

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **201891099** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки  
**2018.10.31**

(22) Дата подачи заявки  
**2016.11.04**

(51) Int. Cl. **C07D 487/04** (2006.01)  
**A61K 31/519** (2006.01)  
**A61P 31/12** (2006.01)  
**A61P 31/14** (2006.01)  
**A61P 31/20** (2006.01)

(54) **7-(ТИАЗОЛ-5-ИЛ)ПИРРОЛОПИРИМИДА В КАЧЕСТВЕ АГОНИСТА РЕЦЕПТОРА TLR7**

(31) **201510744651.6**

(32) **2015.11.05**

(33) **CN**

(86) **PCT/CN2016/104644**

(87) **WO 2017/076346 2017.05.11**

(71) Заявитель:

**ЧИА ТАЙ ТЯНЬЦИН  
ФАРМАСЬЮТИКАЛ ГРУП КО.,  
ЛТД. (CN)**

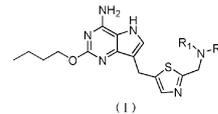
(72) Изобретатель:

**Дин Чжаочжун, Сунь Фей, У Лифан,  
У Хао, Чэнь Шухой, Ян Лин (CN)**

(74) Представитель:

**Медведев В.Н. (RU)**

(57) Настоящее изобретение относится к соединению 7-(тиазол-5-ил)пирролопиримидина в качестве агониста TLR7, в частности относится к соединению, показанному в формуле (I), его фармацевтически приемлемой соли и способу его получения, фармацевтической композиции, содержащей такое соединение, и их применению в изготовлении противовирусного лекарственного средства.



(1)

**201891099**

**A1**

**A1**

**201891099**

## ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-550218ЕА/032

### 7- (ТИАЗОЛ-5-ИЛ) ПИРРОЛОПИРИМИД В КАЧЕСТВЕ АГОНИСТА РЕЦЕПТОРА TLR7

#### Область техники, к которой относится изобретение

Представлено циклическое соединение 7-(тиазол-5-ил)пирролопиримидина или его фармацевтически приемлемая соль в качестве агониста TLR7, который полезен в лечении или предупреждении вирусной инфекции, в частности, вирусной инфекции, обусловленной вирусом гепатита В или гепатита С.

#### Уровень техники

Toll-подобный рецептор экспрессируется различными иммунными клетками и распознает консервативные структурные мотивы: патоген-ассоциированный молекулярный паттерн (PAMP), экспрессируемый патогенами микроорганизмов, или ассоциированные с повреждениями молекулярные паттерны (DAMP), высвобождаемые мертвыми клетками. PAMP или DAMP стимулирует Toll-подобный рецептор для запуска сигнального каскада, который индуцирует активирования транскрипционных факторов, таких как AP-1, NF- $\kappa$ B и регуляторные факторы интерферонов (функцию ответа на импульс). Это приводит к различным клеточным ответам, включая продуцирование интерферонов, провоспалительных цитокинов и эффекторных цитокинов, в результате чего достигается иммунный ответ.

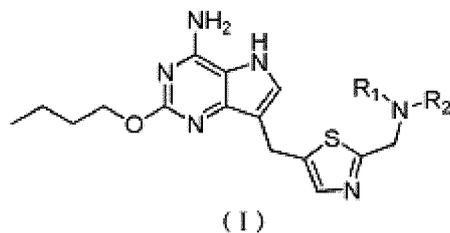
По большей части, у млекопитающего обнаружено 13 типов Toll-подобных рецепторов. Toll-подобные рецепторы 1, 2, 4, 5 и 6, в основном, экспрессируются на поверхности клетки, тогда как Toll-подобные рецепторы 3, 7, 8 и 9 экспрессируются в эндосоме. Различные Toll-подобные рецепторы распознают лиганды, обусловленные различными патогенами. Toll-подобный рецептор 7 (TLR7) экспрессируется, и лиганд распознается плазмодными дендритными клетками (pDC) с индуцированием секреции интерферона  $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ). Toll-подобный рецептор 7 (TLR7) и Toll-подобный рецептор 8 (TLR8) являются высоко гомологичными, и, таким образом, лиганд рецептора TLR7 во многих случаях также является

лигандом рецептора TLR8. Стимуляция рецептора TLR8, в основном, индуцирует продуцирования цитокинов, таких как фактор некроза опухолей  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) и хемоаттрактант. Интерферон  $\alpha$  представляет собой один из основных лекарственных препаратов для лечения хронического гепатита В или гепатита С, тогда как TNF- $\alpha$  представляет собой провоспалительный цитокин, избыточная секреция которых будет давать в результате серьезные побочные эффекты.

Имеются сообщения о нескольких агонистах рецептора TLR7, таких как Имиквимод (Британский журнал по дерматологии (British Journal of Dermatology) 2003; 149 (Suppl. 66): 5-8), Резиквимод (Antiviral Research 64 (2004) 79-83), GS-9620 (Гастроэнтерология (Gastroenterology) (2013), 144(7), 1508-1517). Тем не менее, желательно иметь новые агонисты рецептора TLR7 с более высокими селективностью, активностью и безопасностью.

### Сущность изобретения

В одном аспекте представлено соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль,



где

$R_1$  и  $R_2$ , каждый независимо, выбирают из группы, состоящей из H и  $C_{1-4}$ алкила, или

$R_1$  и  $R_2$  вместе с атомом N, к которому они присоединены, образуют 4-8-членный гетероциклоалкил, где 4-8-членный гетероциклоалкил необязательно замещен одним или более  $R_3$ , где  $R_3$ , каждый независимо, выбирают из группы, состоящей из гидроксила, галогена, цианогруппы,  $C_{1-4}$ алкила и  $C_{1-4}$ алкоксигруппы.

