

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **201690093** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки  
**2016.04.29**

(51) Int. Cl. *C07D 487/04* (2006.01)  
*A61K 31/519* (2006.01)  
*A61P 31/12* (2006.01)

(22) Дата подачи заявки  
**2014.06.26**

---

(54) **ПРОИЗВОДНЫЕ ПИРРОЛО[3,2-D]ПИРИМИДИНА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ВИРУСНЫХ  
ИНФЕКЦИЙ И ДРУГИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

---

(31) **13174108.4**

(32) **2013.06.27**

(33) **EP**

(86) **PCT/EP2014/063467**

(87) **WO 2014/207082 2014.12.31**

(71) Заявитель:

**ЯНССЕН САЙЕНСИЗ АЙРЛЭНД  
ЮСи (IE)**

(72) Изобретатель:

**Мак Гоуен Дэвид Крейг (BE),  
Питерс Серж Мария Алоисиус (NL),  
Ласт Стефан Жюльен, Эмбрехтс  
Вернер, Йонкерс Тим Хьюго Мария,  
Рабуассон Пьер Жан-Мари Бернар  
(BE)**

(74) Представитель:

**Медведев В.Н. (RU)**

(57) Настоящее изобретение относится к производным пирроло[3,2-d]пиримидина, способам их получения, фармацевтическим композициям и их применению в лечении и/или терапии заболеваний.

**A1**

**201690093**

**201690093**

**A1**

**ПРОИЗВОДНЫЕ ПИРРОЛО[3,2-*D*]ПИРИМИДИНА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ВИРУСНЫХ  
ИНФЕКЦИЙ И ДРУГИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

Настоящее изобретение относится к производным пирроло[3,2-*d*]пиримидина, способам их получения, фармацевтическим композициям и их применению в лечении и/или терапии заболеваний.

Настоящее изобретение относится к применению производных пирроло[3,2-*d*]пиримидина, более конкретно к применению производных пирроло[3,2-*d*]пиримидина в лечении вирусных инфекций, иммунных или воспалительных нарушений, в которые вовлечена модуляция или агонизм толл-подобных рецепторов (TLR). Толл-подобные рецепторы представляют собой основные трансмембранные белки, характеризующиеся внеклеточным доменом, богатым лейцином, и цитоплазматическим расширением, которое содержит консервативную область. Врожденная иммунная система может распознавать патоген-ассоциированные молекулярные паттерны посредством данных TLR, экспрессируемых на клеточной поверхности определенных типов иммунных клеток. При распознавании чужеродных патогенов активируется выработка цитокинов и повышается экспрессия ко-стимулирующих молекул на фагоцитах. Это приводит к модуляции поведения T-клеток.

Большинство видов млекопитающих имеют от десяти до пятнадцати типов толл-подобных рецепторов. В общей сложности у человека и мыши было идентифицировано тринадцать TLR (называемых просто TLR1-TLR13), и эквивалентные формы многих из них были обнаружены у других видов млекопитающих. Тем не менее, эквиваленты определенных TLR, обнаруженных у человека, не присутствуют у всех млекопитающих. Например, ген, кодирующий белок, аналогичный TLR10 человека, присутствует у мыши, но, по-видимому, в какой-то момент времени в прошлом был поврежден ретровирусом. С другой стороны, у мыши экспрессируются TLR 11, 12 и 13, ни один из которых не представлен у человека. У других млекопитающих могут экспрессироваться TLR, которые не обнаружены у человека. Другие виды, не являющиеся млекопитающими, могут иметь TLR, отличные от таковых у млекопитающих, о чем свидетельствует TLR14, обнаруженный у рыбы фугу рода *Takifugu*.

Это может осложнить процедуру использования экспериментальных животных в качестве моделей врожденного иммунитета человека.

Для обзора толл-подобных рецепторов см. следующие публикации в журналах: Hoffmann, J.A., *Nature*, 426, p.33-38, 2003; Akira, S., Takeda, K., and Kaisho, T., *Annual Rev. Immunology*, 21, p.335-376, 2003; Ulevitch, R. J., *Nature Reviews: Immunology*, 4, p.512-520, 2004.

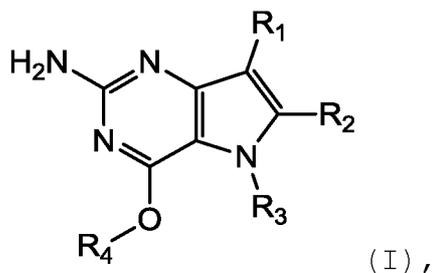
Ранее были описаны соединения, проявляющие активность в отношении толл-подобных рецепторов, такие как гетероциклические производные в WO2000/006577, производные аденина в WO98/01448 и WO99/28321, а также пиримидины в WO2009/067081.

При лечении определенных вирусных инфекций могут регулярно вводиться инъекции интерферона (IFN-альфа), как в случае с вирусом гепатита С (HCV). Низкомолекулярные индукторы IFN, доступные для перорального применения, предлагают потенциальные преимущества в виде сниженной иммуногенности и удобства введения. Таким образом, новые индукторы IFN представляют собой потенциально эффективный новый класс лекарственных средств для лечения вирусных инфекций. Пример низкомолекулярного индуктора IFN, обладающего противовирусным эффектом, см. у De Clercq, E.; Descamps, J.; De Somer, P. *Science* 1978, 200, 563-565.

Интерферон  $\alpha$  также вводят пациентам в комбинации с другими лекарственными средствами при лечении определенных типов рака. Агонисты TLR 7/8 также представляют интерес как вакцинные адъюванты благодаря своей способности индуцировать ярко выраженную Th1 реакцию.

Тем не менее, существует острая потребность в новых модуляторах толл-подобных рецепторов, обладающих предпочтительной селективностью, а также улучшенным профилем безопасности, по сравнению с соединениями из известного уровня техники.

В соответствии с настоящим изобретением предусмотрено соединение формулы (I),



и его фармацевтически приемлемая соль, его сольват или полиморф, где

$R_1$  представляет собой H, фтор или метил;

$R_2$  представляет собой H, галоген или  $C_{1-3}$ алкил;

$R_3$  представляет собой  $C_{1-6}$ алкил, необязательно замещенный одним или несколькими заместителями, независимо выбранными из арилокси, гетероцикла, галогена, арила, алкиламино, диалкиламино,  $C_{1-6}$ алкила, карбоновой кислоты, сложного эфира карбоновой кислоты, амида карбоновой кислоты, нитрила или  $C_{1-6}$ алкокси;

или где

$R_3$  представляет собой алкиларил необязательно замещенный одним или несколькими заместителями, независимо выбранными из галогена, арилокси, арила, алкиламино, диалкиламино,  $C_{1-6}$ алкила, карбоновой кислоты, сложного эфира карбоновой кислоты, амида карбоновой кислоты сульфонамида, нитрила или  $C_{1-6}$ алкокси;

$R_4$  представляет собой  $C_{1-6}$ алкил, необязательно замещенный одним или несколькими заместителями, независимо выбранными из гидроксила,  $C_{1-6}$ алкила,  $C_{3-7}$ циклоалкила,  $C_{2-6}$ алкенила или арила, который необязательно дополнительно замещен  $C_{1-6}$ алкилом, и  $C_{3-7}$ циклоалкила, который необязательно дополнительно замещен  $C_{1-6}$ алкилом;

или где

$R_4$  представляет собой алкиларил, необязательно замещенный одним или несколькими заместителями, независимо выбранными из галогена, арилокси, арила, алкиламино, диалкиламино,  $C_{1-6}$ алкила, карбоновой кислоты, сложного эфира карбоновой кислоты, амида карбоновой кислоты сульфонамида, нитрила или  $C_{1-6}$  алкокси.

