J = 6,3$ Гц, 1H), 5,52 (d, $J = 8,2$ Гц, 1H), 4,19-3,77 (m, 5H), 2,94 (q, $J = 6,2$ Гц, 2H), 1,48-1,10 (m, 10H), 0,83 (t, $J = 6,6$ Гц, 3H); ^{13}C ЯМР (101 МГц, $\text{DMSO-}d_6$) δ 156,3, 150,0, 143,7, 130,4, 99,1, 87,4, 81,9, 72,1, 70,6, 64,2, 31,7, 29,9, 28,9, 26,6, 22,5, 14,4; LRMS масса/заряд 401,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

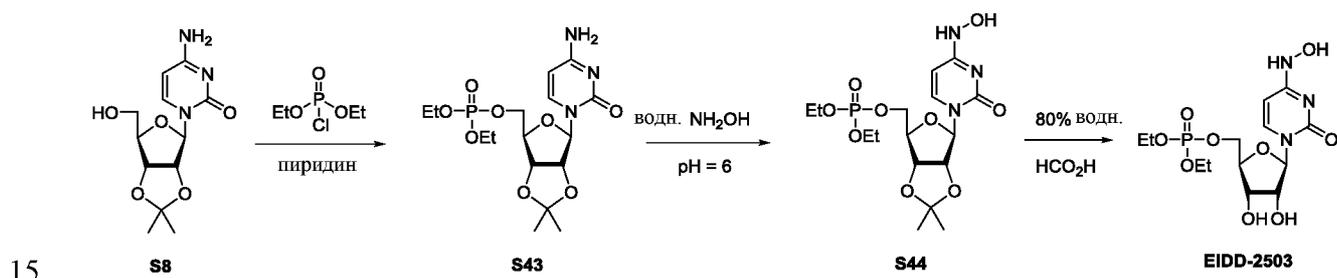
15 Пример 33



S42. Раствор соединения **S25** (0,25 г, 0,41 ммоль) в безводном дихлорметане (5 мл) в круглодонной колбе объемом 50 мл охлаждали до 0°C в бане со льдом в атмосфере азота и обрабатывали пиридином (0,068 мл, 0,83 ммоль) и DMAP (0,073 г, 0,41 ммоль), затем добавляли нонаноилхлорид (0,082 мл, 0,45 ммоль) и перемешивали при 40°C в течение 12 ч. После завершения реакции реакцию смесь разбавляли дихлорметаном (15 мл) и промывали 5% водным раствором хлористоводородной кислоты (20 мл) и водным раствором бикарбоната натрия (20 мл). Органический слой высушивали над Na_2SO_4 и концентрировали посредством ротационного выпаривания с получением неочищенного соединения **S42**. Неочищенный продукт переносили непосредственно на следующую стадию без дополнительной очистки.

EIDD-2476. Все неочищенное соединение **S42**, полученное, как описано выше, перемешивали с муравьиной кислотой (5 мл) при комнатной температуре в течение 12 ч. Растворитель удаляли посредством ротационного выпаривания и неочищенный продукт очищали посредством колоночной флэш-хроматографии с использованием метанола и дихлорметана с получением указанного в заголовке соединения (0,080 г, 54% в 2 стадии) в виде бесцветного твердого вещества: ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$) δ 9,99 (s, 1H), 9,54 (s, 1H), 6,81 (d, $J = 8,3$ Гц, 1H), 5,69 (d, $J = 5,6$ Гц, 1H) (dd, $J = 8,2$ Гц, 1,8 Гц, 1H), 5,35 (d, $J = 5,8$ Гц, 1H), 5,22 (d, $J = 5,1$ Гц, 1H), 4,25-4,02 (m, 2H), 4,03-3,78 (m, 3H), 2,35-2,20 (m, 2H), 1,58-1,42 (m, 2H), 1,22 (m, 10H), 0,83 (t, $J = 3,3$ Гц, 3H); ^{13}C ЯМР (100 МГц, $\text{DMSO-}d_6$) δ 173,2, 149,9, 143,7, 130,3, 99,2, 88,0, 81,1, 72,3, 70,4, 64,3, 33,8, 31,7, 29,1, 29,0, 28,9, 24,9, 22,5, 14,4; LRMS масса/заряд 400,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Пример 34



S43. К перемешанному раствору соединения **S8** (5,87 г, 20,7 ммоль) в пиридине (20 мл) при 0°C в атмосфере азота с помощью шприца по каплям добавляли диэтилфосфорохлоридат (2,99 мл, 20,7 ммоль). Смесь перемешивали при 0°C в течение 30 минут, затем нагревали до температуры окружающей среды и перемешивали дополнительные 30 минут. Смесь повторно охлаждали до 0°C , добавляли MeOH (20 мл), смесь нагревали до температуры окружающей среды и перемешивали 15 минут. Смесь концентрировали посредством ротационного выпаривания и поглощали с помощью дихлорметана. Проводили автоматизированную флэш-хроматографию (колонка 120 г, градиент MeOH в дихлорметане от 1 до 10%) с получением соединения **S43** (4,25 г, 49%) в виде грязно-белого хлопьевидного твердого вещества: ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$) δ 9,28 (br s, 1H), 8,39 (br s, 1H), 7,95 (d, $J = 7,7$ Гц, 1H), 6,04 (d, $J = 7,6$ Гц, 1H), 5,80 (d, $J = 1,7$ Гц, 1H), 5,07 (dd, $J = 6,4$ Гц, 1,7 Гц, 1H), 4,79 (dd, $J = 6,4$ Гц, 3,7 Гц, 1H), 4,30-

20

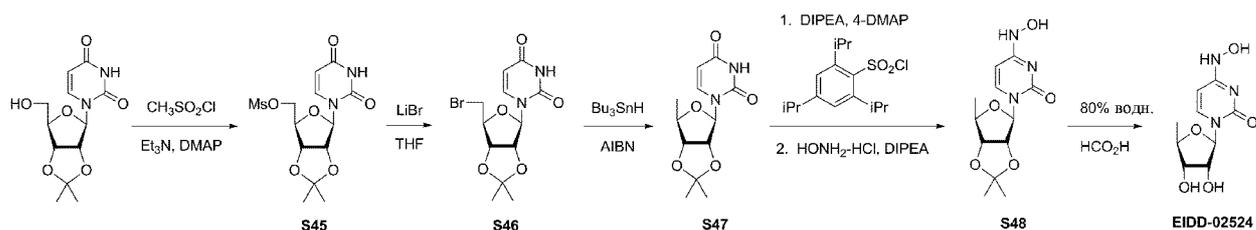
25

4,24 (m, 1H), 4,21-4,07 (m, 2H), 4,01 (dq, $J = 8,2$ Гц, 7,1 Гц, 4H), 1,49 (s, 3H), 1,29 (s, 3H), 1,22 (tq, $J = 7,0$ Гц, 0,8 Гц, 6H); ^{31}P ЯМР (162 МГц, CDCl_3) δ -1,21; LRMS *масса/заряд* 420,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

- 5 **S44.** Получали ~5 н. раствор гидроксиламина гидрохлорида (12,7 г, 182 ммоль) в воде (объем раствора 36,4 мл) и доводили до $\text{pH} = 6$ с помощью небольшого количества водн. раствора NaOH (10% вес/вес). В герметично закрывающуюся пробирку, предназначенную для работы под давлением, помещали данный раствор, соединение **S43** (3,82 г, 9,11 ммоль) и THF (18 мл), пробирку закрывали и смесь
- 10 нагревали при перемешивании при 37°C в течение 5 суток. Смесь охлаждали до комнатной температуры, переносили в круглодонную колбу и концентрировали посредством ротационного выпаривания. Неочищенный материал поглощали с помощью метанола и иммобилизовали на целите. Проводили автоматизированную флэш-хроматографию (колонка 80 г, градиент MeOH в дихлорметане от 0 до 10%) с
- 15 получением соединения **S44** (2,28 г, 58%) в виде белого хлопьевидного твердого вещества: ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8,58 (br s, 1H), 7,72 (br s, 1H), 6,68 (d, $J = 8,2$ Гц, 1H), 5,69 (d, $J = 2,5$ Гц, 1H), 5,63 (dd, $J = 7,8$ Гц, 1,1 Гц, 1H), 4,93 (dd, $J = 6,4$ Гц, 2,4 Гц, 1H), 4,85 (dd, $J = 6,5$ Гц, 3,6 Гц, 1H), 4,30-4,20 (m, 3H), 4,20-4,10 (m, 5H), 1,57 (s, 3H), 1,35 (s, 3H), 1,35 (tdd, $J = 7,0$ Гц, 4,1 Гц, 1,0 Гц, 6H); ^{31}P ЯМР (162 МГц,
- 20 CDCl_3) δ -1,09; LRMS *масса/заряд* 436,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

- EIDD-2503.** Раствор соединения **S44** (0,25 г, 0,57 ммоль) перемешивали с муравьиной кислотой (5 мл) при комнатной температуре в течение 12 ч. в атмосфере азота. После завершения реакции растворитель удаляли посредством ротационного
- 25 выпаривания и неочищенный продукт очищали посредством колоночной флэш-хроматографии с использованием метанола и дихлорметана с получением указанного в заголовке соединения (0,180 г, 79%) в виде бесцветного твердого вещества: ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10,00 (s, 1H), 9,57 (s, 1H), 6,83 (d, $J = 8,2$ Гц, 1H), 5,71 (d, $J = 5,9$ Гц, 1H), 5,54 (dd, $J = 8,2$ Гц, 2,0 Гц, 1H), 5,38 (d, $J = 5,8$ Гц, 1H), 5,24 (d, $J = 4,7$ Гц, 1H), 4,16-3,86 (m, 8H), 1,30-1,15 (m, 5H). ^{13}C ЯМР (100 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 149,9, 143,7, 130,3, 110,0, 99,1, 87,8, 82,0, 72,1, 70,2, 67,2, 63,9, 16,4; ^{31}P ЯМР (162 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ -1,12; LRMS *масса/заряд* 396,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.
- 30

Пример 35



S45. Раствор 2',3'-изопропилиденуридина (4,00 г, 14,0 ммоль) в безводном дихлорметане (50 мл) охлаждали до 0°C в атмосфере азота при перемешивании. К данному раствору добавляли триэтиламин (3,92 мл, 28,1 ммоль) и 4-DMAP (0,172 г, 1,40 ммоль), затем по каплям добавляли метансульфонилхлорид (1,32 мл, 16,9 ммоль). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 2 ч. После завершения реакции смесь гасили колотым льдом и промывали 5% водным раствором хлористоводородной кислоты, водным раствором гидрокарбоната натрия и соевым раствором (1 x 50 мл каждого). Органический слой высушивали над Na₂SO₄ и концентрировали посредством ротационного выпаривания. Неочищенный продукт очищали посредством колоночной флэш-хроматографии с использованием этилацетата и гексана с получением соединения **S45** (3,99 г, 78%) в виде бесцветной пены: ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 9,97 (s, 1H), 7,27 (d, *J* = 8,2 Гц, 1H), 5,74 (d, *J* = 8,0 Гц, 1H), 5,60 (d, *J* = 1,8 Гц, 1H), 5,06 (d, *J* = 8,2 Гц, 1H), 4,88 (dd, *J* = 6,4 Гц, 3,9 Гц, 1H), 4,45 (d, *J* = 5,2 Гц, 2H), 4,37 (m, 1H), 3,03 (s, 3H), 1,54 (s, 3H), 1,34 (s, 3H); LRMS масса/заряд 363,0 [M+H]⁺.

20

S46. К раствору соединения **S45** (3,00 г, 8,28 ммоль) в безводном тетрагидрофуране (60 мл) при комнатной температуре в атмосфере азота добавляли бромид лития (1,44 г, 16,56 ммоль) и реакционную смесь нагревали с обратным холодильником в течение 6 ч. После завершения реакции концентрированный посредством ротационного выпаривания продукт и неочищенный продукт разделяли между дихлорметаном (60 мл) и водой (60 мл). Водный слой удаляли и органический слой промывали соевым раствором (60 мл), высушивали над Na₂SO₄ и концентрировали посредством ротационного выпаривания. Неочищенный продукт очищали посредством колоночной флэш-хроматографии с использованием этилацетата и

25

гексана с получением соединения **S45** (2,30 г, 80%) в виде бесцветного твердого вещества: ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 9,24 (s, 1H), 7,34 (d, $J = 8,2$ Гц, 1H), 5,76 (d, $J = 8,2$ Гц, 1H), 5,66 (d, $J = 2,2$ Гц, 1H), 5,01 (dd, $J = 6,5$ Гц, 2,3 Гц, 1H), 4,88 (dd, $J = 6,5$ Гц, 3,7 Гц, 1H), 4,38 (td, $J = 5,7$ Гц, 3,8 Гц, 1H), 3,68 (dd, $J = 10,6$ Гц, 6,2 Гц, 1H), 3,56 (dd, $J = 10,6$ Гц, 5,2 Гц, 1H), 1,57 (s, 3H), 1,36 (s, 3H); LRMS *масса/заряд* 348,9 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

S47. К суспензии соединения **S46** (2,0 г, 5,76 ммоль) в безводном толуоле (40 мл) при комнатной температуре в атмосфере азота добавляли этанол (5 мл), затем добавляли гидрид трибутиллолова (3,11 мл, 11,52 ммоль) и AIBN (0,94 г, 5,76 ммоль). Реакционную смесь нагревали с обратным холодильником в течение 6 ч. После завершения реакции растворитель удаляли при пониженном давлении и неочищенный продукт растворяли в дихлорметане (50 мл) и фильтровали с помощью вакуум-фильтра через стеклянную фритту. Фильтрат концентрировали посредством ротационного выпаривания и неочищенный продукт очищали посредством колоночной флэш-хроматографии с использованием этилацетата и гексана с получением соединения **S47** (1,10 г, 71%) в виде бесцветной пены: ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 9,81 (s, 1H), 7,26 (d, $J = 8,0$ Гц, 1H), 5,73 (d, $J = 8,0$ Гц, 1H), 5,62 (d, $J = 2,2$ Гц, 1H), 4,94 (dd, $J = 6,5$ Гц, 2,2 Гц, 1H), 4,54 (dd, $J = 6,5$ Гц, 4,6 Гц, 1H), 4,19 (qd, $J = 6,4$ Гц, 4,7 Гц, 1H), 1,54 (s, 3H), 1,37 (d, $J = 6,5$ Гц, 3H), 1,32 (s, 3H). LRMS *масса/заряд* 269,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

S48. Раствор соединения **S47** (1,00 г, 3,73 ммоль) в безводном дихлорметане (30 мл) охлаждали до 0°C в атмосфере азота при перемешивании. К данному раствору добавляли *N,N*-диизопропилэтиламин (3,25 мл, 18,64 ммоль) и 4-DMAP (46 мг, 0,37 ммоль), затем добавляли 2,4,6-триизопропилбензолсульфонилхлорид (1,69 г, 5,59 ммоль). После исчезновения исходного материала добавляли гидроксиламина гидрохлорид (0,648 г, 9,32 ммоль) и смесь перемешивали в течение еще 12 ч. при комнатной температуре. После завершения реакции реакционную смесь разбавляли дихлорметаном (70 мл) и промывали 5% водным раствором хлористоводородной кислоты (100 мл), затем водным раствором гидрокарбоната натрия (100 мл) и соевым раствором (100 мл). Органический слой высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали посредством ротационного выпаривания.