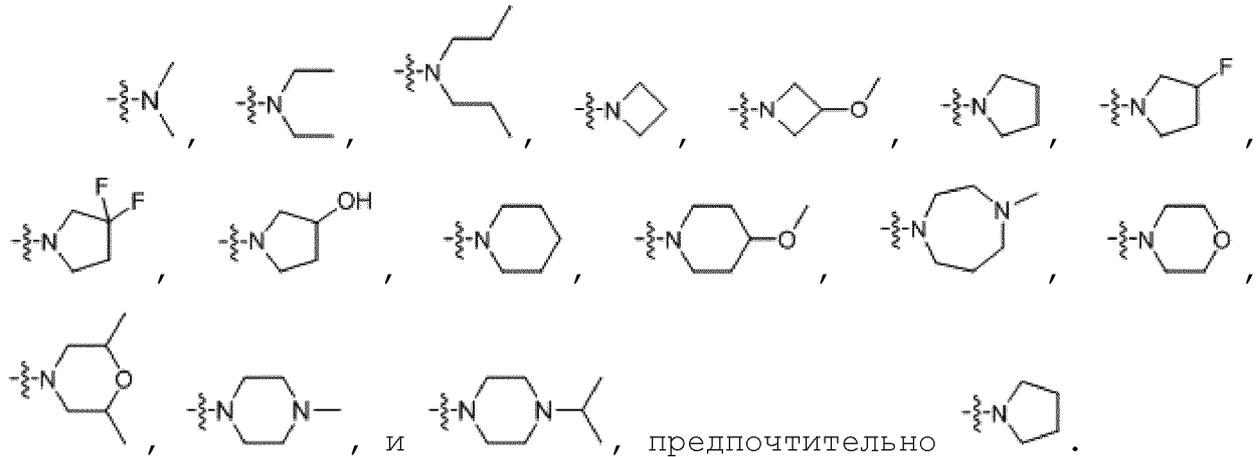
В одном варианте осуществления 4-8-членный гетероциклоалкил может содержать 0, 1, 2 или 3 дополнительных гетероатома, выбранных из группы, состоящей из N, O и S.

В другом варианте осуществления 4-8-членный

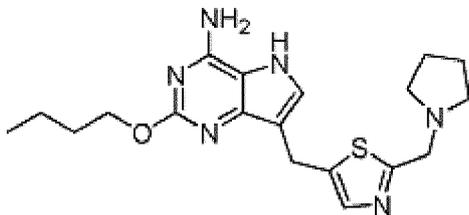
гетероциклоалкил может представлять собой 4-членный, 5-членный, 6-членный, 7-членный или 8-членный гетероциклоалкил.

В другом варианте осуществления  $R_3$  независимо выбирают из группы, состоящей из гидроксила, F, Cl, Br, CN, метила, этила, пропила, метоксила, этоксила и пропоксигруппы.

В конкретном варианте осуществления группу, образованную посредством  $R_1$ ,  $R_2$  вместе с атомом N, к которому они присоединены, выбирают из группы, состоящей из:



В некотором варианте осуществления соединение формулы (I) представляет собой следующее соединение:



В еще одном аспекте представлена фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы (I) и/или его фармацевтически приемлемую соль, и один или более фармацевтически приемлемых носителей и/или эксципиентов. Фармацевтическая композиция может, кроме того, необязательно содержать один или более дополнительных терапевтических агентов.

В другом аспекте представлен способ лечения или предупреждения вирусной инфекции, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли, или фармацевтической композиции согласно изобретению, в терапевтически или профилактически эффективном количестве.

В дополнительном аспекте представлено применение соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли, или фармацевтической композиции согласно изобретению, для получения лекарственного средства для лечения или предупреждения вирусной инфекции.

В еще одном аспекте представлено соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль, или фармацевтическая композиция согласно изобретению для применения в лечении или предупреждении вирусной инфекции.

В некоторых вариантах осуществления согласно изобретению вирусная инфекция представляет собой вирусную инфекцию, протекающую как вирус лихорадки Денге, вирус желтой лихорадки, вирус Западного Нила, вирус японского энцефалита, вирус клещевого энцефалита, вирус Кунджин, вирус энцефалита долины Муррея, вирус энцефалита Сент-Луис, вирус омской геморрагической лихорадки, вирус диареи крупного рогатого скота, вирус Зика, или вирус гепатита. В предпочтительном варианте осуществления вирусная инфекция представляет собой вирусную инфекцию гепатита. В дополнительном предпочтительном варианте осуществления, вирусная инфекция представляет собой вирусную инфекцию гепатита В или гепатита С.

#### **Краткое описание чертежей**

Фигура 1: Результаты фармакодинамического испытания *in vivo* на мышинной модели, инфицированной AAV-несущим вирусом гепатита В (уровень копий поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg) в плазме крови).

Фигура 2: Результаты фармакодинамического испытания *in vivo* на мышинной модели, инфицированной AAV-несущим вирусом гепатита В (уровень копий ДНК вируса гепатита В (HBV DNA) в плазме крови).

Фигура 3: Результаты фармакодинамического испытания *in vivo* на мышинной модели, инфицированной AAV-несущим вирусом гепатита В (уровень продуцирования антител к поверхностному антигену вируса гепатита В (Anti-HBsAb) в плазме крови).

#### **Подробное описание**

##### **Общие определения и термины**

Если не установлено иное, то термины и фразы, используемые

в данном документе, имеют следующее значение. Конкретный термин или конкретную фразу не следует считать неясной или неопределенной в том случае, когда он/она конкретно не определен(-а). Его/ее следует понимать согласно общепринятому значению. Торговое наименование, используемое в данном документе, относится к соответствующему продукту или активному ингредиенту.

При использовании числовой переменной, термин "приблизительный" или "около" обычно относится к значению переменной и ко всем значениям переменной в пределах экспериментальной ошибки (например, в пределах доверительного интервала для среднего с доверительной вероятностью 95%) или в пределах  $\pm 10\%$  относительно заданного значения, или в более широком диапазоне.

Выражение "включать в состав" или его синонимы "содержать", "включать", "иметь" или тому подобное является неограничивающим термином, который не исключает другие неперечисленные элементы, стадии или ингредиенты. Выражение "состоит из" исключает любые неперечисленные элементы, стадии или ингредиенты. Выражение "по существу состоит из" относится к заданным элементам, стадиям или ингредиентам в пределах заданного диапазона, наряду с необязательными элементами, стадиями или компонентами, которые по существу не затрагивают основной и новый признак заявленного предмета. Следует понимать, что выражение "включать в состав" охватывает выражения "по существу состоит из" и "состоит из".

Термин "необязательный" или "необязательно" означает, что описываемое явление, идущее за ним, может случиться или может не случиться. Этот термин охватывает случаи, когда явление может случиться или может не случиться. Например, выражение, касающееся того, что этил "необязательно" замещен галогеном, означает, что этил является незамещенным ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), монозамещенным (например,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{F}$ ), полизамещенным (например,  $\text{CHFCH}_2\text{F}$ ,  $\text{CH}_2\text{CHF}_2$  и так далее), или является полностью замещенным ( $\text{CF}_2\text{CF}_3$ ). Специалисту в данной области также следует учитывать

тот факт, что, в отношении любой группы, содержащей один или более заместителей, замещение или вариант замещения, которое (-ый) не может существовать в пространстве и/или не может быть осуществлено в результате синтеза, не будет вводиться.