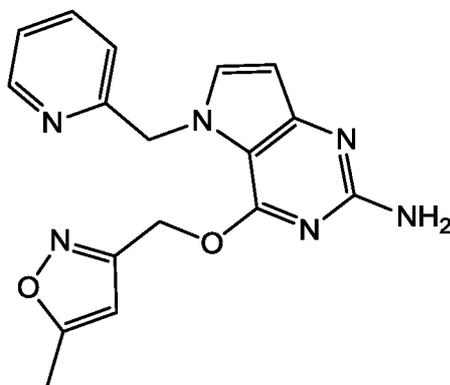
Предпочтительными соединениями являются соединения формулы (I), где  $R_3$  представляет собой  $CH_2$ -арильную группу (замещенную

или незамещенную), а  $R_1$ ,  $R_2$  и  $R_4$  такие, как описано выше.

Во втором варианте осуществления представлены соединения формулы (I), где  $R_3$  и  $R_4$  представляют собой  $CH_2$ -арильные группы, необязательно дополнительно замещенные, как описано выше, а также  $R_1$  и  $R_2$  такие, как описаны выше.

Другими предпочтительными вариантами осуществления являются те соединения формулы (I), где  $R_1$  представляет собой фтор,  $R_2$  представляет собой водород, а  $R_3$  и  $R_4$  являются такими, как описано выше.

Наиболее предпочтительным соединением является соединение формулы (II) со следующей химической структурой:



Соединения формулы (I) и (II) и их фармацевтически приемлемая соль, их сольват или полиморф обладают активностью фармацевтических препаратов, в частности, как модуляторов активности толл-подобного рецептора (в особенности, TLR7).

В дополнительном аспекте по настоящему изобретению предусмотрена фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы (I) или (II), или его фармацевтически приемлемую соль, сольват или полиморф, вместе с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми наполнителями, разбавителями или носителями.

Кроме того, соединение формулы (I) или (II), или его фармацевтически приемлемую соль, сольват, или полиморф, в соответствии с настоящим изобретением, или фармацевтическую композицию, содержащую указанное соединение формулы (I) или (II), или его фармацевтически приемлемую соль, сольват или полиморф можно применять в качестве лекарственного препарата.

Другой аспект настоящего изобретения состоит в том, что

соединение формулы (I) или (II), или его фармацевтически приемлемую соль, сольват, или полиморф, или указанную фармацевтическую композицию, содержащую указанное соединение формулы (I) или (II), или его фармацевтически приемлемую соль, сольват или полиморф можно, соответственно, применять в лечении какого-либо нарушения, в которое вовлечена модуляция TLR7.

Термин "алкил" относится к насыщенному алифатическому углеводороду с неразветвленной цепью или разветвленной цепью, содержащему определенное количество атомов углерода.

Термин "галоген" относится к фтору, хлору, бромю или йоду.

Термин "алкиларил" относится к насыщенному алифатическому углеводороду с неразветвленной цепью или разветвленной цепью, содержащему определенное количество атомов углерода, замещенных арилом, где "арил" такой, как определено ниже.

Термин "алкенил" относится к алкилу, определенному выше, и содержащему по меньшей мере два атома углерода и по меньшей мере одну углерод-углеродную двойную связь.

Термин "циклоалкил" относится к карбоциклическому кольцу, содержащему определенное количество атомов углерода.

Термин "алкокси" относится к алкильной группе (цепи из атомов углерода и водорода), связанной одинарной связью с кислородом, как, например, метоксигруппе или этоксигруппе.

Термин "арил" означает ароматическую кольцевую структуру, необязательно содержащую один или два гетероатома, выбранных из N, O и S, в частности, из N и O. Указанная ароматическая кольцевая структура может содержать 5, 6 или 7 атомов в кольце. В частности, указанная ароматическая кольцевая структура может содержать 5 или 6 атомов в кольце.

Термин "арилокси" относится к ароматической кольцевой структуре. Указанная ароматическая группа связана одинарной связью с кислородом.

Термин "гетероцикл" относится к молекулам, которые являются насыщенными или частично насыщенными и включают тетрагидрофуран, диоксан или другие циклические простые эфиры. Гетероциклы, содержащие азот, включают, например, азетидин, морфолин, пиперидин, пиперазин, пирролидин и т. п. Другие гетероциклы

включают, например, тиоморфолин, диоксолинил и циклические сульфоны.

Фармацевтически приемлемые соли соединений формулы (I) и (II) включают их соли присоединения кислоты и основные соли. Приемлемые соли присоединения кислоты образуются из кислот, которые образуют нетоксичные соли. Приемлемые основные соли образуются из оснований, которые образуют нетоксичные соли.

Соединения по настоящему изобретению также могут существовать в несольватированной и сольватированной формах. Термин "сольват" используется в данном документе для описания молекулярного комплекса, содержащего соединение в соответствии с настоящим изобретением, и одну или несколько молекул фармацевтически приемлемого растворителя, например, этанола.

Термин "полиморф" относится к способности соединения в соответствии с настоящим изобретением существовать в более чем одной форме или кристаллической структуре.

Соединения по настоящему изобретению можно вводить в виде кристаллических или аморфных продуктов. Их можно получать, например, в виде твердой прессованной массы, порошков или пленок посредством таких способов, как осаждение, кристаллизация, сушка вымораживанием, сушка распылением или сушка выпариванием. Их можно вводить отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими соединениями по настоящему изобретению или в комбинации с одним или несколькими другими лекарственными средствами. Как правило, их будут вводить в виде состава, в сочетании с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми наполнителями. Термин "наполнитель" используется в данном документе для описания любого ингредиента, отличного от соединения(ий) в соответствии с настоящим изобретением. Выбор наполнителя в большей степени зависит от таких факторов, как конкретный способ введения, влияние наполнителя на растворимость, стабильность и природа лекарственной формы.