Неочищенный продукт очищали посредством колоночной флэш-хроматографии с использованием этилацетата и гексана с получением соединения **S48** (0,59 г, 55,9%) в виде бесцветного твердого вещества: ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$) δ 10,03 (s, 1H), 9,62 (d, $J = 1,8$ Гц, 1H), 6,85 (d, $J = 8,2$ Гц, 1H), 5,66 (d, $J = 2,8$ Гц, 1H), 5,55 (dd, $J =$
 5 8,1 Гц, 2,1 Гц, 1H), 4,86 (dd, $J = 6,6$ Гц, 2,8 Гц, 1H), 4,47 (dd, $J = 6,5$ Гц, 4,9 Гц, 1H), 3,97-3,84 (m, 1H), 1,44 (s, 3H), 1,30-1,15 (m, 5H); LRMS *масса/заряд* 284,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

EIDD-2524. Раствор соединения **S48** (0,250 г, 0,88 ммоль) перемешивали в муравьиной кислоте (5 мл) при комнатной температуре в течение 12 ч. После
 10 завершения реакции смесь концентрировали посредством ротационного выпаривания и неочищенный продукт очищали посредством колоночной флэш-хроматографии с использованием метанола и дихлорметана с получением указанного в заголовке соединения (0,150 г, 70%) в виде бесцветного твердого
 15 вещества: ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$) δ 9,94 (s, 1H), 9,46 (s, 1H), 6,75 (d, $J = 8,2$ Гц, 1H), 5,59 (d, $J = 5,1$ Гц, 1H), 5,51 (d, $J = 8,2$ Гц, 1H), 5,20 (s, 1H), 4,98 (s, 1H), 3,94 (s, 1H), 3,78-3,65 (m, 1H), 3,59 (dd, $J = 5,5$ Гц, 3,9 Гц, 1H), 1,17 (d, $J = 6,4$ Гц, 3H). ^{13}C ЯМР (100 МГц, $\text{DMSO-}d_6$) δ 149,9, 143,8, 130,8, 99,1, 88,5, 79,0, 74,8, 72,5, 19,3; LRMS *масса/заряд* 244,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Пример 36.

20 **Протоколы анализов**

(1) Скрининговые анализы на DENV, JEV, POWV, WNV, YFV, PTV, RVFV, CHIKV, EEEV, VEEV, WEEV, TCRV, PCV, JUNV, MPRLV

Первичный анализ в отношении снижения цитопатического эффекта (CPE).

Проводили анализы с четырьмя концентрациями в отношении подавления CPE.
 25 Получали конфлюэнтные или близкие к конфлюэнтным монослои культуры клеток в 96-луночных одноразовых планшетах. Клетки поддерживали в MEM или DMEM, дополненной FBS, при необходимости для каждой клеточной линии. Для противовирусных анализов использовали ту же среду, но с количеством FBS, сниженным до 2% или меньше, и дополненную 50 мкг/мл гентамицина. Тестовое
 30 соединение получали с четырьмя конечными \log_{10} концентрациями, как правило составляющими 0,1, 1,0, 10 и 100 мкг/мл или мкМ. Контрольные лунки с вирусом и контрольные лунки с клетками присутствовали на каждом микропланшете.

Одновременно, известное активное лекарственное средство тестировали в качестве лекарственного средства положительного контроля с применением того же способа, который применяли для тестовых соединений. Положительный контроль тестировали при каждом тестовом опыте. Анализ начинали сперва с удаления

5 ростовой среды из 96-луночных планшетов для клеток. Затем тестовое соединение вносили в объеме, составляющем 0,1 мл, в лунки при 2X концентрации. Вирус, как правило при <100 50% инфекционных дозах культуры клеток (CCID₅₀) в объеме, составляющем 0,1 мл, помещали в те лунки, которые отведены для вирусной инфекции. Среду свободную от вируса помещали в контрольные лунки для

10 определения токсичности и контрольные лунки с клетками. Контрольные лунки с вирусом аналогично обрабатывали с использованием вируса. Планшеты инкубировали при 37°C с 5% CO₂ до тех пор, пока не наблюдали максимальный CPE в контрольных лунках с вирусом. Планшеты затем окрашивали 0,011% нейтральным красным на протяжении примерно двух часов при 37°C в инкубаторе с 5% CO₂.

15 Среду, содержащую нейтральный краситель, удаляли посредством отсасывания в полной степени и клетки могли промывать 1X раствором с фосфатным буфером (PBS) для удаления остаточного красителя. PBS полностью удаляли и включенный нейтральный краситель элюировали смесью 50% цитратного буфера Серенсена/50% этанола (pH 4,2) в течение по меньшей мере 30 минут. Краситель нейтральный

20 краситель проникает в живые клетки, таким образом, чем больше интенсивность красного цвета, тем большее количество жизнеспособных клеток находится в лунках. Содержание красителя в каждой лунке количественно определяли с использованием 96-луночного спектрофотометра при длине волны, составляющей 540 нм. Содержание красителя в каждом наборе лунок преобразовывали в

25 процентное содержание красителя, присутствующего в необработанных контрольных лунках с использованием компьютерной электронной таблицы Microsoft Excel. Эффективные для 50% (EC₅₀, вирусингибирующие) концентрации и цитотоксические для 50% (CC₅₀, ингибирующие клетки) концентрации затем рассчитывали с помощью линейного регрессионного анализа. При делении

30 коэффициента CC₅₀ на EC₅₀ получали значение индекса селективности (SI).

Вторичный анализ в отношении CPE/снижения урожая вируса (VYR).

Данный анализ включает методику, подобную той, которая описана в предыдущих абзацах, с использованием 96-луночных микропланшетов для клеток. Различия

отмечены в данном разделе. Восемь полу- \log_{10} концентраций ингибитора тестировали на противовирусную активность и цитотоксичность. После того, как происходила достаточная репликация вируса, образец супернатанта отбирали из каждой инфицированной лунки (три репликационные лунки объединены) и сохраняли для фазы VYR данного теста, при необходимости. Поочередно, может быть подготовлен отдельный планшет и планшет может быть заморожен для анализа в отношении VYR. После регистрирования максимального CPE жизнеспособные планшеты окрашивали с помощью красителя нейтрального красного. Содержание включенного красителя количественно определяли, как описано выше. Данные, накопленные за эту фазу теста, представляли собой значения EC_{50} , CC_{50} и SI по нейтральному красному. Соединения, которые ранее отмечали как активные, далее оценивали посредством анализа в отношении VYR. Тест в отношении VYR представляет собой прямое определение того, насколько тестовое соединение ингибирует репликацию вируса. Определяли титр вируса, который реплицировался в присутствии тестового соединения, и его сравнивали с вирусом из необработанных инфицированных контролей. Титрование объединенных вирусных образцов (собранных, как описано выше) выполняли при помощи титрования в конечной точке. Это выполняли посредством титрования \log_{10} -разведений вируса с использованием 3 или 4 микролунок на разведение на свежих монослоях клеток при помощи титрования в конечной точке. Лунки оценивали в отношении присутствия или отсутствия вируса после того, как наблюдали CPE (измеренный по поглощению нейтрального красного). Построение графика на основании \log_{10} концентрации ингибитора в зависимости от \log_{10} вируса, полученных при каждой концентрации, позволяет рассчитать эффективную для 90% (один \log_{10}) концентрацию посредством линейной регрессии. Путем деления EC_{90} на CC_{50} , полученной в части 1 анализа, получают значение SI для данного теста.

Пример 37.

(2) Скрининговые анализы в отношении вируса лихорадки Ласса (LASV)

Первичный анализ в отношении вируса лихорадки Ласса. Получали конфлюэнтные или близкие к конфлюэнтным монослои культуры клеток в 12-луночных одноразовых планшетах для культуры клеток. Клетки поддерживали в DMEM, дополненной 10% FBS. Для противовирусных анализов использовали ту же среду, но с количеством FBS, сниженным до 2% или меньше, и дополненную 1%

пенициллина/стрептомицина. Тестовое соединение получали с четырьмя конечными \log_{10} концентрациями, как правило составляющими 0,1, 1,0, 10 и 100 мкг/мл или мкМ. Контроль с вирусом и контроль с клетками проводили параллельно с каждым тестируемым соединением. Также, известное активное лекарственное средство

5 тестировали в качестве лекарственного средства положительного контроля с использованием такой же постановки эксперимента, как описанная для контроля с вирусом и клетками. Положительный контроль тестировали при каждом тестовом опыте. Анализ начинали сперва с удаления ростовой среды из 12-луночных планшетов для клеток и инфицирования клеток при 0,01 MOI штамма Josiah LASV.

10 Клетки инкубировали в течение 90 мин: 500 мкл инокулята/лунку M12, при 37°C, 5% CO₂ с постоянным плавным покачиванием. Инокуляты удаляли и клетки промывали 2X средой. Затем тестовое соединение вносили в объеме, составляющем 1 мл от общего объема сред. Супернатант культуры ткани (TCS) собирали в подходящие моменты времени. TCS затем будут использовать для определения ингибирующего

15 эффекта соединений на репликацию вируса. Определяли титр вируса, который реплицировался в присутствии тестового соединения, и его сравнивали с вирусом из необработанных инфицированных контролей. Для титрования TCS получали серийные десятикратные разведения и их использовали для инфицирования свежих монослоев клеток. Клетки покрывали 1% агарозой, смешанной в соотношении 1:1 с

20 2X MEM, дополненной 10% FBS и 1% пенициллина, и определяли количество бляшек. Построение графика на основании \log_{10} концентрации ингибитора в зависимости от \log_{10} вируса, полученных при каждой концентрации, позволяет рассчитать эффективную для 90% (один \log_{10}) концентрацию посредством линейной регрессии.

25 *Вторичный анализ в отношении вируса лихорадки Ласса.* Вторичный анализ включает методику, подобную той, которая описана в предыдущих абзацах, с использованием 12-луночных микропланшетов для клеток. Различия отмечены в данном разделе. Клетки были инфицированы, как описано выше, но на этот раз их покрывали 1% агарозой, разбавленной в соотношении 1:1 2X MEM, и дополненной

30 2% FBS и 1% смесью пенициллина/стрептомицина, и дополненной соответствующей концентрацией лекарственного средства. Клетки инкубировали при 37°C с 5% CO₂ в течение 6 суток. Покрывающий слой затем удаляли и планшеты окрашивали 0,05% кристаллическим фиолетовым в 10% буферном формалине на протяжении примерно

двадцати минут при комнатной температуре. Планшеты затем промывали, сушили и подсчитывали количество бляшек. Количество бляшек в каждом варианте разведения соединения преобразовывали в процентное содержание относительно необработанного контроля с вирусом. Эффективные для 50% (EC50, вирусингибирующие) концентрации затем рассчитывали посредством линейного регрессионного анализ.

Пример 38.

(3) Скрининговые анализы в отношении вируса Эбола (EBOV) и вируса Нипах (NIV)

10 *Первичный анализ в отношении вирусов Эбола/Нипах.* Проводили анализы с четырьмя концентрациями в отношении уменьшения бляшек. Получали конфлюэнтные или близкие к конфлюэнтным монослои культуры клеток в 12-луночных одноразовых планшетах для культуры клеток. Клетки поддерживали в DMEM, дополненной 10% FBS. Для противовирусных анализов использовали ту же
15 среду, но с количеством FBS, сниженным до 2% или меньше, и дополненную 1% пенициллина/стрептомицина. Тестовое соединение получали с четырьмя конечными \log_{10} концентрациями, как правило составляющими 0,1, 1,0, 10 и 100 мкг/мл или мкМ. Контроль с вирусом и контроль с клетками проводили параллельно с каждым тестируемым соединением. Также, известное активное лекарственное средство
20 тестировали в качестве лекарственного средства положительного контроля с использованием такой же постановки эксперимента, как описанная для контроля с вирусом и клетками. Положительный контроль тестировали при каждом тестовом опыте. Анализ начинали сперва с удаления ростовой среды из 12-луночных планшетов для клеток. Затем тестовое соединение вносили в объеме, составляющем
25 0,1 мл, в лунки при 2X концентрации. Вирус, как правило, при примерно 200 бляшообразующих единицах в объеме, составляющем 0,1 мл, помещали в те лунки, которые отведены для вирусной инфекции. Среду свободную от вируса помещали в контрольные лунки для определения токсичности и контрольные лунки с клетками. Контрольные лунки с вирусом аналогично обрабатывали с использованием вируса.
30 Планшеты инкубировали при 37°C с 5% CO₂ в течение одного часа. Инокуляты вирус-соединение удаляли, клетки промывали и покрывали 1,6% трагакантом, разбавленным в соотношении 1:1 2X MEM, и дополненным 2% FBS и 1% пенициллина/стрептомицина, и дополненным соответствующей концентрацией

лекарственного средства. Клетки инкубировали при 37°C с 5% CO₂ в течение 10 суток. Покрывающий слой затем удаляли и планшеты окрашивали 0,05% кристаллическим фиолетовым в 10% буферном формалине на протяжении примерно двадцати минут при комнатной температуре. Планшеты затем промывали, сушили и

5 подсчитывали количество бляшек. Количество бляшек в каждом варианте разведения соединения преобразовывали в процентное содержание относительно необработанного контроля с вирусом. Эффективные для 50% (EC₅₀, вирусингибирующие) концентрации затем рассчитывают посредством линейного регрессионного анализ.

10 *Вторичный анализ в отношении вируса Эбола/Нипах с компонентом VYR.*
Вторичный анализ включает методику, подобную той, которая описана в предыдущих абзацах, с использованием 12-луночных микропланшетов для клеток. Различия отмечены в данном разделе. Восемь полу-log₁₀ концентраций ингибитора тестировали на противовирусную активность. Одно лекарственное средство,

15 представляющее собой положительный контроль, тестировали на партию оцениваемых соединений. Для данного анализа клетки инфицировали вирусом. Клетки были инфицированы, как описано выше, но на этот раз их инкубировали с DMEM, дополненной 2% FBS и 1% пенициллина/стрептомицина и дополненной соответствующей концентрацией лекарственного средства. Клетки инкубировали в

20 течение 10 суток при 37°C с 5% CO₂, ежедневно рассматривали под микроскопом в отношении числа зеленых флуоресцентных клеток. Аликвоты супернатанта из инфицированных клеток отбирали ежедневно и три репликационные лунки объединяли. Объединенные супернатанты затем использовали для определения ингибирующего эффекта соединений на репликацию вируса. Определяли титр

25 вируса, который реплицировался в присутствии тестового соединения, и его сравнивали с вирусом из необработанных инфицированных контролей. Для титрования объединенных вирусных образцов получали серийные десятикратные разведения и их использовали для инфицирования свежих монослоев клеток. Клетки покрывали трагакантом и определяли количество бляшек. Построение графика на

30 основании log₁₀ концентрации ингибитора в зависимости от log₁₀ вируса, полученных при каждой концентрации, позволяет рассчитать эффективную для 90% (один log₁₀) концентрацию посредством линейной регрессии.