Термин  $C_{m-n}$ , используемый в данном документе, означает, что фрагмент имеет  $m-n$  атомов углерода. Например, " $C_{1-4}$ алкил" означает, что упомянутый алкил имеет 1-4 атома углерода.

Диапазон числовых значений в контексте данного документа относится к каждому из целых чисел в этом диапазоне и из поддиапазонов, составленных этими целыми числами. Например, " $C_{1-4}$ " означает, что упомянутая группа может иметь 1 атом углерода, 2 атома углерода, 3 атома углерода или 4 атома углерода. В соответствии с этим, " $C_{1-4}$ алкил" охватывает " $C_{2-3}$ алкил", " $C_{1-3}$ алкил", " $C_{2-4}$ алкил", а также  $C_1$ алкил,  $C_2$ алкил,  $C_3$ алкил,  $C_4$ алкил или тому подобное.

Термин "замещенный" означает, что любой один или более атомов водорода на данном атоме заменен(-ы) на заместитель(-и), при условии, что валентность данного атома является нормальной, и соединение после замещения является стабильным.

В том случае, когда любая переменная (например, R) появляется в композиции или в структуре соединения однократно, ее определяют независимо в каждом случае. Так, например, если группа замещена посредством 0-2 R, то группа может быть необязательно замещена самое большее двумя R, и R имеет независимый вариант в каждом случае. Кроме того, комбинация заместителей и/или ее варианты допускаются только, если такая комбинация будет давать в результате стабильное соединение.

Если не установлено иное, то термин "гетеро" означает гетероатом или гетероатомную радикальную группу (то есть, радикальную группу, содержащую гетероатом), то есть, атомы кроме атомов углерода и водорода или радикальную группу, содержащую такие атомы. Предпочтительно, гетероатом независимо выбирают из группы, состоящей из O, N, S и тому подобного. В некотором варианте осуществления, где включены два или более гетероатомов, эти два или более гетероатомов могут быть одинаковыми, или часть

или все из этих двух или более гетероатомов могут отличаться.

Термин "галогено-" или "галоген" относится к F, Cl, Br или I.

Термин "гидроксил" относится к группе -ОН.

Термин "циано" относится к группе -СN.

Термин "алкил" относится к линейной или разветвленной насыщенной алифатической гидрокарбильной группе, состоящей из атомов углерода и водорода, которая связана с остальной частью молекулы одинарной связью. Неограничивающие примеры C<sub>1-4</sub>алкила включают метил, этил, пропил, изопропил, н-бутил, изобутил, втор-бутил и трет-бутил, но не ограничиваются этим.

Термин "C<sub>1-4</sub>алкоксигруппа" относится к "C<sub>1-4</sub>алкилу", который соединен с остальной частью молекулы посредством "-О-", где "C<sub>1-4</sub>алкил" определен так же, как упомянуто выше.

Термин "гетероциклоалкил" относится к насыщенной группе моноциклической или полициклической системы, где часть кольцевых атомов представляют собой гетероатомы, выбранные из группы, состоящей из N, O, S, а остальные из кольцевых атомов являются C. В соответствии с этим, термин "4-8-членный гетероциклоалкил" относится к гетероциклоалкилу, содержащему 4~8 кольцевых атомов в системе, где один или более кольцевых атомов представляют собой гетероатомы, выбранные из группы, состоящей из N, O, S. Примеры 4-членного гетероциклогидрокарбила включают азетидинил, но не ограничиваются этим. Примеры 5-членного гетероциклоалкила включают пирролидинил, изоксазолидинил, оксазолидинил, изотиазолидинил, тиазолидинил, имидазолидинил, но не ограничиваются этим. Примеры 6-членного гетероциклогидрокарбила включают пиперидинил, морфолинил, пиперазинил, но не ограничиваются этим. Примеры 7-членного гетероциклогидрокарбила включают азабициклопентанил, оксазабицикло[2.2.1]гептил, или тому подобное, но не ограничиваются этим.

Термин "фармацевтически приемлемый" относится к соединению, материалу, композиции и/или лекарственной форме, которые входят в объем достоверного медицинского представления, подходят для контакта с тканями человека и животного, без излишней

токсичности, раздражения, аллергической реакции или других проблем или осложнений и имеют приемлемое соотношение польза/риск.

Термин "фармацевтическая композиция" относится к активному соединению (например, соединению формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли), которое необязательно комбинируется с одним или более фармацевтически приемлемыми химическими компонентами (например, с носителем и/или эксципиентом, но не ограничивается этим).

Термин "фармацевтически приемлемый носитель" относится к тем носителям, которые не вызывают значительное раздражение и не ухудшают биоактивность и свойство активного соединения. "Фармацевтически приемлемый носитель" относится к инертному веществу, которое вводят вместе с активным ингредиентом и благотворно влияет на введение активного ингредиента, и включает любое из нижеприведенных веществ, одобренных Государственным управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств для применения на человеке или животном (например, на скоте): вещество, способствующее скольжению, подслащающий агент, разбавитель, консервант, краситель/окрашивающее вещество, ароматизирующий (вкусовой) агент, поверхностно-активное вещество, смачивающий агент, диспергирующее вещество, разрыхлитель, суспендирующий агент, стабилизирующий агент, изотонический агент, растворитель или эмульгирующий агент, но не ограничивается этим. Неограничивающие примеры носителей включают карбонат кальция, фосфат кальция, различные сахара и крахмалы, производное целлюлозы, желатин, растительное масло и полиэтиленгликоль или тому подобное. Другую информацию, касающуюся носителей, можно найти в справочнике Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Ed., Lippincott, Williams & Wilkins (2005), содержание которого включено в данный документ посредством ссылки. Термин "эксципиент", как правило, относится к несущей лекарственное вещество среде, разбавителю и/или среде, используемой для составления эффективной фармацевтической композиции.

Термин "введение" или "осуществление введения" или тому подобное относится к способу, который обеспечивает доставку соединения или композиции в желательное место биологического действия. Такие способы включают пероральное, парентеральное (включая внутривенную, подкожную, интраперитонеальную, внутримышечную, внутрисосудистую инъекцию или инфузию), местное, ректальное введение или тому подобное, но не ограничиваются этим.