Соединения по настоящему изобретению или любая их подгруппа могут быть составлены в различные фармацевтические формы для целей введения. В качестве подходящих композиций могут быть упомянуты все композиции, обычно применяемые для системного

введения лекарственных средств. Для получения фармацевтических композиций по настоящему изобретению эффективное количество конкретного соединения, необязательно в форме соли присоединения, в качестве активного ингредиента объединяют в однородную смесь с фармацевтически приемлемым носителем, при этом носитель может принимать самые разнообразные формы в зависимости от формы препарата, требуемой для введения. Данные фармацевтические композиции предпочтительно представлены в виде единичной лекарственной формы, подходящей, например, для перорального, ректального или чрескожного введения. Например, при получении композиций в виде пероральной лекарственной формы можно использовать любую общепринятую фармацевтическую среду, такую как, например, вода, гликоли, масла, спирты и т. п., в случае пероральных жидких препаратов, таких как суспензии, сиропы, эликсиры, эмульсии и растворы; или твердые носители, такие как крахмалы, сахара, каолин, разбавители, смазывающие вещества, связующие вещества, разрыхлители и т. п., в случае порошков, пилюль, капсул и таблеток. Вследствие простоты их введения таблетки и капсулы представляют собой наиболее предпочтительные формы единиц дозирования для перорального введения, в случае которых, как очевидно, применяют твердые фармацевтические носители. Также включены препараты в твердой форме, которые могут быть преобразованы непосредственно перед применением в препараты в жидких формах. В композициях, приемлемых для чрескожного введения, носитель необязательно содержит средство, повышающее проницаемость, и/или приемлемое смачивающее средство, необязательно объединенное с приемлемыми добавками любой природы в минимальных пропорциях, при этом добавки не оказывают значительного вредного воздействия на кожу. Указанные добавки могут облегчать введение в кожу и/или могут быть полезными при получении необходимых композиций. Данные композиции можно вводить различными путями, например, в форме трансдермального пластыря, в форме точечного нанесения, в форме мази. Соединения по настоящему изобретению также можно вводить посредством ингаляции или инсуффляции с помощью способов и составов, применяемых в данной области для введения таким путем.

Таким образом, в основном соединения по настоящему изобретению можно вводить в легкие в форме раствора, суспензии или сухого порошка.

Особенно предпочтительным является составление вышеуказанных фармацевтических композиций в виде единичной лекарственной формы для простоты введения и равномерности дозирования. Единичная лекарственная форма, как используется в данном документе, относится к физически дискретным единицам, подходящим в качестве единичных доз, при этом каждая единица содержит заранее установленное количество активного ингредиента, рассчитанное для получения требуемого терапевтического эффекта в сочетании с необходимым фармацевтическим носителем. Примерами таких единичных лекарственных форм являются таблетки (в том числе делимые или покрытые оболочкой таблетки), капсулы, пилюли, пакетики с порошком, пластинки, суппозитории, растворы или суспензии для инъекций и т. п., а также их отдельные множества.

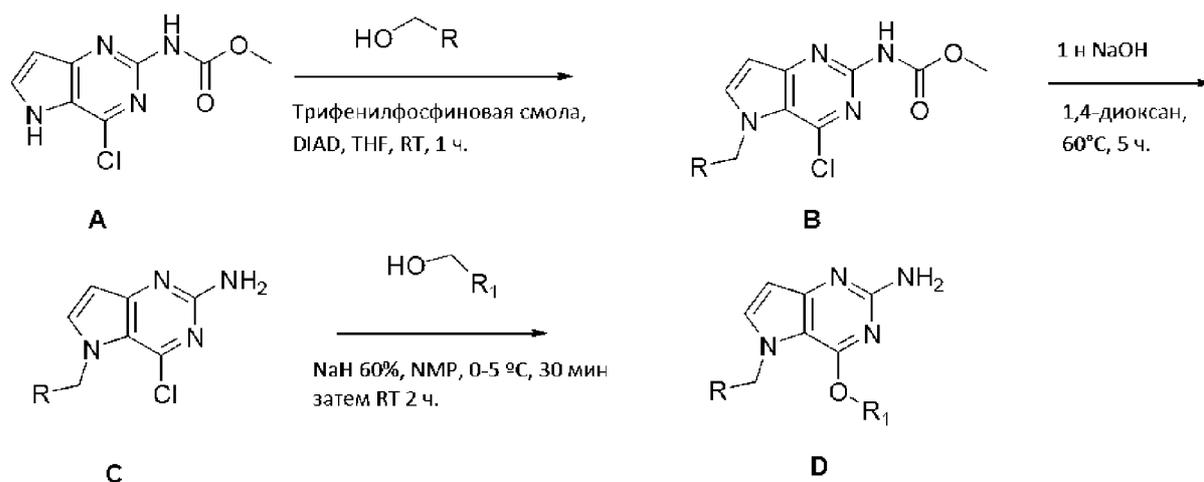
Специалисты в области лечения инфекционных заболеваний смогут определить эффективное количество, исходя из результатов тестов, представленных далее в данном документе. В целом, полагают, что эффективное суточное количество будет составлять от 0,01 мг/кг до 50 мг/кг массы тела, более предпочтительно от 0,1 мг/кг до 10 мг/кг массы тела. Может быть целесообразным введение необходимой дозы в виде двух, трех, четырех или более частей дозы через соответствующие интервалы на протяжении дня. Указанные части дозы могут быть составлены в виде единичных лекарственных форм, например, содержащих 1-1000 мг и, в частности, 5-200 мг активного ингредиента на единичную лекарственную форму.

Точная дозировка и частота введения зависят от конкретного используемого соединения формулы (I), конкретного состояния, подлежащего лечению, тяжести состояния, подлежащего лечению, возраста, веса и общего физического состояния конкретного пациента, а также другого медикаментозного лечения, которое может получать индивидуум, что хорошо известно специалистам в данной области. Более того, очевидно, что эффективное количество может быть снижено или увеличено в зависимости от реакции

подвергаемого лечению субъекта и/или в зависимости от оценки врача, назначающего соединения по настоящему изобретению. Таким образом, вышеупомянутые диапазоны эффективного количества являются только рекомендациями и не предназначены для ограничения в той или иной мере объема или применения настоящего изобретения.