Пример 39.

Анализ антивирусной цитопротекции в отношении вируса денге

Получение клеток - клетки ВНК21 (клетки почки золотистого сирийского хомячка, № по каталогу ATCC CCL-I 0), клетки Веро (клетки почки африканской зеленой мартышки, № по каталогу ATCC CCL-81) или клетки Huh-7 (карцинома гепатоцитов человека) пассировали в DMEM, дополненной 10% FBS, 2 mM L-глутамина, 100 ед./мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина, во флаконах T-75 перед использованием в антивирусном анализе. В день, предшествующий анализу, клетки разделяли в соотношении 1:2, чтобы убедиться, что они находились в фазе экспоненциального роста во время инфицирования. Количественное определение общего количества клеток и жизнеспособности проводили с использованием гемоцитометра и исключения красителя трипанового синего. Жизнеспособность клеток была выше 95% для клеток, использованных в анализе. Клетки ресуспендировали в количестве, составляющем 3×10^3 (5×10^5 для клеток Веро и клеток Huh-7) клеток на лунку в среде для культуры ткани, и добавляли в плоскодонные микротитрационные планшеты в объеме, составляющем 100 мкл. Планшеты инкубировали при $37^{\circ}\text{C}/5\%\text{CO}_2$ в течение ночи для обеспечения клеточной адгезии. Отмечали, что монослои были примерно на 70% конфлюэнтными.

Получение вируса - штамм C New Guinea вируса денге 2 типа получали из ATCC (№ по каталогу - VR-1584) и выращивали в клетках LLC-MK2 (клетки почки макака-резус; № по каталогу - CCL-7.1) для получения основных вирусных пулов. Аликвоту вируса, предварительно титрованного в клетках ВНК21, вынимали из морозильной камеры (-80°C) и давали медленно нагреться до комнатной температуры в боксе биологической безопасности. Вирус ресуспендировали и разбавляли в среде для анализа (DMEM, дополненной 2% инактивированной теплом FBS, 2 mM L-глутамина, 100 ед./мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина) так, что количество вируса, добавленное в каждую лунку, в объеме, составляющем 100 мкл, было количеством, определенным, как такое, которое обеспечивает уничтожение от 85 до 95% клеток на 6 сутки после инфицирования.

Формат планшета - каждый планшет содержит контрольные лунки с клетками (только клетки), контрольные лунки с вирусом (клетки плюс вирус), лунки для определения токсичности лекарственного средства на соединение в трех повторностях (только клетки плюс лекарственное средство), а также

экспериментальные лунки в трех повторностях (лекарственное средство плюс клетки плюс вирус).

Эффективность и токсичность ХТТ - после инкубации при 37°C в инкубаторе с 5% CO₂ тестовые планшеты окрашивали тетразолиевым красителем ХТТ (2,3-бис(2-метокси-4-нитро-5-сульфопенил)-5-[(фениламино)карбонил]-2Н-тетразолия гидроксидом). ХТТ-тетразолий метаболизируется митохондриальными ферментами метаболически активных клеток до растворимого формазанового продукта, что позволяет провести быстрый количественный анализ ингибирования тестовыми антивирусными веществами уничтожения клеток, вызванного вирусом. Раствор ХТТ получали ежедневно в виде исходного раствора в концентрации 1 мг/мл в RPMI 1640. Раствор феназинметосульфата (PMS) получали с концентрацией 0,15 мг/мл в PBS и хранили в темноте при -20°C. Исходный раствор ХТТ/PMS получали непосредственно перед использованием путем добавления 40 мкл PMS на мл раствора ХТТ. Пятьдесят микролитров смеси ХТТ/PMS добавляли в каждую лунку планшета и планшет повторно инкубировали в течение 4 часов при 37°C. Планшеты герметизировали адгезивными герметиками для планшетов, и осторожно встряхивали или переворачивали несколько раз, чтобы смешать растворимый формазановый продукт, и считывали планшеты спектрофотометрически при 450/650 нм с помощью планшет-ридера Molecular Devices Vmax.

Анализ данных - необработанные данные, собирали с помощью программного обеспечения Softmax Pro 4.6 и импортировали в электронную таблицу Microsoft Excel для анализа. Процентное снижение вирусного цитопатического эффекта по сравнению с необработанным контролем с вирусом рассчитывали для каждого соединения. Для каждого соединения рассчитывали процентное значение контроля с клетками, сравнивая неинфицированные клетки, обработанные лекарственным средством, с неинфицированными клетками только в среде.

Пример 40.

Анализ антивирусной цитопротекции в отношении RSV

Получение клеток - клетки HEp2 (эпителиальные клетки человека, № по каталогу ATCC - CCL-23) пассировали в DMEM, дополненной 10% FBS, 2 mM L-глутамина, 100 ед./мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина, 1 mM пирувата натрия и 0,1 mM NEAA, во флаконах T-75 перед использованием в антивирусном

анализе. В день, предшествующий анализу, клетки разделяли в соотношении 1:2, чтобы убедиться, что они находились в фазе экспоненциального роста во время инфицирования. Количественное определение общего количества клеток и жизнеспособности проводили с использованием гемоцитометра и исключения красителя трипанового синего. Жизнеспособность клеток была выше 95% для 5 клеток, использованных в анализе. Клетки ресуспендировали в количестве, составляющем 1×10^4 клеток на лунку в среде для культуры ткани, и добавляли в плоскодонные микротитрационные планшеты в объеме, составляющем 100 мкл. Планшеты инкубировали при 37°C/5% CO₂ в течение ночи для обеспечения 10 клеточной адгезии. Получение вируса - штамм Long RSV и штамм 9320 RSV получали из ATCC (№ по каталогу VR-26 и № по каталогу VR-955 соответственно) и выращивали в клетках HEp2 для получения основных вирусных пулов. Предварительно титрованную аликвоту вируса вынимали из морозильной камеры (-80°C) и давали медленно нагреться до комнатной температуры в боксе 15 биологической безопасности. Вирус ресуспендировали и разбавляли в среде для анализа (DMEM, дополненной 2% инактивированной теплом FBS, 2 мМ L-глутамина, 100 ед./мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина, 1 мМ пирувата натрия и 0,1 мМ NEAA) так, что количество вируса, добавленное в каждую лунку, в объеме, составляющем 100 мкл, было количеством, определенным как такое, 20 которое обеспечивает уничтожение от 85 до 95% клеток на 6 сутки после инфицирования. Эффективность и токсичность ХТТ - планшеты окрашивали и анализировали, как описано ранее, для анализа цитопротекции в отношении вируса денге.

Пример 41.

25 Анализ антивирусной цитопротекции в отношении вируса гриппа

Получение клеток - клетки МОСК (клетки почки собаки, № по каталогу ATCC - CCL-34) пассировали в DMEM, дополненной 10% FBS, 2 мМ L-глутамина, 100 ед./мл пенициллина 100 мкг/мл стрептомицина, 1 мМ пирувата натрия и 0,1 мМ NEAA, во флаконах T-75 перед использованием в антивирусном анализе. В день, 30 предшествующий анализу, клетки разделяли в соотношении 1:2, чтобы убедиться, что они находились в фазе экспоненциального роста во время инфицирования. Количественное определение общего количества клеток и жизнеспособности проводили с использованием гемоцитометра и исключения красителя трипанового

синего. Жизнеспособность клеток была выше 95% для клеток, использованных в анализе. Клетки ресуспендировали в количестве, составляющем 1×10^4 клеток на лунку в среде для культуры ткани, и добавляли в плоскодонные микротитрационные планшеты в объеме, составляющем 100 мкл. Планшеты инкубировали при 37°C/5% CO₂ в течение ночи для обеспечения клеточной адгезии.

Получение вируса - штаммы A/PR/8/34 (ATCC №VR-95), A/CA/05/09 (CDC), A/NY/18/09 (CDC) и A/NWS/33 (ATCC №VR-219) вируса гриппа получали из ATCC или из Центра контроля заболеваний и выращивали в клетках MDCK для получения основных вирусных пулов. Предварительно титрованную аликвоту вируса вынимали из морозильной камеры (-80°C) и давали медленно нагреться до комнатной температуры в боксе биологической безопасности. Вирус ресуспендировали и разбавляли в среде для анализа (DMEM, дополненной 0,5% BSA, 2 мМ L-глутамин, 100 ед./мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина, 1 мМ пирувата натрия, 0,1 мМ NEAA и 1 мкг/мл трипсина, обработанного ТРСК) так, что количество вируса, добавленное в каждую лунку, в объеме, составляющем 100 мкл, было количеством, определенным как такое, которое обеспечивает уничтожение от 85 до 95% клеток на 4 сутки после инфицирования. Эффективность и токсичность ХТТ - планшеты окрашивали и анализировали, как описано ранее, для анализа цитопротекции в отношении вируса денге.

20 **Пример 42.**

Антивирусный анализ в отношении вируса гепатита С

Культура клеток - репортерную линию клеток Huh-luc/neo-ET получили от доктора Ральфа Бартеншлагера (Dr. Ralf Bartenschlager) (отделение молекулярной биологии, Институт гигиены, Университет Хайдельберга, Германия) посредством ImQuest BioSciences по специальному лицензионному соглашению. Данная линия клеток несет постоянно реплицирующийся репликон I₃₈₉luc-ubi-neo/NS3-3'/ET, содержащий ген белка слияния люцифераза светлячка-убиквитин-неомицинофосфотрансфераза и управляемые IRES EMCV кодирующие последовательности NS3-5B HCV, содержащие адаптивные мутации культуры ткани ET (E1202G, T12081 и K1846T). Исходную культуру Huh-luc/neo-ET расширяли культурой в DMEM, дополненной 10% FCS, 2 мМ глутамин, пенициллином (100 мкед./мл)/стрептомицином (100 мкг/мл) и 1X заменимыми аминокислотами плюс 1 мг/мл G418. Клетки разделяли в соотношении 1:4 и культивировали на

протяжении двух пассажей в той же среде плюс 250 мкг/мл G418. Клетки обрабатывали трипсином, и подсчитывали посредством окрашивания трипановым синим, и высевали в 96-луночные планшеты для культуры ткани при плотности культуры клеток $7,5 \times 10^3$ клеток на лунку, и инкубировали при 37°C 5% CO₂ в течение 24 часов. После 24-часовой инкубации, среды удаляли и заменяли такими же средами без G418 плюс тестовые соединения в трех повторностях. В шесть лунок в каждом планшете добавили только среды в качестве необработанного контроля. Клетки инкубировали в течение дополнительных 72 часов при 37°C 5%CO₂, затем измеряли активность против HCV по люциферазной конечной точке. Дубликаты планшето

5
10

Жизнеспособность клеток - монослои культуры клеток из обработанных клеток окрашивали тетразолиевым красителем ХТТ для оценки жизнеспособности клеток репортерной линия клеток Nuh-luc/neo-ET в присутствии соединений.

Измерение репликации вируса - репликация HCV в системе анализа репликаона измеряли по активности люциферазы с использованием набора люменисценции репортерного гена britelite plus, в соответствии с инструкциями производителя (Perkin Elmer, Шелтон, Коннектикут). Вкратце, один флакон лиофилизированного субстрата britelite plus растворяли в 10 мл восстановительного буфера britelite и осторожно смешивали посредством переворачивания. По прошествии 5 минут инкубации при комнатной температуре, добавляли реагент britelite plus в 96-луночные планшеты в количестве 100 мкл на лунку. Планшеты герметизировали клейкой пленкой и инкубировали при комнатной температуре в течение примерно 10 минут для лизиса клеток. Содержимое лунок переносили в белый 96-луночный планшет и измеряли уровень люминесценции в течение 15 минут с использованием жидкостного сцинтилляционного счетчика Wallac 1450Microbeta Trilux. Данные импортировали в специализированную электронную таблицу Microsoft Excel 2007 для определения концентрации для 50% ингибирования вируса (EC₅₀).

15
20
25

30 **Пример 43.**

Анализ антивирусной цитопротекции в отношении вируса парагриппа-3

Получение клеток - клетки HEp2 (эпителиальные клетки человека, № по каталогу ATCC - CCL-23) пассировали в DMEM, дополненной 10% FBS, 2 mM L-

глутамин, 100 ед./мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина, 1 мМ пирувата натрия и 0,1 мМ NEAA, во флаконах Т-75 перед использованием в антивирусном анализе. В день, предшествующий анализу, клетки разделяли в соотношении 1:2, чтобы убедиться, что они находились в фазе экспоненциального роста во время инфицирования. Количественное определение общего количества клеток и жизнеспособности проводили с использованием гемоцитометра и исключения красителя трипанового синего. Жизнеспособность клеток была выше 95% для клеток, использованных в анализе. Клетки ресуспендировали в количестве, составляющем 1×10^4 клеток на лунку в среде для культуры ткани, и добавляли в плоскодонные микротитрационные планшеты в объеме, составляющем 100 мкл. Планшеты инкубировали при 37°C/5% CO₂ в течение ночи для обеспечения клеточной адгезии.

Получение вируса - штамм SF4 вируса парагриппа 3 типа получили из ATCC (№ по каталогу VR-281) и выращивали в клетках HEp2 для получения основных вирусных пулов. Предварительно титрованную аликвоту вируса вынимали из морозильной камеры (-80°C) и давали медленно нагреться до комнатной температуры в боксе биологической безопасности. Вирус ресуспендировали и разбавляли в среде для анализа (DMEM, дополненной 2% инактивированной теплом FBS, 2 мМ L-глутамин, 100 ед./мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина) так, что количество вируса, добавленное в каждую лунку, в объеме, составляющем 100 мкл, было количеством, определенным, как такое, которое обеспечивает уничтожение от 85 до 95% клеток на 6 сутки после инфицирования.