В отношении фармацевтического или фармакологического активного агента, термин "эффективное количество", "терапевтически эффективное количество" или "профилактически эффективное количество" относится к количеству лекарственного препарата или средства, которое не является токсичным, но является достаточным для достижения желательного эффекта. Касательно перорального состава в данном документе, "эффективное количество" для активного вещества в композиции относится к количеству, которое требуется для достижения желательного эффекта в комбинации с другим активным веществом в композиции. Эффективное количество может быть определено в индивидуальном порядке и зависит от возраста и общего состояния принимающего его субъекта, а также от конкретного активного вещества. Эффективное количество в конкретном случае может быть определено специалистом в данной области посредством проведения обычного теста.

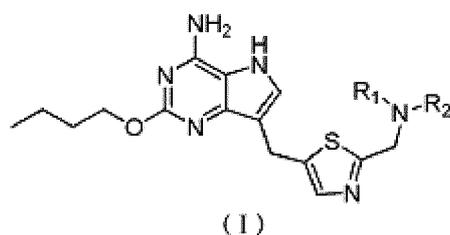
Термин "активный ингредиент", "терапевтический агент", "активное вещество" или "активный агент" относится к химическому соединению, полезному для эффективного лечения или предупреждения установленного (намеченного) расстройства, заболевания или состояния.

"Защитная группа" относится к типу заместителя, который применяется для блокирования или защиты некоторой функциональности (функциональной группы) при протекании реакции с другими функциональными группами в соединении. Например, "амино-защитная группа" представляет собой заместитель,

присоединенный к аминогруппе, который блокирует или защищает амино-функциональность в соединении. Подходящие амино-защитные группы включают ацетил, трифторгруппу, трет-бутоксикарбонил (BOC), бензилоксикарбонил (CBZ), 9-флуоренилметил-хлорформат (Fmoc), 2-(триметилсилил)этоксилметил (SEM), и тому подобное, но не ограничиваются этим. Общее описание защитных групп и их применение можно найти в руководстве Greene and Wuts, *Protective Groups In Organic Synthesis*, Wiley and Sons, 1991.

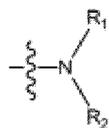
Соединение согласно изобретению

Представлено соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль,

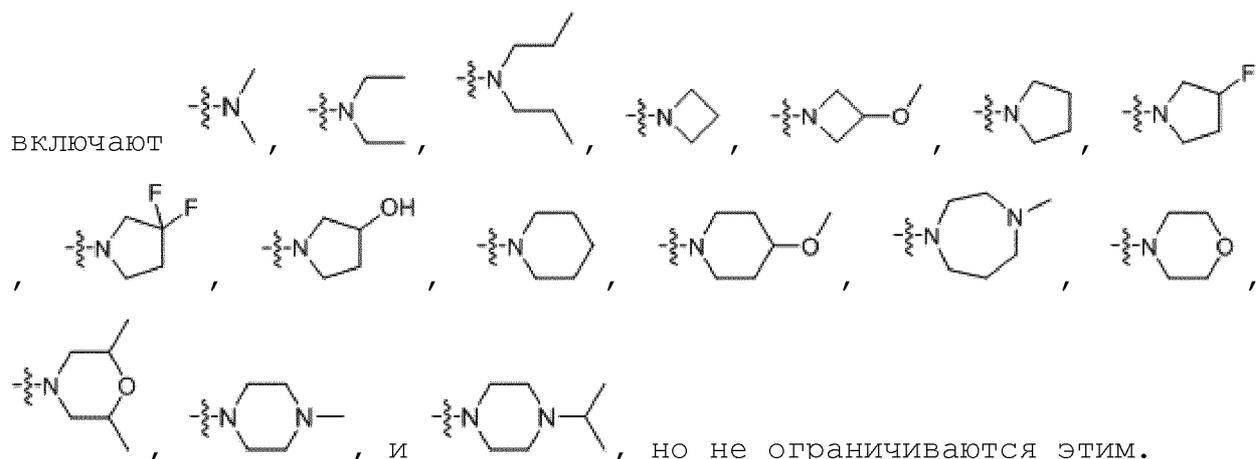


где каждая из групп определена так же, как упомянуто выше.

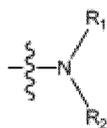
Выражение "группа, образованная посредством  $R_1$ ,  $R_2$  вместе с атомом N, к которому они присоединены" относится к группе,



образованной фрагментом

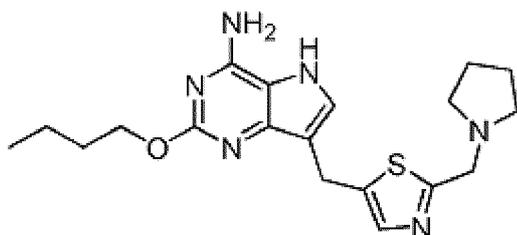


Дополнительный(-ые) гетероатом(-ы) в выражении "4-8-членный гетероциклоалкил может содержать 0, 1, 2 или 3 дополнительных гетероатома, выбранные из группы, состоящей из N, O и S" относится(-ются) к гетероатому(-ам), отличному(-ым) от атома N



во фрагменте  $\text{---N(R}_1\text{)(R}_2\text{)}$ . Предпочтительно, дополнительный гетероатом может быть выбран из группы, состоящей из N, O и S, и число может составлять 0, 1, 2 или 3.

В предпочтительном варианте осуществления, представлено соединение следующей формулы:



Следует понимать, что соединение согласно изобретению может присутствовать в форме фармацевтически приемлемой соли. В качестве фармацевтически приемлемой соли, например, могут быть упомянуты следующие примеры: соли металлов, аммониевые соли, соли, образованные органическими основаниями, неорганические кислоты, органические кислоты, основные или кислотные аминокислоты или тому подобное. Неограничивающие примеры солей металлов включают соли щелочных металлов, например, натриевую соль, калиевую соль или тому подобное; соли щелочноземельных металлов, например, кальциевую соль, магниевую соль, бариевую соль или тому подобное; алюминиевую соль или тому подобное, но не ограничиваются этим. Неограничивающие примеры солей, образованных органическими основаниями, включают соли, образованные триметиламином, триэтиламином, пиридином, метилпиридином, 2,6-диметилпиридином, этаноламином, диэтанолламином, триэтанолламином, циклогексиламином, дициклогексиламином или тому подобным, но не ограничиваются этим. Неограничивающие примеры солей, образованных неорганическими кислотами, включают соли, образованные хлористоводородной кислотой, бромистоводородной кислотой, азотной кислотой, серной кислотой, фосфорной кислотой или тому подобным, но не ограничиваются этим. Неограничивающие примеры солей, образованных органическими кислотами, включают соли, образованные муравьиной кислотой, уксусной кислотой,

трифторуксусной кислотой, фумаровой кислотой, щавелевой кислотой, яблочной кислотой, малеиновой кислотой, тартаровой кислотой, лимонной кислотой, янтарной кислотой, метансульфоновой кислотой, бензолсульфоновой кислотой, пара-толуолсульфоновой кислотой или тому подобным, но не ограничиваются этим. Неограничивающие примеры солей, образованных основными аминокислотами, включают соли, образованные аргинином, лизином, орнитином или тому подобным, но не ограничиваются этим. Неограничивающие примеры солей, образованных кислотными аминокислотами, включают соли, образованные аспарагиновой кислотой, глутаминовой кислотой или тому подобным, но не ограничиваются этим.