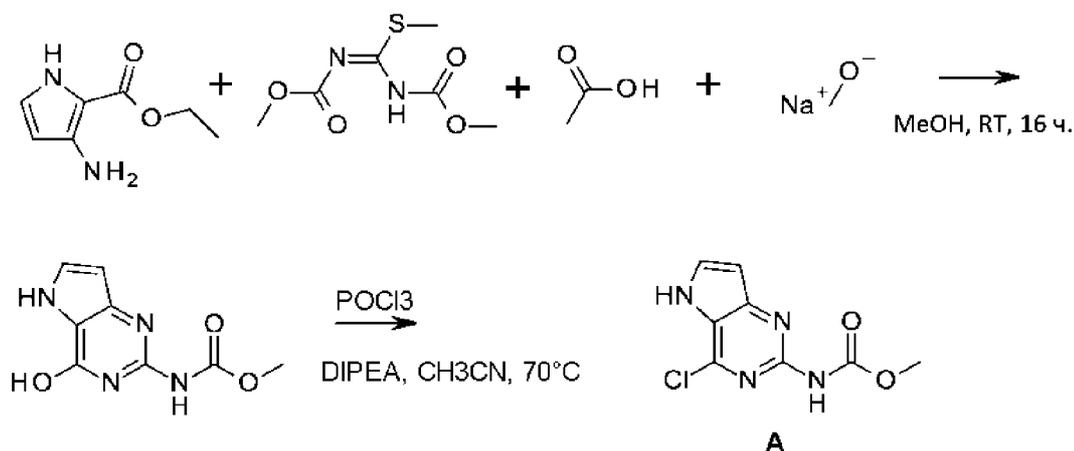
### Экспериментальная часть

Схема 1. Общая схема реакции



Соединения типа **A** на схеме 1 могут быть функционализированы с помощью спиртов с использованием условий реакции Мицунобу в полярном апротонном растворителе, например, THF. Расщепление метилкарбамата осуществляли при основных условиях в 1,4-диоксане с образованием промежуточного соединения **C**. Осуществляли замещение хлора в **C** спиртом или основанием (например, NaH) в полярном апротонном растворителе (например, NMP) с образованием соединений типа **D**.

### Получение промежуточного продукта A



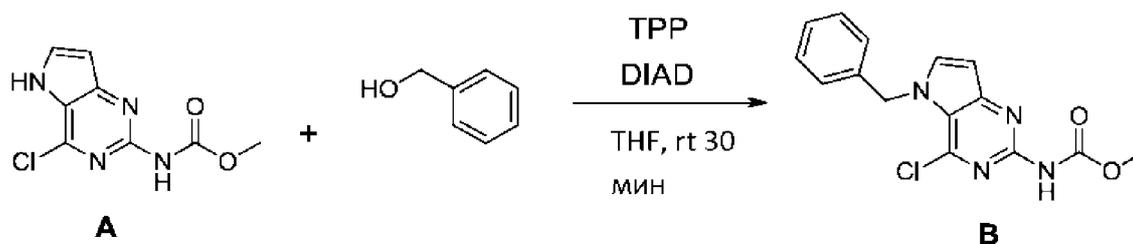
Разделяли 3-амино-2-этоксикарбонилпиррола гидрохлорид (25,8 г, 135,3 ммоль) между дихлорметаном и насыщ.  $\text{NaHCO}_3$ . Органический слой высушивали над  $\text{MgSO}_4$ , твердую фазу удаляли путем фильтрации и растворитель фильтрата выпаривали досуха. Остаток растворяли в метаноле (500 мл) вместе с 1,3-бис(метоксикарбонил)-2-метил-2-тиопсевдомочевинной (32,1 г, 156 ммоль) и уксусной кислотой (39 мл, 677 ммоль) и перемешивали 1 час при комнатной температуре. Появлялся осадок, и перемешивание продолжали в течение ночи. Добавляли метилат натрия (73,1 г, 1353 ммоль). Наблюдали экзотермическую реакцию и реакционную смесь перемешивали в течение ночи. Доводили pH смеси до 5 с помощью уксусной кислоты и осадок выделяли посредством фильтрации, растирали на фильтре с водой (2×350 мл), ацетонитрилом (1×350 мл) и диизопропиловым эфиром (1×350 мл). Полученный метил-N-(4-гидрокси-5H-пирроло[3,2-d]пиримидин-2-ил)карбамат сушили в печи.

Метил-N-(4-гидрокси-5H-пирроло[3,2-d]пиримидин-2-ил)карбамат (25 г, 120 ммоль) распределяли в 350 мл ацетонитрила в 500 мл колбе с несколькими горлышками, оснащенной верхнеприводной мешалкой (300 об/мин) при комнатной температуре. Добавляли  $\text{POCl}_3$  (22,1 мл, 238,2 ммоль) и затем реакционную смесь нагревали до 70°C при перемешивании. Добавляли по каплям диизопропилэтиламин (41,4 мл, 240,2 ммоль) с помощью шприцевого насоса при скорости потока 0,2 мл/мин.

Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и выливали в перемешиваемый раствор ацетата натрия (78,8 г, 961 ммоль) в воде (500 мл) при 45°C. Органические вещества выпаривали и оставшуюся жидкость перемешивали и охлаждали на ледяной бане. Образовавшееся твердое вещество выделяли посредством фильтрации, промывали ацетонитрилом и растирали с диизопропиловым эфиром с получением промежуточного соединения **A**, которое сушили в вакууме. LC-MS масса/заряд = 227 (M+H)

#### Получение промежуточного соединения **B**

Способ 1.



К суспензии **A** (500 мг, 2,2 ммоль), бензилового спирта (0,28 мл, 2,6 ммоль) и трифенилфосфина (0,69 г, 2,6 ммоль) в безводном THF (15 мл) добавляли DIAD (0,64 мл, 3,3 ммоль) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 минут. Смесь концентрировали при пониженном давлении. Продукт очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле с использованием градиента гептан/этилацетат; от 100-0 до 90-10. Фракции продукта собирали и концентрировали при пониженном давлении. Продукт растирали в порошок в диизопропиловом эфире, выделяли посредством фильтрации и сушили в вакууме до получения **B** в виде бледно-желтого твердого вещества. LC-MS масса/заряд = 317 (M+H)

Способ 2 со смолосвязанным трифенилфосфином.

К суспензии **A** (700 мг, 3,1 ммоль), бензилового спирта (0,39 мл, 3,7 ммоль) и трифенилфосфиновой смолы (2,6 г, 7,7 ммоль) в безводном THF (21 мл) добавляли DIAD (0,90 мл, 4,6 ммоль) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Смесь фильтровали через уплотненный декалит и промывали метанолом. Фильтрат концентрировали *in vacuo*. Продукт растирали в порошок в диизопропиловом эфире, выделяли посредством фильтрации и сушили в вакууме до получения бледно-желтого твердого вещества, **B**. LC-MS масса/заряд = 317 (M+H)

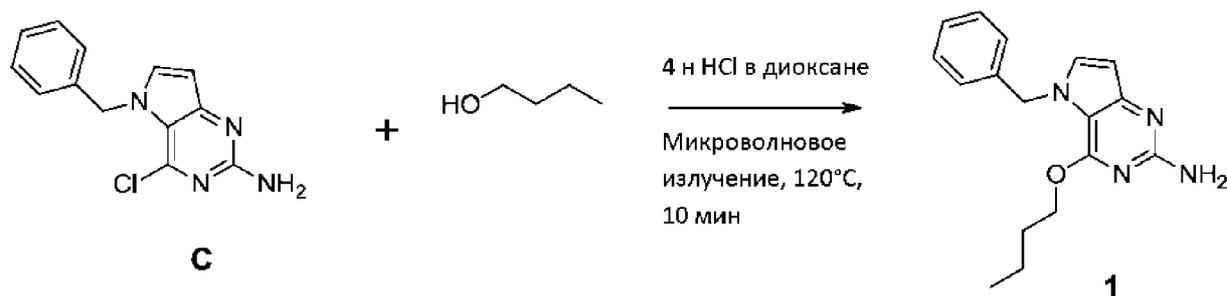
#### Получение промежуточного соединения C