Формат планшета - каждый планшет содержит контрольные лунки с клетками (только клетки), контрольные лунки с вирусом (клетки плюс вирус), лунки для определения токсичности лекарственного средства на соединение в трех повторностях (только клетки плюс лекарственное средство), а также экспериментальные лунки в трех повторностях (лекарственное средство плюс клетки плюс вирус). Эффективность и токсичность ХТТ - после инкубации при 37°C в инкубаторе с 5% CO₂ тестовые планшеты окрашивали тетразолиевым красителем ХТТ (2,3-бис(2-метокси-4-нитро-5-сульфопенил)-5-[(фениламино)карбонил]-2Н-тетразола гидроксидом). ХТТ-тетразолий метаболизируется митохондриальными ферментами метаболически активных клеток до растворимого формазанового продукта, что позволяет провести быстрый количественный анализ ингибирования

тестовыми антивирусными веществами уничтожения клеток, вызванного вирусом. Раствор ХТТ получали ежедневно в виде исходного раствора в концентрации 1 мг/мл в RPMI1640. Раствор феназинметосульфата (PMS) получали с концентрацией 0,15 мг/мл в PBS и хранили в темноте при 20°C. Исходный раствор ХТТ/PMS получали непосредственно перед использованием путем добавления 40 мкл PMS на мл раствора ХТТ. Пятьдесят микролитров смеси ХТТ/PMS добавляли в каждую лунку планшета и планшет повторно инкубировали в течение 4 часов при 37°C. Планшеты герметизировали адгезивными герметиками для планшетов, и осторожно встряхивали или переворачивали несколько раз, чтобы смешать растворимый формазановый продукт, и считывали планшеты спектрофотометрически при 450/650 нм с помощью планшет-ридера Molecular Devices Vmax.

Анализ данных - необработанные данные, собирали с помощью программного обеспечения Softmax Pro 4.6 и импортировали в электронную таблицу Microsoft Excel для анализа. Процентное снижение вирусного цитопатического эффекта по сравнению с необработанным контролем с вирусом рассчитывали для каждого соединения. Для каждого соединения рассчитывали процентное значение контроля с клетками, сравнивая неинфицированные клетки, обработанные лекарственным средством, с неинфицированными клетками только в среде.

20 **Пример 44.**

Анализ в отношении ингибирования полимеразы вируса гриппа

Получение вируса - очищенный вирус гриппа A/PR/8/34 (1 мл) получили из Advanced Biotechnologies, Inc. (Колумбия, Мэриленд), давали оттаять и распределяли на пять аликвот для хранения при -80°C до использования. В день начала анализа 20 мкл 2,5% Triton N-101 добавляли к 180 мкл очищенного вируса. Разрушенный вирус разбавляли в соотношении 1:2 в растворе, содержащем 0,25% Triton и PBS. Разрушение позволило получить источник рибонуклеопротеина (RNP) вируса гриппа, содержащий РНК-зависимую РНК-полимеразу и матричную РНК вируса гриппа. Образец хранили на льду до использования в анализе.

30 Полимеразная реакция - каждые 50 мкл смеси для полимеразной реакции содержали следующее: 5 мкл разрушенного RNP, 100 мМ Трис-НСl (рН 8,0), 100 мМ КСl, 5 мМ MgCl₂, 1 мМ дитиотреитола, 0,25% Triton N-101, 5 мкКи [α -³²P] GTP, 100 мкМ АТР, 50 мкМ каждого (СТР, УТР), 1 мкМ GTP и 200 мкМ аденил (3'-5')

гуанозина. Для тестирования ингибитора реакционные смеси содержали ингибитор и то же самое было сделано в отношении реакционных смесей, содержащих положительный контроль (2'-дезоксидезокси-2'-фторгуанозин-5'-трифосфат). Другие контроли включали RNP + реакционная смесь и RNP + 1% DMSO. Реакционную смесь без ApG-праймера и NTP инкубировали при 30°C в течение 20 минут. После того, как ApG и NTP добавляли к реакционной смеси, образцы инкубировали при 30°C в течение 1 часа, после чего затем незамедлительно переносили на фильтровальные пластины из стекловолокна и далее проводили осаждение 10% трихлоруксусной кислотой (TCA). Пластины затем промывали пять раз 5% TCA, после чего один раз промывали 95% этанолом. После того, как фильтр высохал, включение [α - 32 P] GTP измеряли с использованием жидкостного сцинтилляционного счетчика (Micro beta).

Формат планшета - каждый тестовый планшет содержал образцы трех соединений в трех повторностях (6 концентраций) в дополнение к трем повторностям образцов RNP + реакционная смесь (только RNP), RNP + 1% DMSO и только реакционная смесь (без RNP).

Анализ данных - необработанные данные собирали со сцинтилляционного счетчика Micro Beta. Включение радиоактивного GTP прямо коррелирует с уровнями активности полимеразы. "Процентные значения ингибирования" получали делением среднего значения каждого тестового соединения на контроль с RNP + 1% DMSO. Среднее значение, полученное при каждой концентрации 2DFGTP, сравнивали с контролем с RNP + реакционная смесь. Данные затем импортировали в электронную таблицу Microsoft Excel для расчета значений IC₅₀ посредством линейного регрессионного анализа.

25 **Пример 45.**

Анализ в отношении ингибирования полимеразы HCV

Активность соединений в отношении ингибирования полимеразы HCV оценивали с использованием описанных ранее способов (Lam *et al.* 2010. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 54(8):3187-3196). Анализы полимеразы NS5B HCV проводили в объемах, составляющих 20 мкл, в 96-луночных реакционных планшетах. Каждая реакционная смесь содержала 40 нг/мкл очищенной рекомбинантной полимеразы NS5B Δ 22 генотипа-1b, 20 нг/мкл комплементарной

IRES-матрицы HCV генотипа-1b, 1 мкМ каждого из четырех естественных рибонуклеотидов, 1 ед./мл ингибитора РНКазы Optizyme (Promega, Мэдисон, Висконсин), 1 мМ MgCl₂, 0,75 мМ MnCl₂ и 2 мМ дитиотреитола (DTT) в 50 мМ буфера HEPES (pH 7,5). Реакционные смеси составляли на льду в два шага. Шаг 1

5 заключался в объединении всех компонентов реакции, кроме естественных нуклеотидов и меченого UTP, в полимеразную реакцию смесь. Десять микролитров (10 мкл) полимеразной смеси распределили в отдельные лунки 96-луночного реакционного планшета на льду. Смеси для полимеразной реакции без полимеразы NS5B включали в качестве безферментных контролей. Серийные

10 полулогарифмические разведения тестовых и контрольных соединений, 2'-О-метил-СТР и 2'-О-метил-GTP (Trilink, Сан-Диего, Калифорния), получали в воде и 5 мкл серийно разведенных соединений или исключительно в воде (контроль без соединения) добавляли в лунки содержащие полимеразную смесь. Пять микролитров смеси нуклеотидов (естественные нуклеотиды и меченая UTP) затем

15 добавляли в лунки реакционного планшета и планшет инкубировали при 27°C в течение 30 минут. Реакции гасили добавлением 80 мкл стоп-раствора (12,5 мМ EDTA, 2,25 М NaCl и 225 мМ цитрата натрия) и наносили РНК-продукты на мембрану Hybond-N+ (GE Healthcare, Пискатауэй, Нью-Джерси) под вакуумметрическим давлением с использованием устройства для дот-блоттинга. Мембрану удаляли из

20 устройства для дот-блоттинга и промывали четыре раза 4X SSC (0,6 М NaCl и 60 мМ цитрата натрия) и затем промывали один раз водой и один раз 100% этанолом. Мембрану сушили на воздухе, и направляли на нее флуоресцирующий экран, и получали изображение с использованием Typhoon 8600 Phospho imager. После получения изображения, мембрану помещали в кассету Micro beta вместе со

25 сцинтилляционной жидкостью и СРМ в каждой реакционной смеси подсчитывали на Micro beta 1450. Данные СРМ импортировали в специализированную электронную таблицу Excel для определения IC₅₀ соединений.

Пример 46.

Условия РНК-зависимой РНК-полимеразной реакции NS5B

30 Соединения анализировали в отношении ингибирования NS5B- δ 21 из Con-1 HCV GT-1b. Реакционные смеси включали очищенный рекомбинантный фермент, 1 ед./мкл матрицы РНК отрицательной цепи IRES HCV и 1 мкМ NTP-субстратов, включая либо [³²P]-СТР, либо [³²P]-УТР. Планшеты для анализа инкубировали при

27°C в течение 1 часа перед гашением. Включение [³²P] в макромолекулярный продукт оценивали путем связывания на фильтрах.

Пример 47.

5 Анализ в отношении ингибирования ДНК-полимеразы человека

ДНК-полимераза альфа (№ по каталогу - 1075), бета (№ по каталогу - 1077) и гамма (№ по каталогу - 1076) человека приобретали в CHIMERx (Мэдисон, Висконсин). Ингибирование активности ДНК-полимеразы бета и гамма оценивали в микротитровальных планшетах в 50 мкл реакционной смеси, содержащей 50 мМ

10 Трис-НСl (рН 8,7), КСl (10 мМ для бета и 100 мМ для гамма), 10 мМ MgCl₂, 0,4 мг/мл BSA, 1 мМ DTT, 15% глицерина, 0,05 мМ dCTP, dTTP и dATP, 10 мкКи [³²P]-альфа-dGTP (800 Ки/ммоль), 20 мкг активированной ДНК тимуса теленка и тестовое соединение при указанных концентрациях. Реакционная смесь ДНК-полимеразы альфа в объеме, составляющем 50 мкл, на образец представляла собой

15 следующее: 20 мМ Трис-НСl (рН 8), 5 мМ ацетата магния, 0,3 мг/мл BSA, 1 мМ DTT, 0,1 мМ спермина, 0,05 мМ dCTP, dTTP и dATP, 10 мкКи [³²P]-альфа-dGTP (800 Ки/ммоль), 20 мкг активированной ДНК тимуса теленка и тестовое соединение при указанных концентрациях. Для каждого анализа ферментативным реакциям позволяли протекать в течение 30 минут при 37°C, после чего переносили на

20 фильтровальные пластины из стекловолокна и далее проводили осаждение 10% трихлоруксусной кислотой (ТСА). Пластины затем промывали 5% ТСА, после чего один раз промывали 95% этанолом. Когда фильтр высыхал, поглощение радиоактивности измеряли с использованием жидкостного сцинтилляционного счетчика (Microbeta).

25 Пример 48.

Анализ ВИЧ-инфицированных РВМС

Свежие человеческие мононуклеарные клетки периферической крови (РВМС) человека получали из коммерческого источника (Biological Specialty) и их определяли как серонегативные к ВИЧ и HBV. В зависимости от объема полученной

30 донорской крови, после лейкофереза клетки крови несколько раз промывали PBS. После промывания, кровь после лейкофереза разбавляли в соотношении 1:1 фосфатно-буферным солевым раствором (PBS) Дульбекко и помещали слоем над 15 мл градиента плотности Ficoll-Нураque в 50 мл конической центрифужной

пробирке. Данные пробирки центрифугировали в течение 30 мин. при 600 g. Разделенные на полосы РВМС осторожно отсасывали с полученной поверхности раздела и три раза промывали PBS. После окончательного промывания количество клеток определяли с помощью исключения красителя трипанового синего и клетки ресуспендировали в количестве, составляющем 1×10^6 клеток/мл в RPMI 1640 с 15% фетальной бычьей сыворотки (FBS), 2 ммоль/л L-глутамин, 2 мкг/мл РНА-Р, 100 ед./мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина, и обеспечивали возможность инкубации в течение 48-72 часов при 37°C. После инкубации РВМС центрифугировали и ресуспендировали в среде для культуры ткани. Культуры поддерживали до использования посредством замены половинных объемов культуры свежей содержащей IL-2 средой для культуры ткани каждые 3 суток. Анализы инициировали с помощью РВМС по прошествии 72 часов после стимуляции РНА-Р.

Для сведения к минимуму эффектов, вызванных вариабельностью доноров, РВМС, использованные для анализа, представляли собой смесь клеток, полученных от 3 доноров. Непосредственно перед использованием целевые клетки ресуспендировали в свежей среде для культуры ткани в количестве, составляющем 1×10^6 клеток/мл, и помещали во внутренние лунки 96-луночного круглодонного микротитровального планшета в концентрации, составляющей 50 мкл/лунку. Затем 100 мкл среды, содержащей соединение, в концентрации 2X переносили в 96-луночный планшет, содержащий клетки в 50 мкл среды. AZT использовали в качестве внутреннего стандарта анализа.

После добавления тестового соединения в лунки, добавляли 50 мкл заранее определенного разведения раствора вируса ВИЧ (полученного из 4X конечной целевой внутрилуночной концентрации) и хорошо перемешивали. Для инфицирования, 50-150 TCID₅₀ каждого вируса добавляли на лунку (итоговая МОI, составляющая примерно 0,002). РВМС подвергали воздействию вируса в трех повторностях и культивировали в присутствии или отсутствии тестового материала при меняющихся концентрациях, как описано выше, в 96-луночных микротитровальных планшетах. По прошествии 7 суток в культуре, репликацию ВИЧ-1 количественно определяли в супернатанте культуры ткани посредством измерения активности обратной транскриптазы (RT). Лунки только с клетками и вирусом служили в качестве контроля с вирусом. Отдельные планшеты идентично

подготавливали без вируса для исследований цитотоксичности лекарственного средства.

Анализ активности обратной транскриптазы – активность обратной транскриптазы измеряли в бесклеточных супернатантах с использованием стандартного полимеризационного анализа радиоактивного поглощения. Насыщенный тритием тимидин трифосфат (ТТР; New England Nuclear) приобретали в концентрации 1 Ки/мл и 1 мкл использовали на ферментативную реакцию. Исходный раствор гAdТ получали путем смешивания 0,5 мг/мл поли гА и 1,7 ед./мл олиго dТ в дистиллированной воде и хранили при -20°C. Реакционный буфер при RT ежедневно готовили свежим, и он состоял из 125 мкл 1 моль/л EGTA, 125 мкл dH₂O, 125 мкл 20% Triton X-100, 50 мкл 1 моль/л Трис (pH 7,4), 50 мкл 1 моль/л DTT и 40 мкл 1 моль/л MgCl₂. Для каждой реакции смешивали 1 мкл ТТР, 4 мкл dH₂O, 2,5 мкл гAdТ и 2,5 мкл реакционного буфера. Десять микролитров данной реакционной смеси помещали в круглодонный микротитровальный планшет, и добавляли 15 мкл содержащего вирус супернатанта, и смешивали. Планшет инкубировали при 37°C в увлажненном инкубаторе в течение 90 минут. После инкубации 10 мкл реакционного объема наносили в виде точек на плоский фильтр DEAE в планшете подходящего формата, промывали 5 раз (5 минут каждый) в 5% натрий-фосфатном буфере, 2 раза (1 минуту каждый) в дистиллированной воде, 2 раза (1 минуту каждый) в 70% этаноле и затем сушили на воздухе. Высушенный плоский фильтр помещали в пластиковый рукав и добавляли 4 мл Opti-Fluor O в рукав. Поглощенную радиоактивность количественно определяли используя жидкостной сцинтилляционный счетчик Wallac 1450 Microbeta Trilux.