Фармацевтически приемлемые соли согласно изобретению могут быть получены из исходного соединения, содержащего кислотную или основную группу, с применением обычных химических методик. Как правило, такие соли могут быть получены проведением реакции между соединениями в форме свободной кислоты или основания со стехиометрическим количеством соответственного основания или кислоты в воде, органическом растворителе или их смеси. Обычно, предпочтительны неводные среды, такие как простой эфир, этилацетат, этанол, изопропанол или ацетонитрил, и прочие.

Соединение согласно изобретению может иметь один или более стехиометрических центров, и каждый из этих центров может существовать в конфигурации R или S или в конфигурации, представляющей собой их комбинацию. Таким образом, соединения согласно изобретению включают все индивидуальные конфигурационные стереоизомерные формы, изомерные формы положения, диастереомерные формы, энантиомерные формы и эпимерные формы, а также их соответствующие смеси. Технология обращения конкретной конфигурации стереоизомерного центра или сохранения ее неизменной, а также технология разделения смесей стереоизомеров хорошо известны в данной области, и специалист в данной области может выбрать конкретную методику согласно конкретным требованиям.

Соединения согласно изобретению могут существовать в несольватированных или сольватированных формах, включая

гидратную форму. В большинстве случаев, сольватированные формы эквивалентны несольватированным формам, и обе из них входят в объем данного изобретения. Соединения согласно изобретению могут существовать в полиморфных или аморфных модификациях, и такие модификации попадают в объем данного изобретения.

Соединение согласно изобретению может содержать атомный изотоп в соотношении, не встречающемся в природе, на одном или нескольких атомах, составляющих упомянутое соединение. Например, соединение может быть подвергнуто мечению радиоизотопом, таким как Тритий ( $^3\text{H}$ ), Иод-125 ( $^{125}\text{I}$ ) или С-14 ( $^{14}\text{C}$ ). Альтернирование всех радиоизотопов соединения, радиоактивных или нерадиоактивных, охватывается объемом данного изобретения.

Настоящее изобретение также охватывает любое фармацевтически приемлемое производное соединений согласно формуле (I), например, сложный эфир, соль сложного эфира. Особенно предпочтительным производным является пролекарство. После введения субъекту, такое производное может непосредственно или опосредованно обеспечить соединение согласно изобретению или его метаболит или остаток с фармацевтической активностью. Особенно предпочтительное производное (например, пролекарство) представляет собой соединение, которое после введения субъекту, будет повышать биодоступность соединения согласно изобретению или улучшать доставку родоначального соединения в ткани или органы живого организма.

#### Введение, Фармацевтическая Композиция и Набор

Представлены способ лечения или предупреждения вирусной инфекции, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли, или фармацевтической композиции согласно изобретению в терапевтически или профилактически эффективном количестве. Способ может необязательно включать введение одного или более дополнительных активных агентов для лечения или предупреждения вирусной инфекции.

Альтернативно, представлено применение соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли, или фармацевтической композиции согласно изобретению для лечения или

предупреждения вирусной инфекции. В конкретном варианте осуществления, соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль может быть применено(-а) в комбинации с одним или более дополнительными активными агентами для лечения или предупреждения вирусной инфекции.

Альтернативно, представлены соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль, или фармацевтическая композиция согласно изобретению для применения в лечении или предупреждении вирусной инфекции. В конкретном варианте осуществления, соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль может быть применено(-а) в комбинации с одним или более дополнительными активными агентами для лечения или предупреждения вирусной инфекции.

В некоторых вариантах осуществления согласно изобретению, вирусная инфекция представляет собой вирус лихорадки Денге, вирус желтой лихорадки, вирус Западного Нила, вирус японского энцефалита, вирус клещевого энцефалита, вирус Кунджин, вирус энцефалита долины Муррея, вирус энцефалита Сент-Луис, вирус омской геморрагической лихорадки, вирус диареи крупного рогатого скота, вирус Зика, или вирус гепатита. В предпочтительном варианте осуществления, вирусная инфекция представляет собой вирусную инфекцию гепатита, в частности, вирусную инфекцию гепатита В или гепатита С.

Также представлена фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль, и один или несколько фармацевтически приемлемых носителей и/или эксципиентов. Фармацевтическая композиция может дополнительно необязательно включать в состав один или более дополнительных активных агентов.

Фармацевтическая композиция согласно изобретению может быть получена в результате комбинирования соединения согласно изобретению или его соли с фармацевтически приемлемым носителем. Например, она может быть получена в виде твердого, мягкого, жидкого или газообразного состава, такого как таблетка, пилюля, капсула, порошок, гранула, мазь, эмульсия, суспензия, раствор, суппозиторий, инъекционный препарат, ингаляционный препарат,

гель, микросфера, аэрозоль или тому подобное.

Фармацевтическая композиция согласно изобретению может быть получена с применением хорошо известных в данной области способов, таких как обычное смешивание, растворение, гранулирование, нанесение оболочки на драже, растирание в порошок в жидкой фазе или во влажном состоянии, эмульгирование, лиофильная сушка или тому подобное.

Типичные пути введения соединения согласно изобретению или его фармацевтически приемлемой соли или его стереоизомера или фармацевтической композиции на его основе включают пероральное, ректальное, трансмукозальное, энтеральное введение или местное, чрескожное, ингаляционное, парентеральное, сублингвальное, интравагинальное, интраназальное, внутриглазное, интраперитонеальное, внутримышечное, подкожное, внутривенное введение, но не ограничиваются этим.

Что касается перорального введения, то активные соединения могут быть смешаны с фармацевтически приемлемыми носителями, хорошо известными в данной области в приготовлении фармацевтической композиции. Носители могут быть использованы для приготовления содержащих соединения согласно изобретению лекарственных форм, таких как таблетка, пилюля, пастилка, драже, капсула, жидкость, гель, взвесь, суспензия или тому подобное, полезных для перорального введения пациенту.