**В** (738 мг, 2,3 ммоль) растворяли в 1,4-диоксане (11 мл) в 50 мл стеклянной пробирке и добавляли NaOH (5,6 мл, 1 н водн.). Смесь нагревали до 60°C в течение 5 ч. Смесь охлаждали и концентрировали *in vacuo*. Остаток обрабатывали водой и осадок выделяли посредством фильтрации и сушили в вакууме с получением **С** в виде твердого вещества. Продукт применяли как таковой на следующем этапе. LC-MS масса/заряд = 259 (M+H)

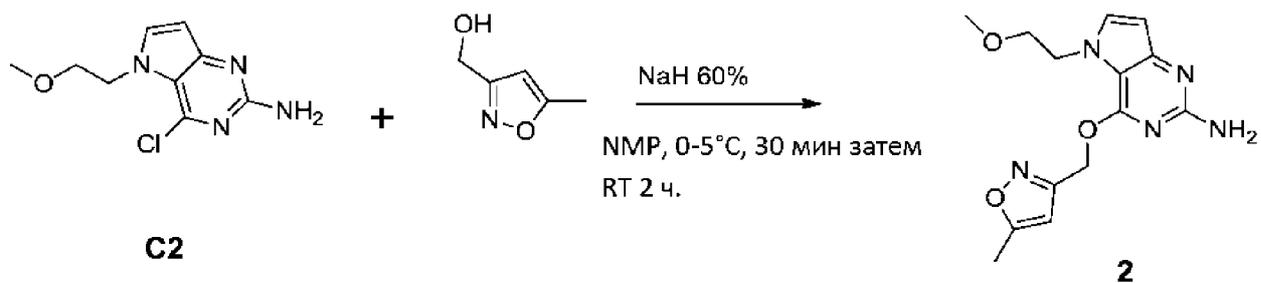
### Получение **1** и **2**

Способ 1.



Промежуточное вещество **С** (240 мг, 0,93 ммоль), *n*-бутиловый спирт (3,2 мл, 35 ммоль) и 4 н HCl в диоксане (0,46 мл, 1,9 ммоль) помещали во флакон на 7 мл для реакций под действием микроволнового излучения. Флакон запечатывали и смесь нагревали в микроволнах при 120°C в течение 10 минут. Смесь охлаждали и концентрировали *in vacuo*. Остаток нейтрализовали с помощью насыщ. раствора NaHCO<sub>3</sub> и экстрагировали с помощью дихлорметана. Органический слой отделяли, высушивали (MgSO<sub>4</sub>), твердые вещества удаляли посредством фильтрации и фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Продукт очищали посредством колоночной хроматографии на силикагеле с использованием дихлорметан-метанола с градиентом от 100-0 до 95-5. Лучшие фракции собирали и концентрировали при пониженном давлении. Продукт растирали в диизопропиловом эфире, твердое вещество выделяли посредством фильтрации и сушили в вакууме с получением **1** в виде белого твердого вещества.

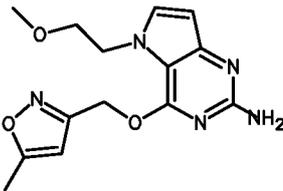
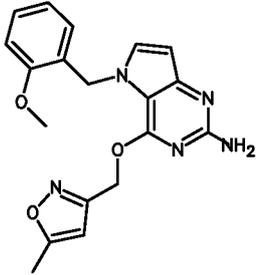
Способ 2.

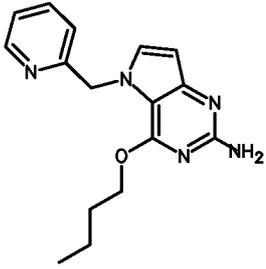
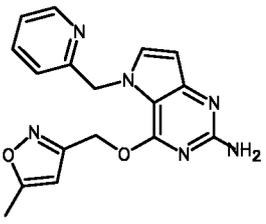


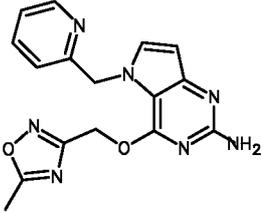
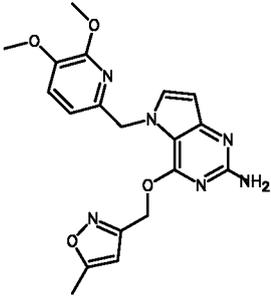
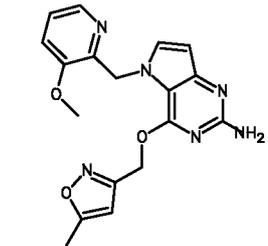
Промежуточное вещество **C2** (250 мг, 1,1 ммоль) и 3-гидроксиметил-5-метилизоксазол (0,16 мл, 1,65 ммоль) растворяли в NMP (3 мл) во флаконе на 7 мл. Смесь охлаждали на водяной бане и добавляли NaH (66 мг, 1,65 ммоль, 60% дисперсия в минеральном масле) в условиях  $N_2$ , смесь перемешивали при 0–5°C в течение 30 минут, затем смеси позволяли нагреться до комнатной температуры и продолжали перемешивание в течение 2 ч. Затем неочищенную реакционную смесь очищали препаративной HPLC (стационарная фаза: RP Vydac Denali C18 10 мкм, 200 г, 5 см), подвижная фаза: 0,25% раствор  $NH_4OAc$  в воде,  $CH_3CN$ ), необходимые фракции собирали и концентрировали *in vacuo*. Продукт кристаллизовали из  $CH_3CN$ , выделяли посредством фильтрации и высушивали в вакууме с получением белого твердого вещества, **2**.

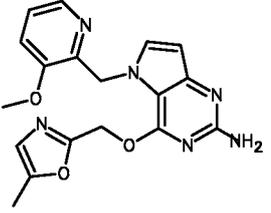
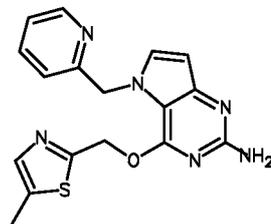
Таблица 1. Соединения формулы (I) и соответствующие данные анализа. Соединения получали в соответствии со способами, описанными в экспериментальной части.