Пример 49

25 HBV

Клетки HepG2.2.15 (100 мкл) в среде RPMI1640 с 10% фетальной бычьей сыворотки добавляли во все лунки 96-луночного планшета при плотности 1×10^4 клеток на лунку и планшет инкубировали при 37°C в атмосфере 5% CO₂ в течение 24 часов. После инкубации шесть десятикратных серийных разведений тестового соединения, полученных в среде RPMI1640 с 10% фетальной бычьей сыворотки, добавляли в отдельные лунки планшета в трех повторностях. В шесть лунок в планшете добавляли исключительно среду в качестве исключительно вирусного контроля. Планшет инкубировали в течение 6 дней при 37°C в атмосфере 5% CO₂.

Культуральную среду заменяли на 3 сутки средой, имеющей указанную концентрацию каждого соединения. Сто микролитров супернатанта собирали из каждой лунки для анализа вирусной ДНК посредством qPCR и оценивали цитотоксичность с помощью ХТТ-окраски монослоя культуры клеток на шестые 5 сутки.

Десять микролитров супернатанта культуры клеток, собранного на шестые сутки, разводили в qPCR-буфере для разведения (40 мкг/мл порезанной на фрагменты ДНК из молок лососевых) и кипятили в течение 15 минут. Количественный анализ ПЦР в реальном времени проводили в 386-луночных 10 планшетах с использованием секвенатора Applied Biosystems 7900HT и вспомогательного программного обеспечения SDS 2.4. Пять микролитров (5 мкл) кипяченой ДНК для каждого образца и серийные 10-кратные разведения количественного ДНК-стандарта подвергали Q-PCR-анализу в реальном времени с использованием Platinum Quantitative PCR SuperMix-UDG (Invitrogen) и 15 специфических ДНК олигонуклеотидных праймеров (IDT, Coralville, ID) HBV-AD38-qF1 (5'-CCG TCT GTG CCT TCT CAT CTG-3'), HBV-AD38-qR1 (5'-AGT CCA AGA GTY CTC TTA TRY AAG ACC TT-3') и HBV-AD38-qP1 (5'-FAM CCG TGT GCA /ZEN/CTT CGC TTC ACC TCT GC-3'ВНQ1) при конечной концентрации 0,2 мкМ для каждого праймера в общем реакционном объеме 15 мкл. Число копий 20 ДНК HBV в каждом образце интерполировали из стандартной кривой с помощью программного обеспечения SDS.24 и данные импортировали в электронную таблицу Excel для анализа.

Цитотоксическую концентрацию 50% для тестируемых материалов получали посредством измерения снижения количества тетразолиевого красителя ХТТ в 25 обработанных планшетах с культурой ткани. ХТТ метаболизируется митохондриальным ферментом NADPH-оксидазой до растворимого формазанового продукта в метаболически активных клетках. Раствор ХТТ готовили ежедневно в виде исходного раствора 1 мг/мл в PBS. Исходный раствор феназинметосульфата (PMS) готовили при концентрации 0,15 мг/мл в PBS и хранили в темноте при -20°C. 30 Раствор ХТТ/PMS готовили непосредственно перед использованием посредством добавления 40 мкл PMS на 1 мл раствора ХТТ. Пятьдесят микролитров ХТТ/PMS добавляли в каждую лунку планшета и планшет инкубировали в течение 2-4 часов при 37°C. Было эмпирически определено, что инкубация в течение 2-4 часов прямо

пропорциональна снижению количества красителя ХТТ с указанным числом клеток для каждого анализа. Адгезивные герметики для планшетов использовали вместо крышек, герметизированный планшет переворачивали несколько раз для смешивания растворимого формазанового продукта и планшет считывали при 5 450 нм (650 нм опорная длина волны) с помощью спектрофотометра SpectraMax Plus 384 от Molecular Devices. Данные собирали с помощью программного обеспечения Softmax 4.6 и импортировали в электронную таблицу Excel для анализа.

Пример 50

Условия зависимой от РНК денге РНК-полимеразной реакции

10 РНК-полимеразный анализ проводили при 30°C с использованием 100 мкл реакционной смеси в пробирке объемом 1,5 мл. Условия заключительной реакции представляли собой 50 mM Hepes (pH 7,0), 2 mM DTT, 1 mM MnCl₂, 10 mM KCl, 100 nM UTR-Poly A (самоотжигающийся праймер), 10 мкМ UTP, 26 нМ фермента RdRp. Реакционную смесь с различными соединениями (ингибиторами) 15 инкубировали при 30°C в течение 1 часа. Для оценки количества пирофосфата, образовавшегося в ходе полимеразной реакции, 30 мкл смеси для полимеразной реакции смешивали с ферментативной реакционной смесью (70 мкл), содержащей люциферазу. Условия заключительной реакции для люциферазной реакции представляли собой 5 mM MgCl₂, 50 mM трис-HCl (pH 7,5), 150 mM NaCl, 200 мкЕд 20 АТФ-сульфуриказы, 5 мкМ APS, 10 нМ люциферазы, 100 мкМ D-люциферина. Белые планшеты, содержащие реакционные образцы (100 мкл) сразу переносили в люминометр Veritas (Turner Biosystems, CA) для обнаружения светового сигнала.

Пример 51

Процедура инкубации клеток и анализ

25 Клетки Huh-7 высевали при $0,5 \times 10^6$ клеток/лунка в 1 мл полной среды в обработанные культурой ткани 12-луночные планшеты. Обеспечивали адгезию клеток в течение ночи при 37°/5% CO₂. Подготавливали 40 мкМ исходный раствор тестируемого препарата в 100% DMSO. Из 40 мкМ исходного раствора получали 20 мкМ раствор тестируемого препарата в 25 мл полной среды DMEM. Для 30 обработки соединением среду отсасывали из лунок и добавляли 1 мл 20 мкМ раствора в полной среде DMEM в соответствующие лунки. Также подготавливали отдельный планшет с клетками "без" добавления соединения. Планшеты инкубировали при 37°/5% CO₂ в течение следующих промежутков времени: 1, 3, 6 и

24 часа. После инкубации в необходимые моменты времени клетки промывали дважды с помощью 1 мл DPBS. Клетки извлекали посредством добавления 500 мкл раствора 70% метанол/30% вода с добавлением внутреннего стандарта в каждую лунку, обработанную тестируемым препаратом. Необработанный холостой планшет экстрагировали с помощью 500 мкл раствора 70% метанол/30% вода на лунку. Образцы центрифугировали при 16000 об./мин. в течение 10 минут при 4°C. Образцы анализировали с помощью LC-MS/MS с использованием системы ABSCIEX 5500 QTRAP LC-MS/MS с колонкой Hypercarb (PGC).

10 Пример 52

Процедура проведения фармакокинетического эксперимента на грызунах

Мышей DBA-1J (возраст 6-8 недель, самки) акклимировали в течение ≥ 2 дней после поступления. Мышей взвешивали за день до введения дозы, чтобы рассчитать объемы доз. Мышам принудительно перорально вводили дозу лекарственного средства при 30 мг/кг, 100 мг/кг и 300 мг/кг. Мышей исследовали в 8 моментах времени: 0,5, 1, 2, 3, 4, 8 и 24 часа (3 мыши в каждый момент времени для тестирования лекарственного средства). Мышей усыпляли и собирали их органы (см. ниже). Чтобы собрать кровь, мышей усыпляли с помощью CO₂ в соответствующие моменты времени, перечисленные выше. Кровь получали посредством сердечной пункции (0,3 мл) в каждый момент времени. После сбора крови из мышей извлекали органы (см. ниже). Кровь обрабатывали, плавно переворачивая Li-гепариновую пробирку с кровью 2 или 3 раза для хорошего перемешивания. Пробирки затем помещали в штатив в воду со льдом до готовности к центрифугированию (≤ 1 часа). Как только было целесообразно, кровь центрифугировали при $\sim 2000 \times g$ в течение 10 мин. в охлаждаемой центрифуге с получением плазмы. Затем с использованием 200 мкл пипетки плазму переносили в помеченные 1,5 мл пробирки типа эппендорф в воде со льдом. Плазму затем замораживали в морозильной камере или на сухом льду. Образцы хранили при -80°C до проведения анализа. Органы собирали у усыпленных мышей. Органы (легкие, печень, почку, селезенку и сердце) извлекали, помещали в пробирку и сразу замораживали в жидком азоте. Пробирки затем переносили на сухой лед. Образцы сохраняли в криогенных флаконах для тканей. Образцы анализировали с помощью

LC-MS/MS с использованием системы ABSCIEX 5500 QTRAP LC-MS/MS с колонкой Hypercarb (PGC).

Параметры фармакокинетики

- 5
 - T_{\max} после перорального введения доз составляет 0,25–0,5 ч.
 - C_{\max} представляют собой 3,0, 7,7 и 11,7 нг/мл после перорального введения доз при 30, 100 и 300 мг/кг.
 - Биодоступность (по сравнению с внутривенным введением) составляет 65% при 30 мг/кг и 39-46% при 100 и 300 мг/кг при пероральном введении
- 10
 - $T_{1/2}$ EIDD-1931 в плазме составляет 2,2 ч. после внутривенного введения и 4,1-4,7 ч. после перорального введения доз.
 - После перорального введения дозы 300 мг/кг уровни в плазме в плазме через 24 ч. составляют ~0,4 мкМ; ~0,1 мкМ после введения дозы 100 мг/кг.

15

Пример 53

Протокол для мышинной модели заражения чикунгунья

Мышам C57BL-6J вводили 100 БОЕ СНК-вируса в подушечку стопы. Тестируемые группы состояли из неинфицированной и необработанной группы, инфицированной и необработанной группы, инфицированной группы, получившей высокую дозу соединения EIDD-01931, составляющую 35 мг/кг внутривенно, и инфицированной группы, получившей низкую дозу соединения EIDD-01931, составляющую 25 мг/кг внутривенно. Две тестируемые группы, получавшие соединение EIDD-01931, получали соединение за 12 часов до заражения и затем

20 и необработанной группы, инфицированной группы, получившей высокую дозу соединения EIDD-01931, составляющую 35 мг/кг внутривенно, и инфицированной группы, получившей низкую дозу соединения EIDD-01931, составляющую 25 мг/кг внутривенно. Две тестируемые группы, получавшие соединение EIDD-01931, получали соединение за 12 часов до заражения и затем

25 ежесуточно в течение 7 суток. Подушечки стоп оценивали на предмет воспаления (толщина лапы) ежесуточно в течение 7 суток. Артрит, индуцированный СНК-вирусом (гистология), оценивали в голеностопных суставах с использованием ПЦР через 7 суток.

30 Пример 54

N(4)-гидроксицитидин для профилактики и лечения альфавирусных инфекций

Тестирование активности инфекции на моделях цитопатического эффекта (CPE) с клетками Веро показало, что рибонуклеозидный аналог N(4)-

гидроксицитидина (EIDD-01931) обладает активностью против вируса реки Росс и вирусов EEE, WEE, VEE и CHIK при значениях EC50, составляющих соответственно 2,45 мкМ, 1,08 мкМ, 1,36 мкМ, 1,00 мкМ и 1,28 мкМ. Профиль цитотоксичности соединения является приемлемым, при этом показатели селективности находятся в диапазоне от низкого 8 в СЕМ-клетках до высокого 232 в Huh7-клетках (печень).

Пример 55

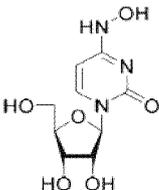
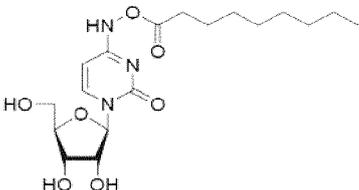
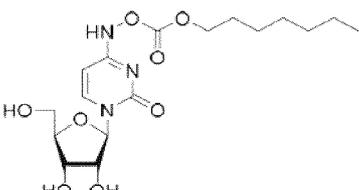
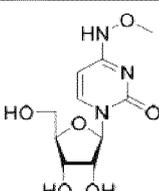
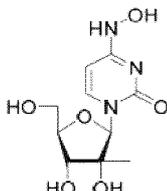
Учитывая, что высокие титры VEE-вируса могут развиваться в головном мозге в течение нескольких часов после воздействия аэрозоля, подходящим является антивирусное средство прямого действия, если оно может быстро обеспечить терапевтические уровни лекарственного средства в головном мозге. Предварительное исследование фармакокинетики проводили на самцах крыс SD, которым принудительно перорально вводили дозы соединения EIDD-01931, составляющие 5 и 50 мг/кг, для определения параметров фармакокинетики и профиля тканевого распределения соединения в ключевые системы органов, включая головной мозг. Соединение EIDD-01931 является перорально-доступным и соответствует дозе с рассчитанной биодоступностью (%F), составляющей 28%. Образцы органов (головного мозга, легкого, селезенки, почки и печени) собирали по прошествии 2,5 и 24 часов после введения дозы из группы, получавшей дозу 50 мг/кг. Соединение EIDD-01931 хорошо распределялось во все тестируемые ткани; при этом стоит отдельно отметить, что оно хорошо распределялось в ткани головного мозга при терапевтических уровнях лекарственного средства на основании оценочных показателей из данных о клетках. Находясь в головном мозгу, соединение EIDD-01931 быстро метаболизировалось до своей активной 5'-трифосфатной формы с получением уровней концентрации в головном мозге 526 и 135 нг/г по прошествии соответственно 2,5 и 24 часов. Даже по прошествии 24 часов уровни соединения EIDD-01931 и его 5'-трифосфата в головном мозге являются значительными, из чего можно заключить, что однократное ежедневное пероральное введение дозы может быть достаточным для лечения.

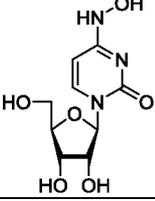
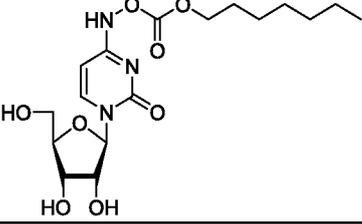
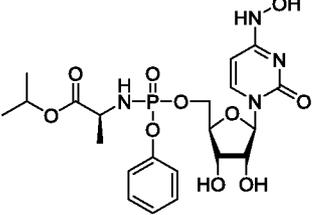
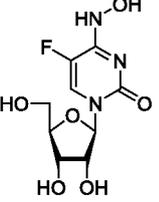
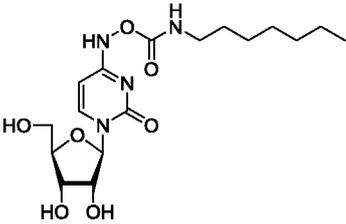
В качестве альтернативы, доставка лекарственного средства посредством введения аэрозоля (назального спрея) может сразу обеспечить терапевтические уровни лекарственного средства в слизистой оболочке носа и в головном мозге. Соединение EIDD-01931 характеризуется приемлемым токсикологическим

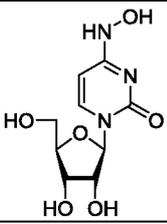
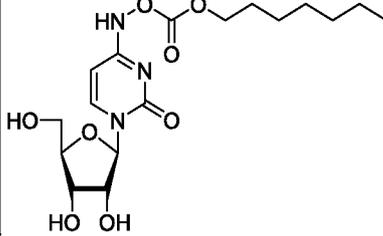
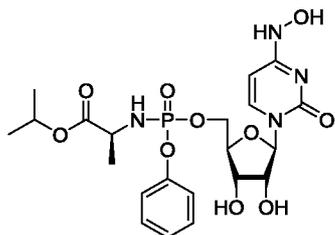
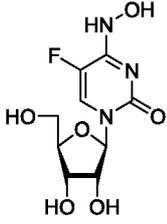
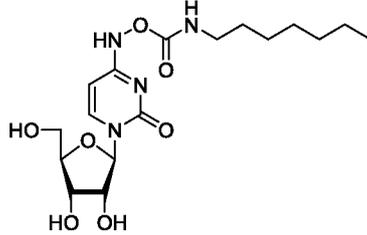
профилем через 6 суток ежедневных внутривенных (IP) инъекций у мышей при уровне NOEL (уровень, не оказывающий отрицательных эффектов), составляющем 33 мг/кг; потеря веса наблюдалась при самой высокой тестируемой дозе (100 мг/кг), при этом процесс потери веса обращался при прекращении введения доз.