Твердая пероральная композиция может быть получена с применением обычных технологий смешивания, заполнения или прессования, например, с применением следующих процессов: смешивания активных соединений с твердыми эксципиентами, необязательного измельчения получающейся в результате смеси, добавления других подходящих адъювантов, при необходимости, и затем переработки смеси в гранулы с получением, таким образом, сердцевин таблетки или драже. Подходящие адъюванты включают связующее, разбавитель, разрыхлитель, скользящее вещество, вещество, способствующее скольжению (регулятор сыпучести), подсластитель, корригент или тому подобное, но не ограничиваются этим. Дополнительные примеры включают микрокристаллическую целлюлозу, раствор глюкозы, гель из аравийской камеди, раствор

желатина, сахарозную и крахмальную пасту; тальк, крахмал, стеарат магния, стеарат кальция или стеариновую кислоту; лактозу, сахарозу, крахмал, маннит, сорбит или дикальций-фосфат; диоксид кремния; кроскармеллозу натрия, предварительно желатинизированный крахмал, крахмалгликолят натрия, альгиновую кислоту, кукурузный крахмал, картофельный крахмал, метилцеллюлозу, агар, карбоксиметилцеллюлозу, перекрестно-сшитый поливинилпирролидон или тому подобное. Сердцевина драже необязательно может быть покрыта оболочкой с применением хорошо известных технологий в обычной фармацевтической практике, в частности, с применением нанесения энтэросолюбильного покрытия.

Фармацевтическая композиция согласно изобретению может быть полезной для парентерального введения, например, в виде подходящей единичной дозированной лекарственной формы, такой как стерильный раствор, суспензия или лиофилизированный продукт. Могут быть использованы подходящие эксципиенты, такие как наполнитель, буферный раствор или поверхностно-активное вещество.

Соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль согласно изобретению может быть введено (-а) любым подходящим путем и способом, например, путем перорального или парентерального введения (например, путем внутривенного введения). Терапевтически или профилактически эффективное количество соединения формулы (I) может находиться в диапазоне от приблизительно 0,0001 до 20 мг/кг массы тела/сутки, например, от 0,001 до 10 мг/кг массы тела/сутки.

Частота приема соединения формулы (I) зависит от потребностей индивидуального пациента, например, может составлять один или два или более раз в день. Введение может быть прерывистым, например, в течение периода нескольких дней пациент получает суточную дозу соединения формулы (I), а затем в течение периода нескольких дней или более длительного периода времени пациент не получает суточную дозу соединения формулы (I).

Также представлена фармацевтическая комбинация, например, набор, который включает а) первый активный агент, который

представляет собой соединение, которое раскрывают в данном документе; b) один или более дополнительных активных агентов. Фармацевтическая комбинация может включать, при необходимости, инструкции для ее введения. При необходимости, вышеупомянутые a) и b) могут быть обеспечены в одном и том же контейнере или в различных контейнерах. Фармацевтическая комбинация может дополнительно включать агенты для содействия введению в одном и том же контейнере или в различных контейнерах, например, фармацевтически приемлемые носители и/или эксципиенты, которые упомянуты выше. Необязательно, набор может включать блок для диагностики вирусной инфекции (например, вышеупомянутые вирусные инфекции).

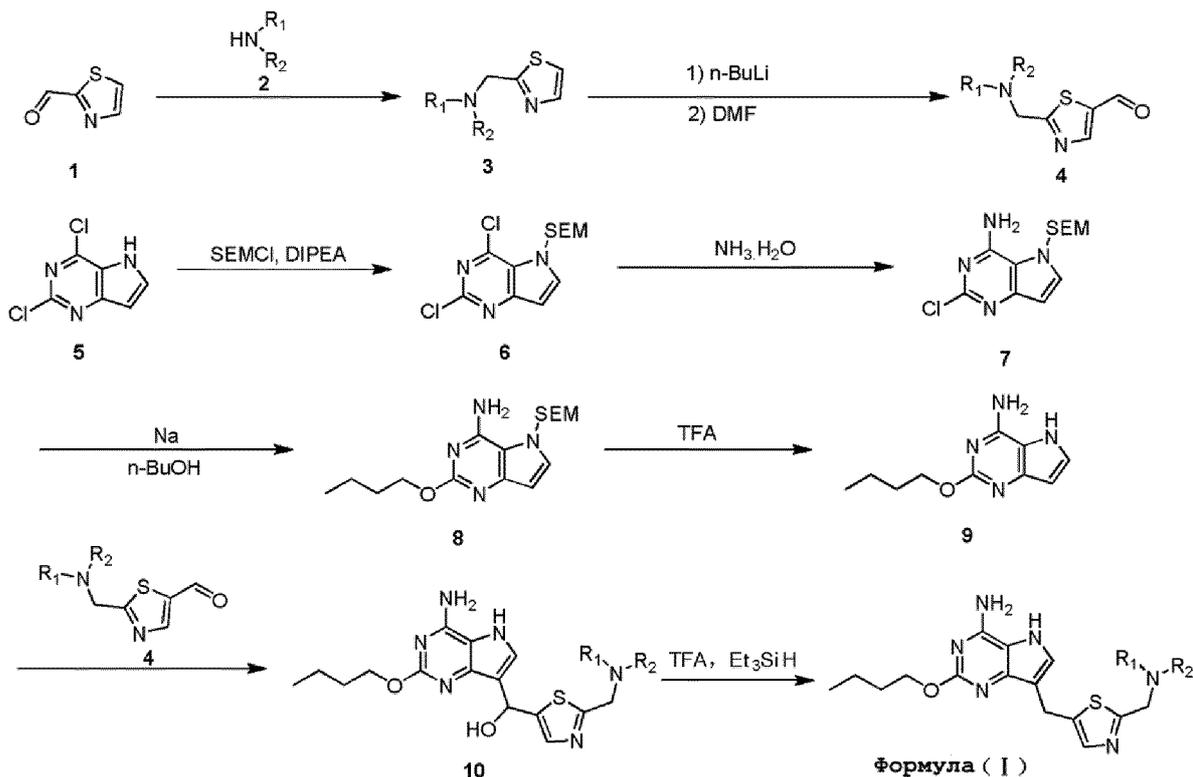
#### Синтез и получение

Соединение согласно изобретению может быть получено с применением различных способов синтеза, хорошо известных специалисту в данной области, включая конкретные варианты осуществления, проиллюстрированные ниже, варианты осуществления с использованием комбинации таких конкретных вариантов осуществления с другими способами синтеза химических соединений, а также эквиваленты, хорошо известные специалисту в данной области. Предпочтительные варианты осуществления включают действующие образцы, предложенные в этом документе, но не ограниченные этим. Химическая реакция конкретного варианта осуществления согласно изобретению может быть проведена в соответствующем растворителе, который должен подходить для химического изменения и требуемого реагента и материала согласно изобретению. Для получения соединения согласно изобретению, иногда специалисту в данной области нужно проводить модификацию или подбор стадии синтеза или реакционной методики на основе известных вариантов осуществления.