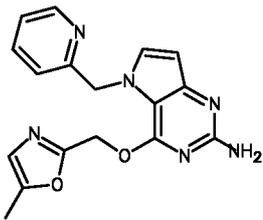
№	СТРУКТУРА	$^1H$ ЯМР	Способ LC, Rt (минуты)	LC-MS Полученная масса (M+H)
1		$^1H$ ЯМР (400 МГц, $DMSO-d_6$ ) $\delta$ ppm 0,85 (t, $J=7,37$ Гц, 3H) 1,26 (dq, $J=15,02, 7,39$ Гц, 2 H) 1,56–1,63 (m, 2H) 4,30 (t, $J=6,38$ Гц, 2H) 5,39 (s, 2H) 5,72 (s, 2H) 6,08 (d, $J=3,08$ Гц, 1H) 7,03–	B, 1,98	297

№	СТРУКТУРА	<sup>1</sup> H ЯМР	Способ ЛС, Rt (МИНУТЫ)	LC-MS Полученная масса (M+H)
		7,08 (m, 2H) 7,19-7,25 (m, 1H) 7,26-7,32 (m, 2H) 7,48 (d, J=3,08 Гц, 1H)		
2		<sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, DMSO-d <sub>6</sub> ) δ ppm 2,41 (d, J=0,66 Гц, 3H) 3,17 (s, 3H) 3,57 (t, J=5,50 Гц, 2H) 4,29 (t, J=5,50 Гц, 2H) 5,50 (s, 2H) 5,82 (s, 2H) 6,03 (d, J=2,86 Гц, 1H) 6,37 (d, J=0,88 Гц, 1H) 7,35 (d, J=2,86 Гц, 1H)	А, 0,69	304
3		<sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, DMSO-d <sub>6</sub> ) δ ppm 2,33-2,38 (m, 3H) 3,79 (s, 3H) 5,34 (s, 2H) 5,38 (s, 2H) 5,75 (s, 1H) 5,86 (s, 2H) 6,12 (d, J=3,08 Гц, 1H) 6,40-6,47 (m, 1H) 6,78 (td, J=7,48, 0,66 Гц, 1H) 7,00 (d, J=7,92 Гц, 1H) 7,24 (td, J=7,80, 1,80 Гц, 1H) 7,43 (d, J=2,86 Гц, 1H)	В, 1,62	366

№	СТРУКТУРА	<sup>1</sup> H ЯМР	Способ ЛС, Rt (МИНУТЫ)	LC-MS Полученная масса (M+H)
4		<sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, DMSO- d <sub>6</sub> ) δ ppm 0,77 (t, J=7,4 Гц, 3H), 1,12 (dq, J=15,0, 7,4 Гц, 2H), 1,40-1,50 (m, 2H), 4,21 (t, J=6,4 Гц, 2H), 5,49 (s, 2H), 5,73 6 (s, 2H), 6,11 (d, J=2,9 Гц, 1H), 6,65 (d, J=7,9 Гц, 1H), 7,21-7,28 (m, 1H), 7,47 (d, J=3,1 Гц, 1H), 7,69 (td, J=7,7, 1,8 Гц, 1H), 8,47-8,53 (m, 1H)	А, 0,81	298
5		<sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, DMSO- d <sub>6</sub> ) δ ppm 2,35 (s, 3H) 5,37 (s, 2H) 5,47 (s, 2H) 5,84-5,90 (m, 3H) 6,14 (d, J=2,86 Гц, 1H) 6,72 (d, J=7,92 Гц, 1H) 7,24 (dd, J=6,93, 4,95 Гц, 1H) 7,52 (d, J=3,08 Гц, 1H) 7,65 (td, J=7,70, 1,76 Гц, 1H) 8,47 (d, J=4,18 Гц, 1H)	В, 1,29	337

№	СТРУКТУРА	<sup>1</sup> H ЯМР	Способ ЛС, Rt (минуты)	LC-MS Полученная масса (M+H)
6		<sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 2,57 (s, 3H) 5,45 (s, 2H) 5,51 (s, 2H) 5,85 (s, 2H) 6,13 (d, J=2,86 Гц, 1H) 6,85 (d, J=7,70 Гц, 1H) 7,22 (dd, J=7,04, 5,06 Гц, 1H) 7,52 (d, J=3,08 Гц, 1H) 7,64 (td, J=7,65, 1,65 Гц, 1H) 8,43 (d, J=4,18 Гц, 1H)	B, 1,14	338
7		<sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 2,36 (s, 3H) 3,74 (s, 3H) 3,71 (s, 3H) 5,29 (s, 2H) 5,40 (s, 2H) 5,85 (s, 2H) 5,93 (s, 1H) 6,12 (d, J=3,08 Гц, 1H) 6,29 (d, J=7,92 Гц, 1H) 7,11 (d, J=7,92 Гц, 1H) 7,50 (d, J=3,08 Гц, 1H)	B, 1,45	397
8		<sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 2,36 (s, 3H) 3,80 (s, 3H) 5,31 (s, 2H) 5,48 (s, 2H) 5,75- 5,81 (m, 3H) 6,07 (d, J=2,86 Гц, 1H) 7,25 (dd, J=8,25, 4,73 Гц, 1H) 7,36-7,41 (m, 2H)	A, 0,72	367

№	СТРУКТУРА	<sup>1</sup> H ЯМР	Способ ЛС, Rt (МИНУТЫ)	LC-MS Полученная масса (M+H)
		7,90 (dd, J=4,73, 0,99 Гц, 1H)		
9		<sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, DMSO-d <sub>6</sub> ) δ ppm 2,23 (d, J=1,10 Гц, 3H) 3,77 (s, 3H) 5,32 (s, 2H) 5,45 (s, 2H) 5,77 (s, 2H) 6,07 (d, J=2,86 Гц, 1H) 6,79 (d, J=1,10 Гц, 1H) 7,21 (dd, J=8,25, 4,73 Гц, 1H) 7,33 (dd, J=8,36, 1,32 Гц, 1H) 7,37 (d, J=2,86 Гц, 1H) 7,88 (dd, J=4,73, 1,21 Гц, 1H)	В, 1,26	367
10		<sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, DMSO-d <sub>6</sub> ) δ ppm 2,34-2,41 (m, 3H) 5,49 (s, 2H) 5,58 (s, 2H) 5,88 (s, 2H) 6,15 (d, J=2,86 Гц, 1H) 6,72 (d, J=7,92 Гц, 1H) 7,20-7,25 (m, 1H) 7,43 (d, J=1,10 Гц, 1H) 7,52 (d, J=2,86 Гц, 1H) 7,63 (td, J=7,70, 1,76 Гц, 1H) 8,46 (dd, J=4,73, 0,77 Гц, 1H)	В, 1,28	353

№	СТРУКТУРА	<sup>1</sup> H ЯМР	Способ LC, Rt (минуты)	LC-MS Полученная масса (M+H)
11		<sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, DMSO- d <sub>6</sub> ) δ ppm 2,24 (s, 3H) 5,39 (s, 2H) 5,43 (s, 2H) 5,85 (s, 2H) 6,13 (d, J=2,86 Гц, 1H) 6,76 (d, J=7,70 Гц, 1H) 6,81 (s, 1H) 7,21 (dd, J=6,93, 5,17 Гц, 1H) 7,52 (d, J=2,86 Гц, 1H) 7,62 (td, J=7,65, 1,43 Гц, 1H) 8,40-8,45 (m, 1H)	В, 1,18	337

#### Аналитические методы

##### LCMS Общая Процедура

Измерения в ходе высокоэффективной жидкостной хроматографии (HPLC) проводили с помощью насоса для LC, детектора на диодной матрице (DAD) или УФ-детектора и колонки, как определено в соответствующих способах. При необходимости включали дополнительные детекторы (см. приведенную ниже таблицу способов).