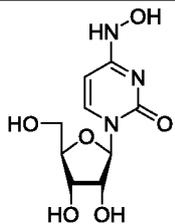
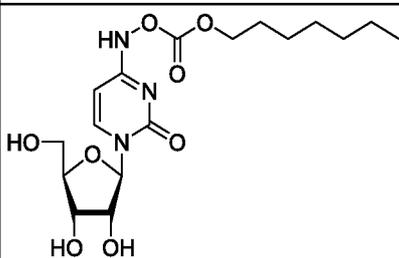
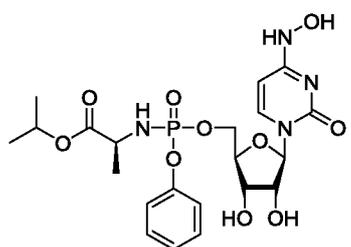
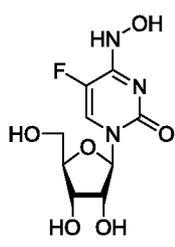
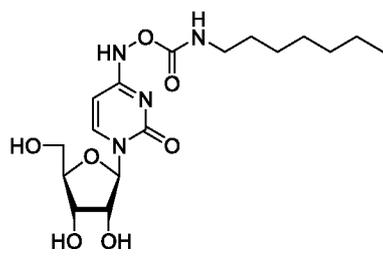
Пример 56

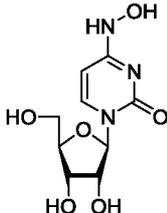
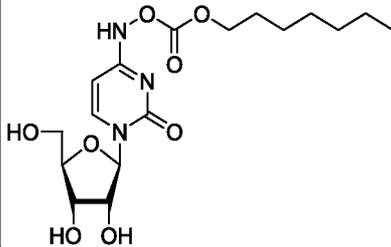
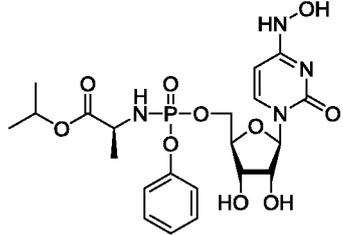
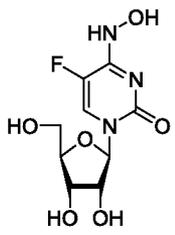
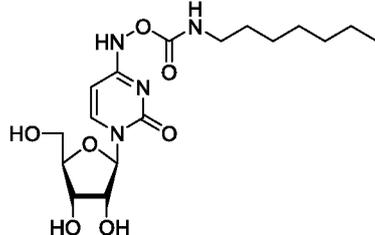
Некоторые производные соединения EIDD-01931 продемонстрировали антивирусную активность во время скрининга против различных вирусов. Данные по активности продемонстрированы в таблицах ниже.

Структура	Норовирус			SARS-коронавирус		
	GT1			Urbani		
	HG23			Vero 76		
	EC50 (мкг/мл)	CC50 (мкг/мл)	SI50	EC50 (мкг/мл)	CC50 (мкг/мл)	SI50
	> 100	> 100	-	<0,1	36	>360
				0,19	36	190
				0,28	>100	>360
				>100	>100	-
	> 100	> 100	-	>100	>100	-

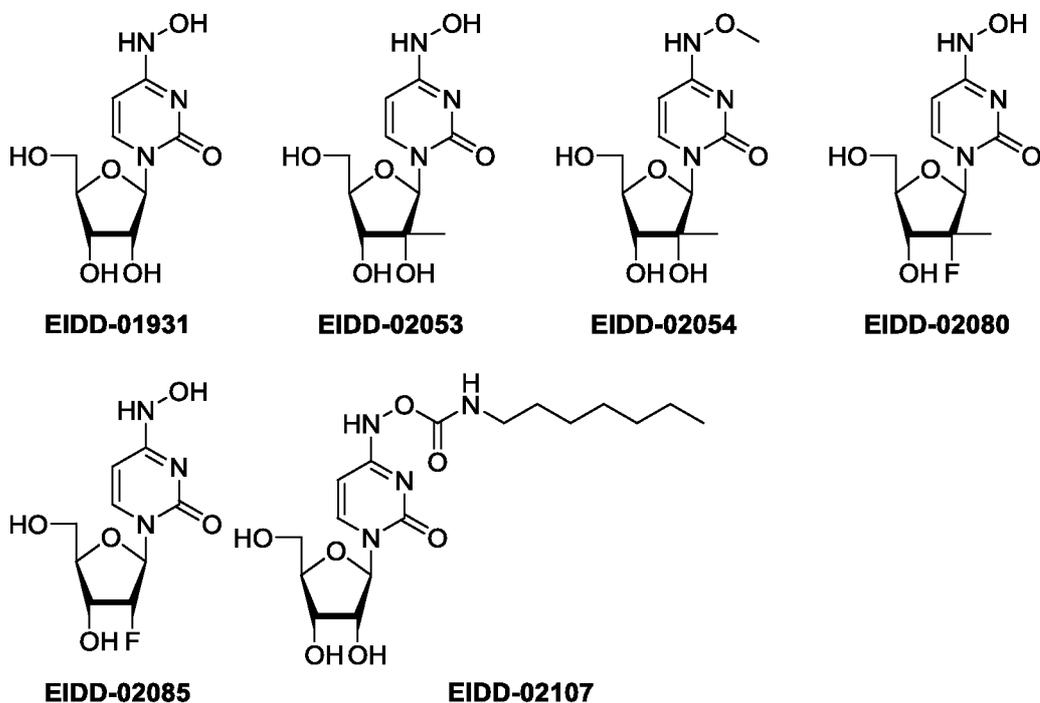
Вirus Чикунгуња				
(MOI0,5)				
Линия клеток U2OS				
Структура	Инг. вируса 10 мкМ	Инг. вируса 50 мкМ	Жизнеспо способность клеток 10 мкМ	Жизнеспо способность клеток 50 мкМ
	80% ± 15% (n = 4)	100% ± 0% (n = 4)	97% ± 5% (n = 4)	79% ± 10% (n = 4)
	72% ± 14% (n = 4)	98% ± 1% (n = 4)	93% ± 4% (n = 4)	78% ± 8% (n = 4)
	3% ± 2% (n = 4)	36% ± 21% (n = 4)	99% ± 6% (n = 4)	99% ± 8% (n = 4)
	8% ± 3% (n = 4)	51% ± 11% (n = 4)	81% ± 4% (n = 4)	53% ± 2% (n = 4)
	14% ± 11% (n = 4)	70% ± 20% (n = 4)	105% ± 2% (n = 4)	96% ± 11% (n = 4)

Структура	VEEV				
	(MOI 0,025)				
	HeLa				
EC ₅₀ (мкМ)	Инг. вируса 10 мкМ	Инг. вируса 50 мкМ	Жизнеспос обность клеток 10 мкМ	Жизнеспос обность клеток 50 мкМ	
	1,24	100% ± 0% (n = 4)	100% ± 0% (n = 4)	116% ± 24% (n = 4)	61% ± 8% (n = 4)
	0,57	100% ± 0% (n = 4)	100% ± 0% (n = 4)	116% ± 20% (n = 4)	85% ± 8% (n = 4)
	16,20	73% ± 10% (n = 4)	100% ± 0% (n = 4)	137% ± 16% (n = 4)	134% ± 16% (n = 4)
	н. д.	61% ± 14% (n = 4)	98% ± 1% (n = 4)	55% ± 4% (n = 4)	36% ± 2% (n = 4)
	6,00	93% ± 3% (n = 4)	100% ± 0% (n = 4)	151% ± 16% (n = 4)	126% ± 7% (n = 4)

	VEEV			
	(MOI 0,003 ;)			
	Астроциты			
Структура	Инг. вируса 10 мкМ	Инг. вируса 50 мкМ	Жизнеспособность клеток 10 мкМ	Жизнеспособность клеток 50 мкМ
	99% ± 0% (n = 3)	100% ± 0% (n = 3)	98% ± 12% (n = 3)	86% ± 5% (n = 3)
	94% ± 5% (n = 3)	100% ± 0% (n = 3)	99% ± 9% (n = 3)	94% ± 10% (n = 3)
	49% ± 21% (n = 3)	96% ± 2% (n = 3)	102% ± 16% (n = 3)	100% ± 17% (n = 3)
	н. д.	н. д.	н. д.	н. д.
	51% ± 32% (n = 3)	37% ± 47% (n = 3)	98% ± 12% (n = 3)	85% ± 19% (n = 3)

Структура	MERV			
	(MOI 0,4.)			
	Веро			
	Инг. вируса 10 мкМ	Инг. вируса 50 мкМ	Жизнеспос обность клеток 10 мкМ	Жизнеспос обность клеток 50 мкМ
	99% ± 0% (n = 4)	100% ± 0% (n = 4)	75% ± 6% (n = 4)	47% ± 3% (n = 4)
	99% ± 0% (n = 4)	99% ± 0% (n = 4)	84% ± 8% (n = 4)	58% ± 2% (n = 4)
	29% ± 16% (n = 4)	85% ± 11% (n = 4)	103% ± 14% (n = 4)	102% ± 36% (n = 4)
	н. д.	н. д.	н. д.	н. д.
	86% ± 6% (n = 4)	98% ± 1% (n = 4)	118% ± 15% (n = 4)	91% ± 39% (n = 4)

Пример 57. Соединения, участвовавшие в скрининге при анализе СРЕ ШІКV



5

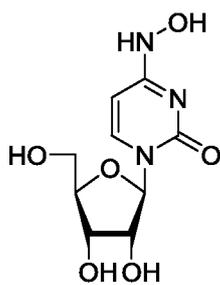
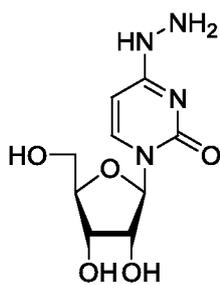
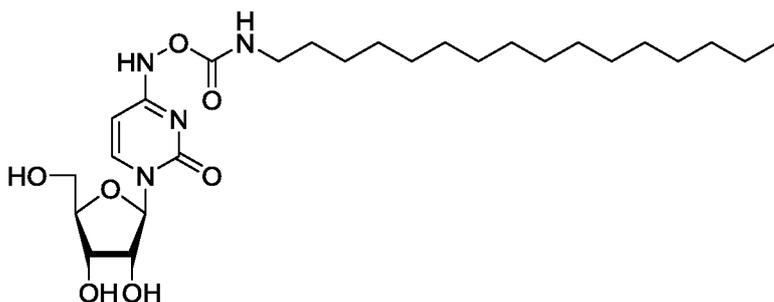
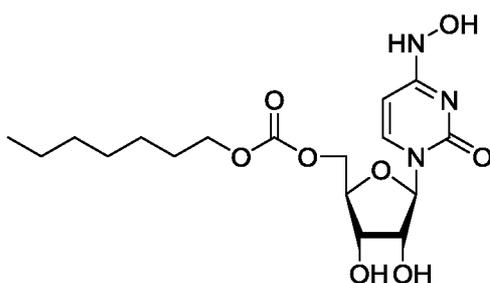
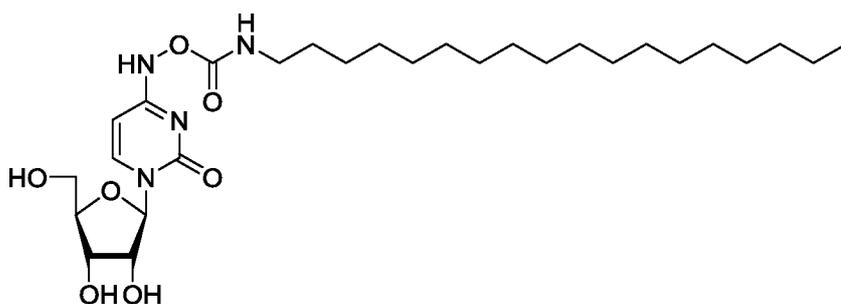
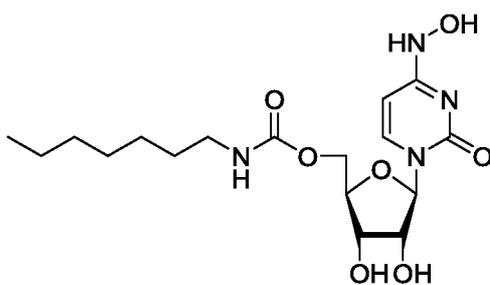
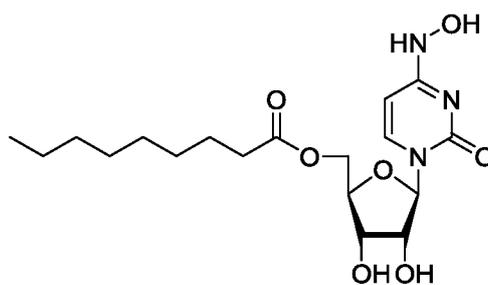
Пример 58

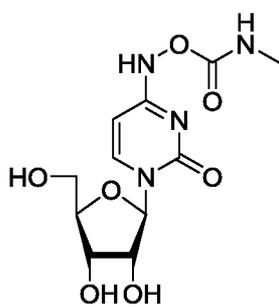
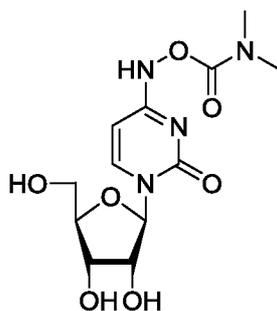
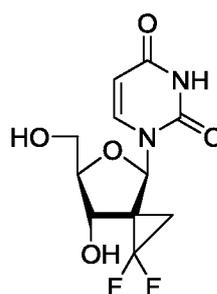
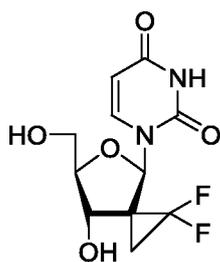
10 **Соединения, исследуемые при анализе СРЕ ШІКV**