Важным фактором в разработке любой схемы синтеза в данной области техники является выбор подходящей защитной группы для реакционноспособной группы (например, для аминогруппы в настоящем изобретении). Специалист в данной области может обратиться к руководству "Protective Groups in Organic

Synthesis", Wiley and Sons, 1991 by Greene and Wuts. Указанные выше ссылочные документы включены в настоящую заявку посредством ссылки во всей полноте.

Например, соединение общей формулы (I) согласно изобретению может быть получено специалистом в области органического синтеза с использованием стандартных процедур в соответствии со следующей схемой:



Получение соединения формулы 4: соединение формулы 1 в качестве исходного вещества подвергают реакции с соединением формулы 2 с использованием реакции конденсации, что дает соединение формулы 3, которое используют в получении соединения формулы 4 под действием н-бутиллития и DMF.

Получение соединения формулы (I): соединение формулы 5, защищенное SEM-группой, используют в получении соединения формулы 6, которое подвергают аминозамещению с получением соединения формулы 7; соединение формулы 7 подвергают реакции с н-бутанолом под действием Na с получением соединения формулы 8, которое подвергают снятию SEM-защитной группы под действием TFA с получением соединения формулы 9; соединение формулы 9 подвергают реакции с соединением формулы 4 с получением

соединения формулы 10, которое подвергают удалению гидроксила с получением соединения формулы (I).

Используемые здесь растворители являются коммерчески доступными и могут быть использованы без дополнительной очистки. Реакции, как правило, проводят в инертном азоте в безводном растворителе. Данные протонного магнитного резонанса получают с помощью спектрометра Bruker Avance III 400 (400 МГц), с химическим сдвигом, показанным в (м.д. (ppm)) в слабом поле относительно тетраметилсилана. Масс-спектрометрию осуществляют на приборе Agilent 1200 plus 6110 (&1956A). Хромато-масс-спектрометр LC/MS или Shimadzu MS включает диодно-матричный детектор: SPD-M20A(LC) и детектор Shimadzu Micromass 2020. Масс-спектрометр снабжен электрораспылительной ионизацией (ESI), работающей в положительном или отрицательном режиме.

Названия соединений получают вручную или с использованием программного обеспечения ChemDraw®. Используют названия коммерчески доступных соединений, приведенные в каталоге поставщика.

Анализ методом высоко-эффективной жидкостной хроматографии проводят на системе Shimadzu LC20 AB, снабженной автоматическим пробоотборником Shimadzu SIL-20A и японским диодно-матричным детектором Shimadzu: детектором SPD-M20 A, на хроматографической колонке Xtimate C18 (наполнитель 3мкм, 2,1×300 мм). Способ 0-60AB\_б мин: применяют линейный градиент, где элюирование начинают со 100%A (A представляет собой водный раствор с 0,0675% TFA) и завершают с 60%B (B представляет собой раствор с 0,0625% TFA в MeCN) (общее время процесса составляет 4,2 мин), и затем 60% B используют для элюирования в течение 1 мин. Хроматографическую колонку затем уравнивают в течение 0,8 мин для достижения соотношения 100:0, и общая продолжительность цикла составляет 6 мин. Способ 10-80AB\_6 мин: применяют линейный градиент, где элюирование начинают с 90% A (A представляет собой водный раствор с 0,0675% TFA) и завершают с 80% B (B представляет собой раствор с 0,0625% TFA в ацетонитриле) (общее время процесса составляет 4,2 мин), и затем 80% B используют для

элюирования в течение 1 мин. Хроматографическую колонку затем уравнивают в течение 0,8 мин для достижения соотношения 90:10, и общая продолжительность цикла составляет 6 мин. Температура колонки составляет 50°C, и скорость составляет 0,8 мл/мин. Сканирование диодно-матричного детектора происходит в диапазоне длин волн 200-400 нм.

Анализ методом тонкослойной хроматографии (TLC) осуществляют на силикагеле GF254 от Sanpont-group. Детекцию пятен осуществляют, как правило, в УФ-свете, и в некоторых случаях также могут быть использованы другие способы. В этих случаях тонко-слойную пластину покрывают иодом (около 1 г иода добавляют в 10 г силикагеля при полном смешивании), ванилиновым альдегидом (около 1 г ванилинового альдегида растворяют в 100 мл 10%  $H_2SO_4$ ), нингидрином (доступен в Aldrich) или конкретным проявителем (полностью смешивают  $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$ , 5 г  $(NH_4)_2Ce(IV)(NO_3)_6$ , 450 мл  $H_2O$  и 50 мл концентрированной  $H_2SO_4$ ) и осуществляют детектирование соединения. С использованием способа, подобного тому, который описан в публикации Still, W. C.; Kahn, M.; and Mitra, M. *Journal of Organic Chemistry*, 1978, 43, 2923-2925, осуществляют колоночную флэш-хроматографию на силикагеле размером 40-63 мкм (меш 230-400) от Silicycle. Обычные растворители в колоночной флэш-хроматографии или тонкослойной хроматографии включают смесь дихлорметан/метанол, этилацетат/метанол и гексан/этилацетат.

Анализ методом препаративной хроматографии осуществляют на системе Gilson-281 Prep LC 322 с детектором Gilson UV/VIS-156, и хроматографическая колонка представляет собой колонку Agella Venusil ASB Prep C18, 5 мкм, 150×21,2 мм; Phenomenex Gemini C18, 5 мкм, 150×30 мм; Boston Symmetrix C18, 5 мкм, 150×30 мм; или Phenomenex Synergi C18, 4 мкм, 150×30 мм. Используют смесь ацетонитрил/вода с низким градиентом для элюирования соединения, когда скорость составляет около 25 мл/мин, где вода содержит 0,05%  $HCl$ , 0,25%  $HCOOH$  или 0,5%  $NH_3 \cdot H_2O$ , и общая продолжительность цикла составляет 8-15 мин.