Поток из колонки направляли в масс-спектрометр (MS), который был оснащен источником ионизации атмосферного давления. В компетенции специалиста в данной области находилась установка настраиваемых параметров (например, диапазона сканирования, минимального времени измерения и т.п.) с целью получения ионов, обеспечивающих определение номинального мономерного молекулярного веса (MW) соединения. Сбор данных проводили с помощью соответствующего программного обеспечения.

Соединения описывали по их экспериментальному времени удерживания (Rt) и ионам. Если не указано иное, в таблице данных

указанный молекулярный ион соответствует  $[M+H]^+$  (протонированная молекула) и/или  $[M-H]^-$  (депротонированная молекула). В случае, если соединение не было непосредственно способно к ионизации, указывали тип аддукта (т.е.  $[M+NH_4]^+$ ,  $[M+HCOO]^-$  и т.п.). Для молекул со сложными изотопными распределениями (Br, Cl..) описанное значение является таковым, которое получено для наименьшей изотопной массы. Все результаты получали с экспериментальными погрешностями, которые обычно ассоциированы с применяемым способом.

Далее в настоящем документе "SQD" означает одиночный квадрупольный детектор, "MSD" означает масс-селективный детектор, "к.т." означает комнатную температуру, "BEH" означает мостиковый гибрид этилсилоксан/диоксид кремния, "DAD" означает детектор на диодной матрице, "HSS" означает диоксид кремния повышенной прочности, "Q-ToF" означает квадрупольные времяпролетные масс-спектрометры, "CLND", означает хемилюминесцентный азотный детектор, "ELSD" означает испарительный детектор светорассеяния,

Коды способов LC-MS (поток выражен в мл/мин.; температура колонки (Col T) в °C; время анализа в минутах)

Код способа	Прибор	Колонка	Подвижная фаза	Градиент	Пото к ---- --- Т коло нки	Время анализа
<b>A</b>	Waters: Acquity® UPLC® -DAD и SQD	Waters: BEH C18 (1,7 мкм, 2,1*50 мм)	А: 10 мМ CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub> в 95% H <sub>2</sub> O + 5% CH <sub>3</sub> CN В: CH <sub>3</sub> CN	От 95% А до 5% А за 1,3 мин., выдержив ание в течение 0,7 мин.	0,8 ---- ---	2

Код способа	Прибор	Колонка	Подвижная фаза	Градиент	Пото к ---- --- Т коло нки	Время анализа
<b>В</b>	Waters: Acquity® UPLC® -DAD и SQD	Waters: HSS T3 (1,8 мкм, 2,1*100 мм)	А: 10 мМ CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub> в 95% H <sub>2</sub> O + 5% CH <sub>3</sub> CN В: CH <sub>3</sub> CN	От 100% А до 5% А за 2,10 мин., до 0% А за 0,90 мин., до 5% А за 0,5 мин.	0,8 ---- --- 55	3,5

Биологическая активность соединений формулы (I) и (II)

Описание биологических анализов

Оценка активности TLR7 и TLR8

Способность соединений активировать TLR7 и/или TLR8 человека оценивали в клеточном анализе репортерного гена с использованием клеток HEK293, временно трансфицированных вектором экспрессии TLR7 или TLR8 и репортерной конструкцией NFκB-luc.

Вкратце, клетки HEK293 выращивали в культуральной среде (DMEM, дополненной 10% FCS и 2 мМ глутамин). Для трансфекции клеток в 15 см чашках клетки отделяли трипсином-EDTA, трансфицировали смесью плазмиды CMV-TLR7 или TLR8 (1700 нг), плазмиды NFκB-luc (850 нг) и трансфекционного реагента и инкубировали в течение 48 ч. при 37°C в увлажненной атмосфере с 5% CO<sub>2</sub>. Трансфицированные клетки затем отмывали в PBS, отделяли трипсином-EDTA и ресуспендировали в среде с плотностью 1,25 x 10<sup>5</sup> клеток/мл. Сорок микролитров клеток затем распределяли в каждую лунку в 384-луночных планшетах, где уже содержалось 200 нл

соединения в 100% DMSO. После 6 часов инкубации при 37°C, 5% CO<sub>2</sub>, определяли люциферазную активность путем добавления в каждую лунку 15 мкл субстрата Steady Lite Plus (Perkin Elmer) и выполняли считывание показаний на устройстве для визуализации микропланшетов ViewLux ultraNTS (Perkin Elmer). Кривые зависимости доза-эффект строили на основе измерений, выполненных в четырех повторностях. Для каждого соединения определяли значения наиболее низких эффективных концентраций (LEC), определяемых как концентрация, которая индуцирует эффект по меньшей мере в два раза превышающий стандартное отклонение анализа.

Токсичность соединений определяли параллельно в 384-луночных планшетах с использованием аналогичной серии разведений соединения с клетками, трансфицированными только конструкцией CMV-TLR7 (1,25 × 10<sup>5</sup> клеток/мл), из расчета 40 мкл на лунку. Жизнеспособность клеток измеряли после 6 часов инкубации при 37°C, 5% CO<sub>2</sub>, путем добавления 15 мкл ATP lite (Perkin Elmer) на лунку и считывания показаний на устройстве для визуализации микропланшетов ViewLux ultraNTS (Perkin Elmer). Данные отмечали в виде CC<sub>50</sub>.

Параллельно использовали аналогичную серию разведения соединения (200 нл соединения в 100% DMSO) с клетками, трансфицированными только репортерной конструкцией NFκB-luc (1,25 × 10<sup>5</sup> клеток/мл), из расчета 40 мкл на лунку. Через шесть часов после инкубации при 37°C, 5% CO<sub>2</sub>, определяли люциферазную активность путем добавления 15 мкл субстрата Steady Lite Plus (Perkin Elmer) в каждую лунку и выполняли считывание показаний на устройстве для визуализации микропланшетов ViewLux ultraNTS (Perkin Elmer). Данные обратного скрининга отмечали в виде LEC.