EIDD-	EC ₅₀	CC ₅₀	SI
01931-04	0,6	15,3	25,5
02053-01	72	> 500	>6,9
02054-01	> 75	> 500	>6,7
02080-01	> 75	> 500	>6,7
02085-01	> 75	> 500	>6,7
02107-01	29	165	5,7
02107-02	38	165	4,3

Пример 59

15 **Соединения, исследуемые при анализе СРЕ ШІКV**

**EIDD-01931****EIDD-01910****EIDD-02356****EIDD-02474****EIDD-02357****EIDD-02475****EIDD-02476**

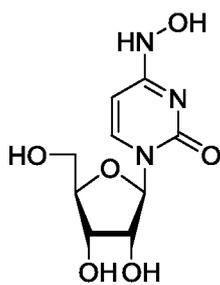
**EIDD-02422****EIDD-02423****EIDD-02339****EIDD-02340**

5

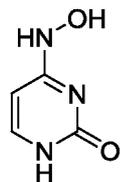
Пример 60

EIDD-	EC₅₀	CC₅₀	SI
01931-04	0,7	>500	>714
01910-01	>78	>500	н. о.
02339-01	>78	>500	н. о.
02340-01	>78	>500	н. о.
02356-01	>78	211	<2,7
02357-01	>78	90	<1,2
02422-01	32	>500	>15,6
02423-01	25	>500	>20
02474-01	0,07	184	2628,6
02475-01	>78	>500	н. о.
02476-01	0,3	154	513,3

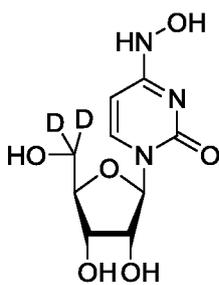
10 **Пример 61****Соединения, исследуемые при анализе СРЕ СНИКВ**



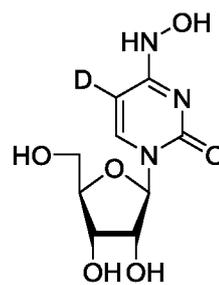
EIDD-01931



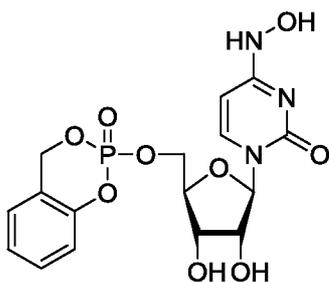
EIDD-02504



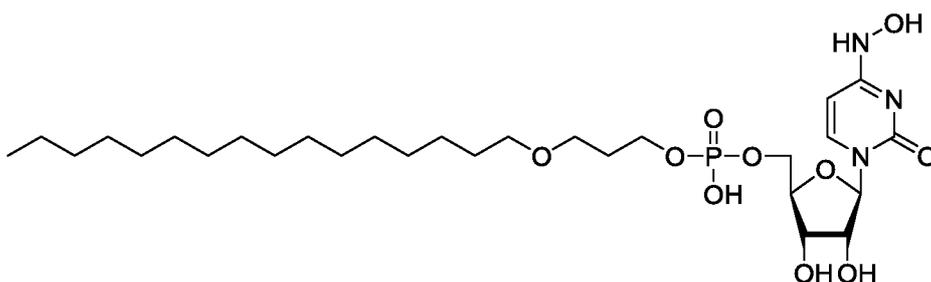
EIDD-02345



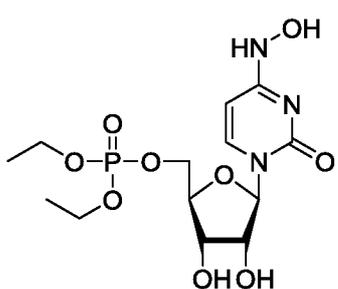
EIDD-02261



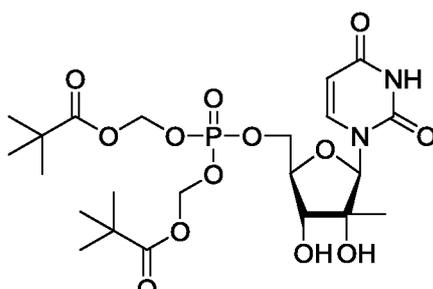
EIDD-02207



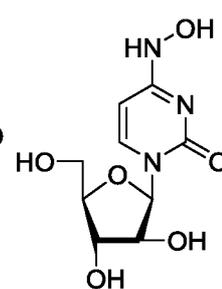
EIDD-02108



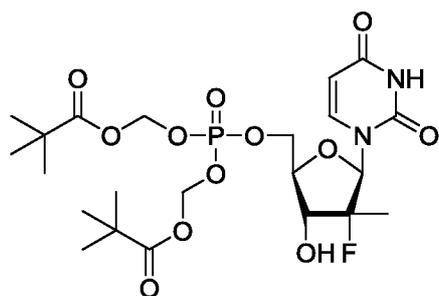
EIDD-02503



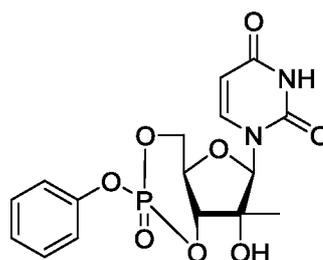
EIDD-02416



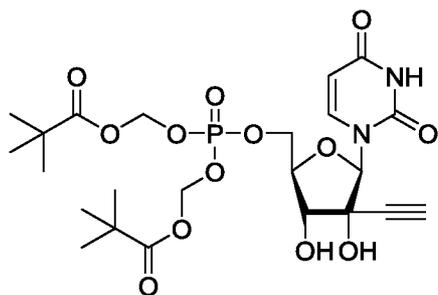
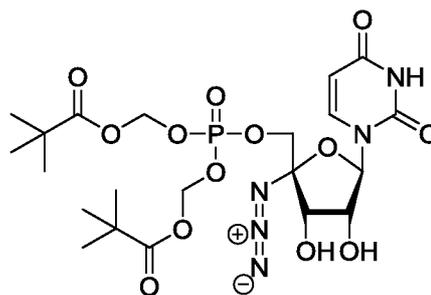
EIDD-02200



EIDD-02427



EIDD-01872

**EIDD-02290****EIDD-02110**

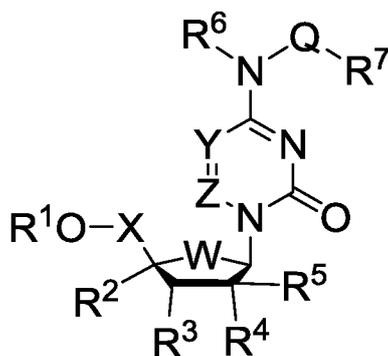
5

Пример 62

EIDD-	EC₅₀	CC₅₀	SI
01931-04	1,8	>500	>277
02504-01	>78	>500	н. д.
02416-01	27	53	2,0
02345-01	1,5	>500	>333
02261-01	1,5	>500	>333
02427-01	58	355	6,1
02207-01	10,8	>500	>46,3
02108-03	34,5	98	2,8
02503-01	>78	>500	н. о.
02110-03	56	387	6,9
01872-01	>78	>500	н. о.
02200-01	>78	>500	н. о.
02290-01	64,4	274	4,3

ИЗМЕНЕННАЯ ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ
в ответ на запрос формальной экспертизы от 17.10.2023

1. Соединение, имеющее формулу I, или его соль,



Формула I

где

Q-R⁷ представляет собой OH;

W представляет собой O;

X представляет собой CH₂;

Y представляет собой CRⁿ;

Z представляет собой CH;

Rⁿ представляет собой H;

R¹ имеет формулу -(C=O)R²⁰;

R² представляет собой водород;

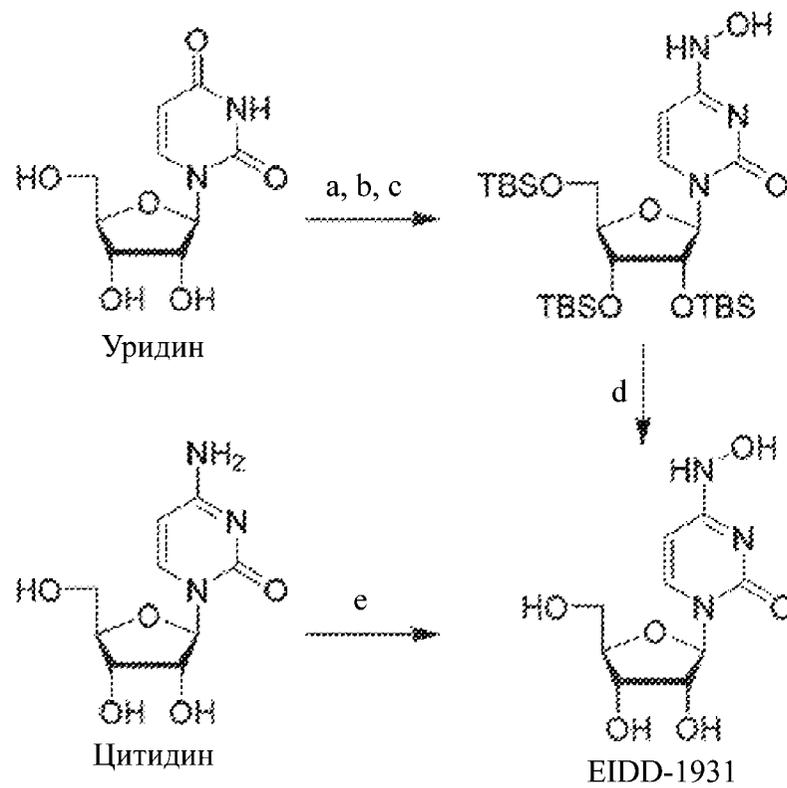
R³ представляет собой гидроксигруппу;

R⁴ представляет собой гидроксигруппу;

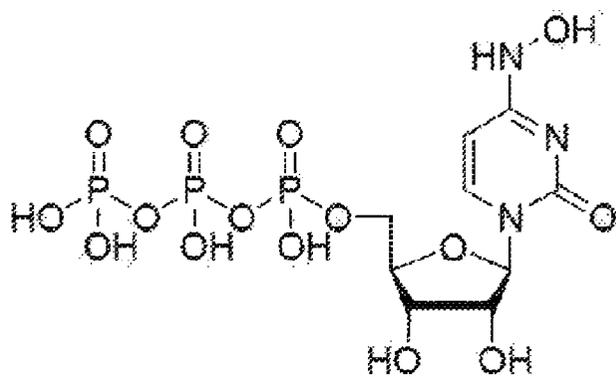
R⁵ представляет собой водород;

R⁶ представляет собой водород;

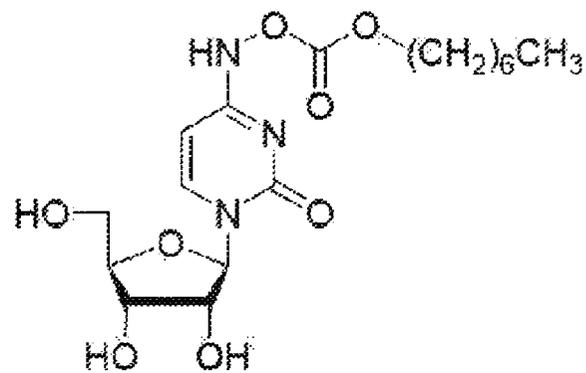
где R²⁰ представляет собой C₁₋₁₀ алкил.



ФИГ. 1

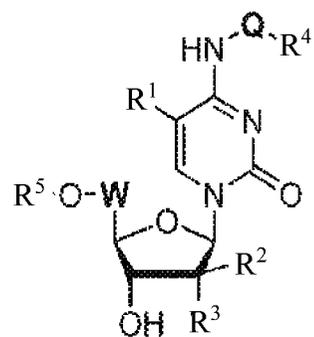


EIDD-2061
(Трифосфат EIDD-1931)



EIDD-2051

ФИГ. 2



$W = CH_2, CF_2, CD_2$

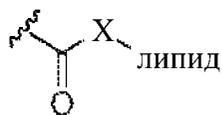
$Q = O, NH$

$R^1 = H, F, Cl, Br, I, CH_3, CF_3, SMe, D$, алкил, алкенил, алленил, алкинил

$R^2 = H, OH, CH_3$, алкил, алкенил, алленил, алкинил

$R^3 = OH, H, F, Cl$

$R^4, R^5 = H$,



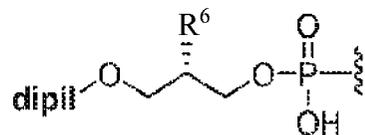
фосфолипид,

где $X = CH_2, O, S$, или NH , и

липид = от $n-C_6H_{13}$ до $C_{16}H_{33}$

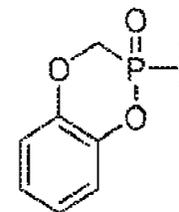
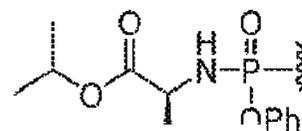
фосфорамидат,