#### Активация промоторных элементов ISRE

Способность соединений индуцировать IFN-I также оценивали посредством определения активации интерферон-зависимых регуляторных элементов (ISRE) при использовании кондиционированных сред от PBMC. Элемент ISRE с последовательностью GAAACTGAACT высокочувствителен к фактору

транскрипции STAT1-STAT2-IRF9, активируемому после связывания IFN-I с его рецептором IFNAR (Clontech, PT3372-5W). Плазмида pISRE-Luc от Clontech (№ по кат. 631913) содержит 5 копий данного элемента ISRE, за которыми следует ORF люциферазы светлячка. Получали клеточную линию HEK293, стабильно трансфицированную pISRE-Luc (HEK-ISREluc), для анализа кондиционированных сред клеточной культуры PBMC.

Вкратце, PBMC получали из лейкоцитарных пленок по меньшей мере двух доноров с применением стандартного протокола центрифугирования с фиколлом. Выделенные PBMC ресуспендировали в среде RPMI, дополненной 10% сыворотки АВ человека, и  $2 \times 10^5$  клеток/лунка распределяли в 384-луночных планшетах, содержащих соединения (общий объем 70 мкл). После инкубации в течение ночи 10 мкл надосадочной жидкости переносили в 384-луночные планшеты, содержащие  $5 \times 10^3$  клеток HEK-ISREluc/лунка в 30 мкл (высеянных за день до этого). После 24 часов инкубации активацию элементов ISRE измеряли посредством проведения анализа люциферазной активности с использованием 40 мкл/лунка субстрата Steady Lite Plus (Perkin Elmer) и измеряли с помощью устройства для визуализации микропланшетов ViewLux ultraHTS (Perkin Elmer). Стимулирующую активность каждого соединения в отношении клеток HEK-ISREluc отмечали в виде величины LEC, определяемой как концентрация соединения, вносимая на PBMC, которая приводит к люциферазной активности, превышающей по меньшей мере в два раза стандартное отклонение анализа. LEC, в свою очередь, указывает на степень активации ISRE при переносе определенного количества культуральной среды PBMC. Рекомбинантный интерферон  $\alpha$ -2a (Roferon-A) использовали в качестве стандартного контрольного соединения.

Таблица 2. Активность соединений формулы (I).

Все соединения демонстрировали  $CC_{50} > 24$  мкМ.

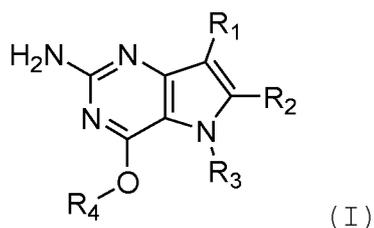
№	TLR 7 человека (LEC), мкМ	TLR 8 человека (LEC) мкМ	HEK-ISRE luc (LEC) мкМ
1	0,6	>25	0,4

№	TLR 7 человека (LEC), мкМ	TLR 8 человека (LEC) мкМ	HEK-ISRE luc (LEC) мкМ
2	2,7	>25	0,5
3	0,1	>25	0,03
4	1,4	>25	0,6
5	0,4	>25	0,1
6	3,9	>25	2
7	0,08	>25	0,03
8	0,03	>25	0,01
9	0,07	>25	NA
10	0,5	>25	NA
11	0,6	>25	NA

NA = данные отсутствуют

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы (I),



и его фармацевтически приемлемая соль, его сольват или полиморф, где

$R_1$  представляет собой H, фтор или метил;

$R_2$  представляет собой H, галоген или  $C_{1-3}$ алкил;

$R_3$  представляет собой  $C_{1-6}$  алкил, необязательно замещенный одним или несколькими заместителями, независимо выбранными из арилокси, гетероцикла, галогена, арила, алкиламино, диалкиламино,  $C_{1-6}$ алкила, карбоновой кислоты, сложного эфира карбоновой кислоты, амида карбоновой кислоты, нитрила или  $C_{1-6}$ алкокси;

или где

$R_3$  представляет собой алкиларил, необязательно замещенный одним или несколькими заместителями, независимо выбранными из галогена, арилокси, арила, алкиламино, диалкиламино,  $C_{1-6}$ алкила, карбоновой кислоты, сложного эфира карбоновой кислоты, амида карбоновой кислоты сульфонамида, нитрила или  $C_{1-6}$ алкокси;

$R_4$  представляет собой  $C_{1-6}$ алкил, необязательно замещенный одним или несколькими заместителями, независимо выбранными из гидроксила,  $C_{1-6}$ алкила,  $C_{3-7}$  циклоалкила,  $C_{2-6}$ алкенила или арила, необязательно дополнительно замещенного  $C_{1-6}$ алкилом, и  $C_{3-7}$  циклоалкила, необязательно дополнительно замещенного  $C_{1-6}$ алкилом;

или где

$R_4$  представляет собой алкиларил, необязательно замещенный одним или несколькими заместителями, независимо выбранными из галогена, арилокси, арила, алкиламино, диалкиламино,  $C_{1-6}$ алкила, карбоновой кислоты, сложного эфира карбоновой кислоты, амида карбоновой кислоты сульфонамида, нитрила или  $C_{1-6}$ алкокси.

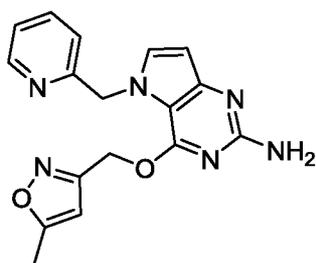
2. Соединение по п. 1, где  $R_3$  представляет собой  $CH_2$ -арильную группу (замещенную или незамещенную), а  $R_1$ ,  $R_2$ , и  $R_4$

описаны в п. 1.

3. Соединение формулы (I), где  $R_3$  и  $R_4$  представляют собой  $\text{CH}_2$ -арильные группы, которые необязательно дополнительно замещены, как описано в п. 1, и где  $R_1$  и  $R_2$  описаны в п. 1.

4. Соединение по п. 1, где  $R_1$  представляет собой фтор,  $R_2$  представляет собой водород, а  $R_3$  и  $R_4$  описаны в п. 1.

5. Соединение по п. 1, имеющее следующую химическую структуру:



(II)

6. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы (I) или (II) или его фармацевтически приемлемую соль, сольват, или полиморф по пп. 1 или 5, вместе с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми наполнителями, разбавителями или носителями.

7. Применение соединения формулы (I) или (II) или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата или полиморфа по п.п. 1 или 5, или фармацевтической композиции, содержащей соединение формулы (I) или (II) или его фармацевтически приемлемую соль, сольват или полиморф, по п. 6 в качестве лекарственного средства.

8. Применение соединения формулы (I) или (II) или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата или полиморфа по п.п. 1 или 5, или фармацевтической композиции, содержащей соединение формулы (I) или (II) или его фармацевтически приемлемую соль, сольват или полиморф, по п. 6 для лечения нарушения, в которое вовлечена модуляция TLR7.

По доверенности