циклоSal сложный фосфотриэфир

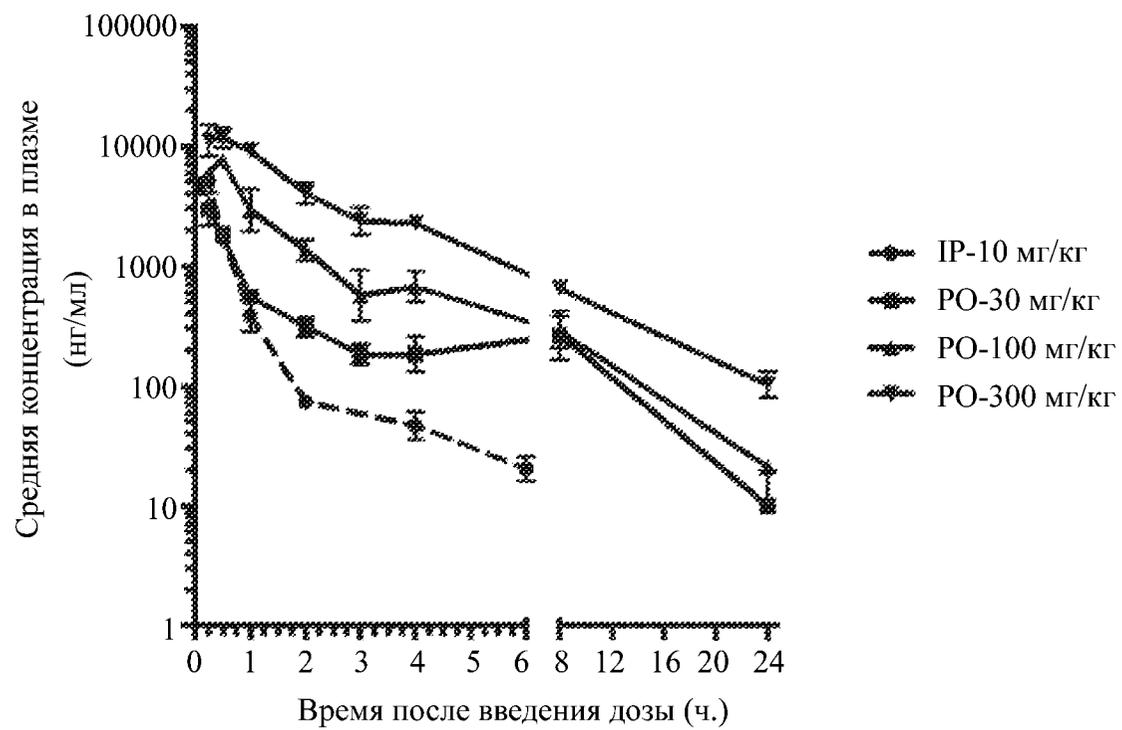


где $R^6 = H$ или OBn , и

липид = от $n-C_6H_{13}$ до $C_{16}H_{33}$

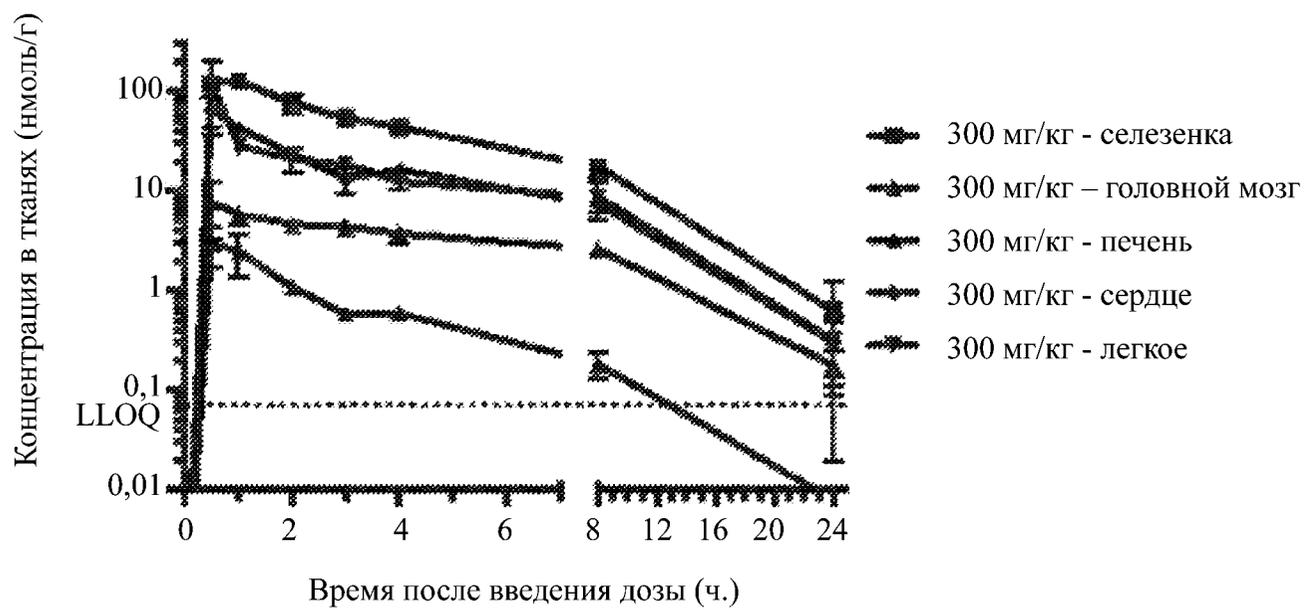


ФИГ. 3



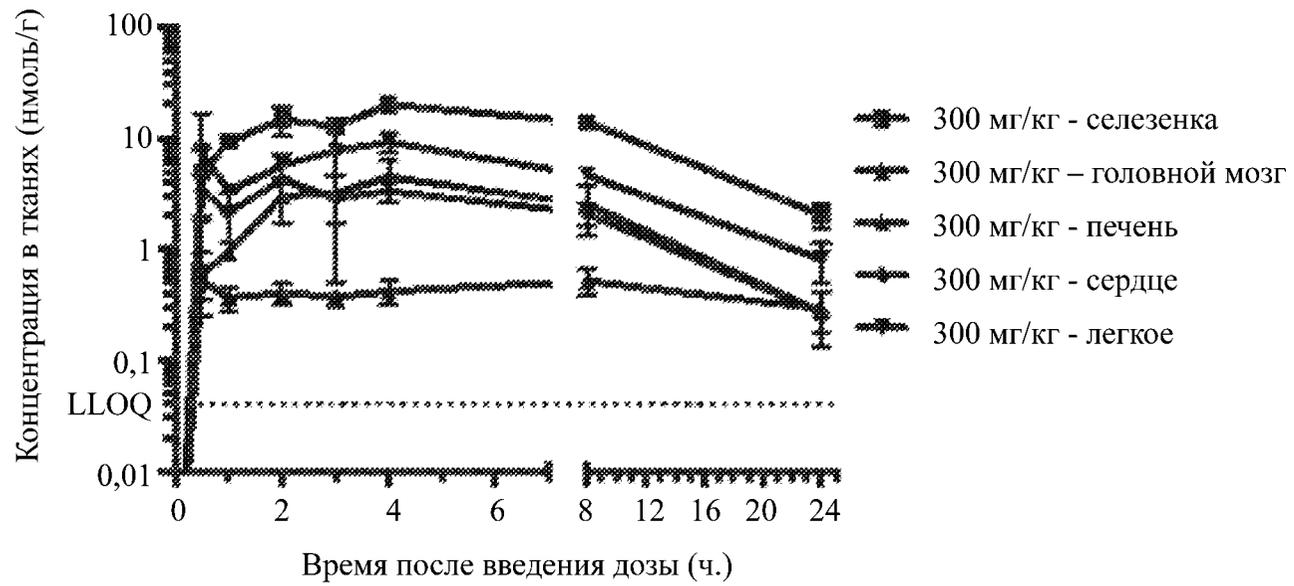
ФИГ. 4

Накопление нуклеозида в органах мышей
после введения 300 мг/кг пероральной дозы EIDD-01931

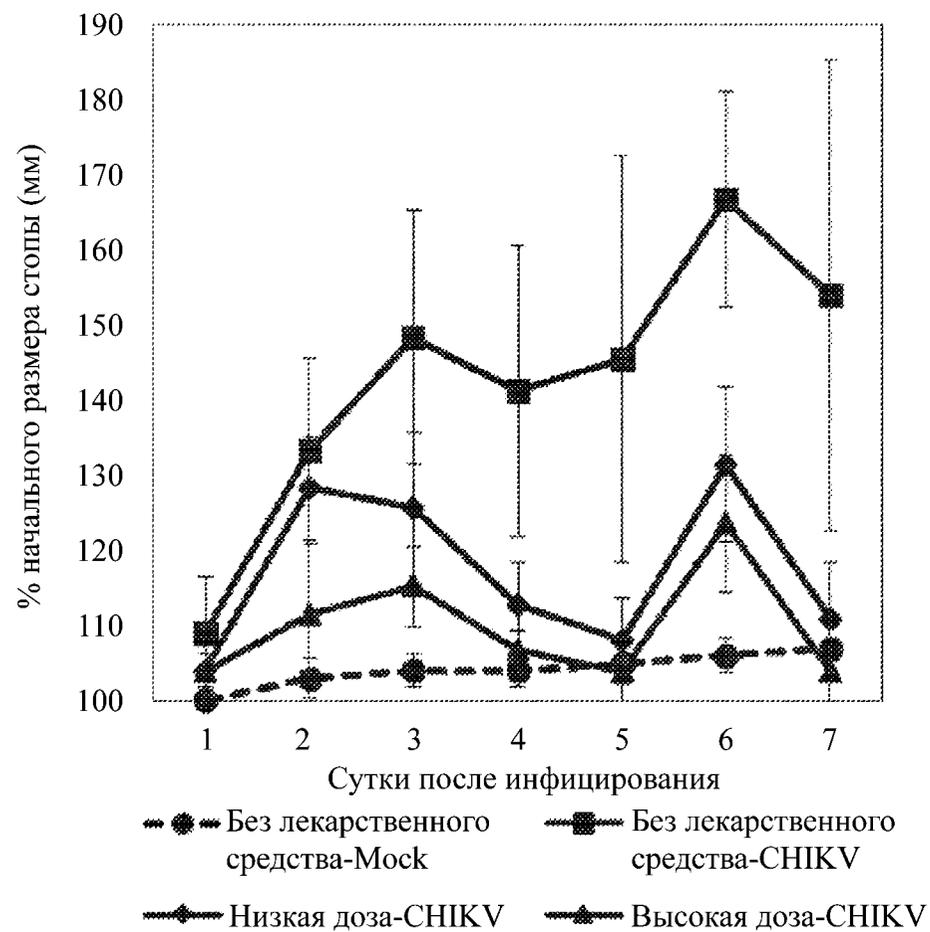


ФИГ. 5

Накопление трифосфата в органах мышей
после введения 300 мг/кг пероральной дозы EIDD-01931

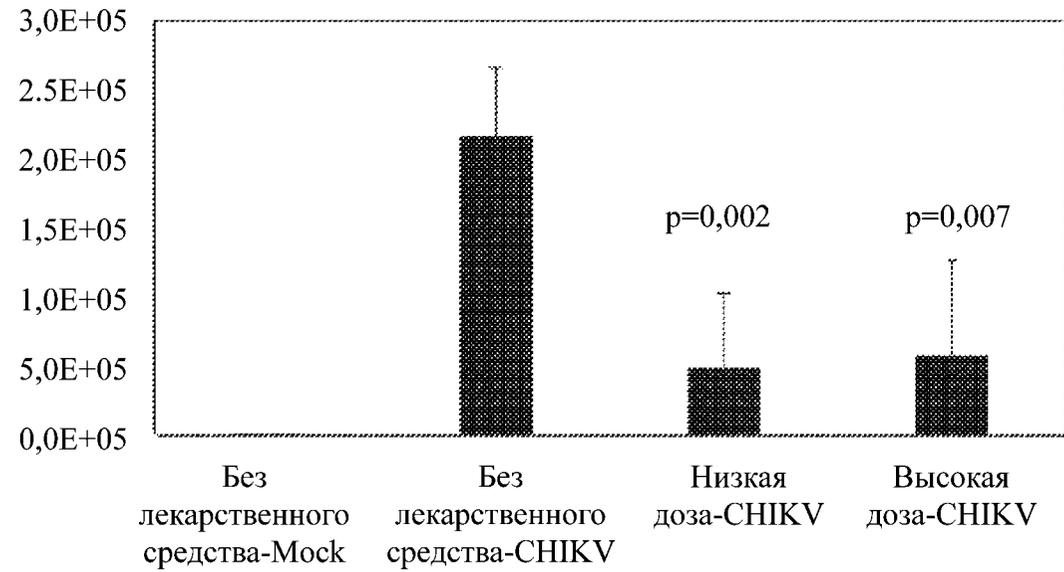


ФИГ. 6



ФИГ. 7

Копии ШИКV при ПЦР в реальном времени
после обработки с помощью EIDD-1931



ФИГ. 8

ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ ПОИСКЕ

(статья 15(3) ЕАПК и правило 42 Патентной инструкции к ЕАПК)

Номер евразийской заявки:

202392501**А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ:**

МПК:

C07H 19/067 (2006.01)
A61K 31/7068 (2006.01)
A61P 31/12 (2006.01)

СПК:

C07H 19/067
A61K 31/7068
A61P 31/12

Б. ОБЛАСТЬ ПОИСКА:

C07H 19/067, 19/06, A61K 31/7068, 31/706, 31/7064, A61P 31/12, 31/16

Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если возможно, используемые поисковые термины)
 Espacenet, EAPATIS, Google, Reaxys, Patentscope

В. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ

Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
X	WO 2014070771 A1 (RFS PHARMA, LLC et al.) 2014-05-08 с. 14 строка 1 - с. 15 строка 12, формула шп. 1-3	1
X	WO 0232920 A2 (PHARMASSET LIMITED et al.) 2002-04-25 с. 16 строка 1 - с. 19 строка 7 (соединения формул [I-a], [II-a], [III-a], [V-a]), формула шп. 1, 6	1
Y	US 2003060400 A1 (IDENIX PHARMACEUTICALS, INC et al.) 2003-03-27 параграфы [0128], [0173]-[0188] (соединения формул (IV) и (V)), [0203]-[0213] (соединения формул (VII) и (VIII)), [0223]-[0229] (соединения формулы (X) и (XI)), [0336]-[0344] (соединение формулы (XVIII)), [0425]-[0432], [0446]-[0453], формула шп. 4-12	1
Y	US 20090105186 A1 (MAX DELBRUECK CENTRUM et al.) 2009-04-2023 параграфы [0001]-[0003], [0024]-[0025] (соединение формулы I), формула п. 1	1
Y	US 20030008841 A1 (DEVOS RENE et al.) 2003-01-09 параграфы [0007]-[0038] (соединение формулы (I), в которой В представляет собой В4), формула п. 1	1
Y	WO 2012142523 A3 (GILEAD SCIENCES, INC. et al.) 2012-10-18 реферат, с. 3 строка 21 - с.6 строка 19 (соединение формулы (I)), формула п. 1	1

 последующие документы указаны в продолжении графы

* Особые категории ссылочных документов:

«А» - документ, определяющий общий уровень техники

«D» - документ, приведенный в евразийской заявке

«E» - более ранний документ, но опубликованный на дату подачи евразийской заявки или после нее

«O» - документ, относящийся к устному раскрытию, экспонированию и т.д.

"P" - документ, опубликованный до даты подачи евразийской заявки, но после даты испрашиваемого приоритета"

«Т» - более поздний документ, опубликованный после даты приоритета и приведенный для понимания изобретения

«X» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий новизну или изобретательский уровень, взятый в отдельности

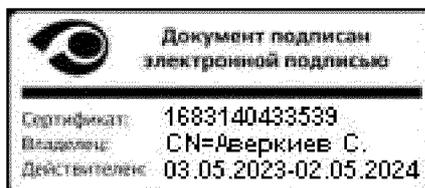
«Y» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий изобретательский уровень в сочетании с другими документами той же категории

«&» - документ, являющийся патентом-аналогом

«L» - документ, приведенный в других целях

Дата проведения патентного поиска: 04 марта 2024 (04.03.2024)

Уполномоченное лицо:
 Начальник Управления экспертизы



С.Е. Аверкиев