В данном документе используют следующие сокращения: n-BuLi:

н-бутиллитий; THF: тетрагидрофуран; SEM: 2-(триметилсилил)этоксил-метил; DIPEA: диизопропилэтиламин; IPA: изопропанол; TFA: трифторуксусная кислота; DMF: N,N-диметилформамид; n-BuOH: н-бутанол; Et<sub>3</sub>SiH: триэтилсилан.

### Преимущественный эффект

Соединения согласно изобретению имеют высокую активность связывания с Toll-подобным рецептором 7 и низкую активность связывания с Toll-подобным рецептором 8, показывая более высокие селективность, активность и безопасность, а также более слабый побочный эффект, и могут быть применены для эффективного лечения и предупреждения вирусной, в частности, вирусной инфекции гепатита В или гепатита С.

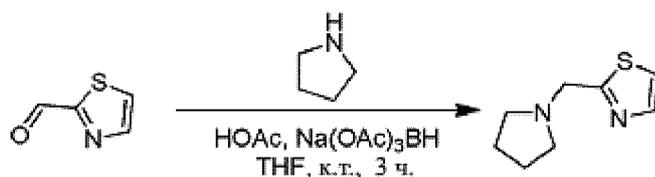
### Примеры

Следующие Примеры представлены для специалиста в данной области с тем, чтобы ясно проиллюстрировать и осуществить на практике изобретение. Они являются иллюстративными и приводятся только в качестве примера и не должны восприниматься как ограничение объема изобретения. Если не установлено иное, соотношения (включая процентные содержания) или части даны в расчете на массу.

#### **Пример 1:**

2-бутокси-7-(2-(пирролидин-1-илметил)тиазол-5-ил)метил)-5Н-пирроло[3,2-d]пиримидин-4-амин (I)

Стадия 1: 2-(пирролидин-1-илметил)тиазол

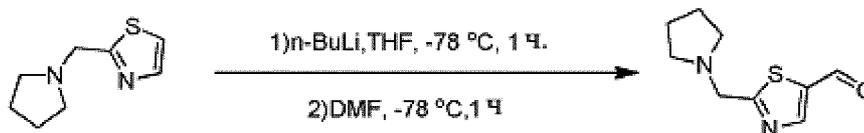


В реакционную бутылку объемом 500 мл добавляют тиазол-2-формальдегид (25,00 г, 220,90 ммоль) и тетрагидрофуран (300,0 мл), что перемешивают в течение 5 мин и затем добавляют ледяную уксусную кислоту (39,80 г, 662,90 ммоль). Систему охлаждают до 0-10°C при перемешивании и по каплям добавляют пирролидин (13,80 г, 194,40 ммоль). Температуру поддерживают на уровне ниже 10°C во время добавления. После добавления, частями добавляют

триацетоксиборгидрид натрия (56,20 г, 265,10 ммоль). Реакцию проводят при 10–20°C в течение 12 часов и отслеживают посредством ТЛС до полного исчезновения исходных веществ. После завершения реакции, в реакционную жидкость медленно добавляют водный насыщенный раствор бикарбоната натрия до достижения рН 9–10, и реакционную жидкость экстрагируют посредством 150 мл этилацетата три раза. Органические фазы объединяют, сушат над безводным сульфатом натрия и концентрируют при пониженном давлении. Остаток очищают с применением колоночной хроматографии (градиент подвижной фазы: этилацетат/петролейный эфир: 3/1/-1/1), что дает 15,00 г указанного в заголовке соединения в виде масла желтого цвета, выход: 40,3%.

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ-d)  $\delta$  7,71 (д,  $J=3,26$  Гц, 1H), 7,26–7,32 (м, 1H), 4,02 (с, 2H), 2,60–2,75 (м, 4H), 1,84 (тд,  $J=3,20, 6,65$  Гц, 4H).

Стадия 2: 2-(пирролидин-1-илметил)тиазол-5-формальдегид

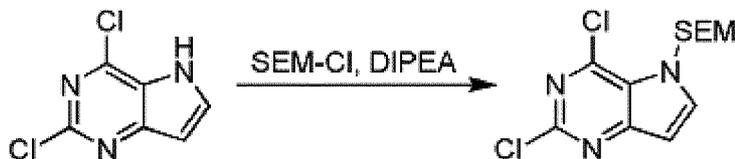


В трехгорлую колбу объемом 500 мл добавляют 2-(пирролидин-1-илметил)тиазол (15,00 г, 89,10 ммоль) и тетрагидрофуран (250,00 мл), что охлаждают до -78°C ацетоном с сухим льдом. При -78°C добавляют медленно по каплям н-бутиллитий (2,5 М, 71,3 мл). После добавления, реакционную смесь перемешивают в течение 30 мин при -78°C. При -78°C, в реакционную жидкость добавляют по каплям DMF (13,00 г, 178,30 ммоль). После добавления, реакционную смесь дополнительно перемешивают при -78°C в течение 30 мин. Завершение реакции отслеживают посредством ТЛС. Реакционную жидкость гасят посредством 50 мл насыщенного водного раствора хлорида аммония и экстрагируют посредством 150 мл этилацетата. Объединенные органические фазы сушат над насыщенным раствором сульфата натрия, фильтруют и концентрируют при пониженном давлении, что дает 15,00 г указанного в заголовке соединения в виде масла желтого цвета, и сырой продукт

используют непосредственно на следующей стадии.

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ-d)  $\delta$  10,03 (с, 1Н), 8,32 (с, 1Н), 4,03 (с, 2Н), 2,73 (т,  $J=6,02$  Гц, 4Н), 1,86 (тд,  $J=3,20$ , 6,65 Гц, 4Н).

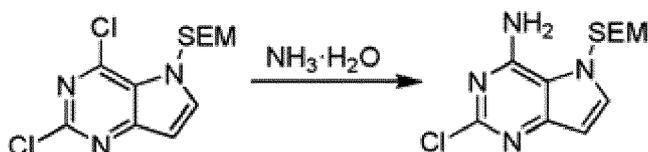
Стадия 3: 2,4-дихлор-5-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-5Н-пирроло[3,2-d]пиримидин



2,4-дихлор-5Н-пирроло[3,2-d]пиримидин (4,00 кг, 21,28 моль) растворяют в DMF (20,00 л); при комнатной температуре (25°C) добавляют частями DIPEA (2,58 кг, 20,00 моль), и впоследствии реакционную смесь перемешивают в течение 30 мин. Реакционную жидкость охлаждают до 0°C на ледяной бане, и затем в течение 5 часов добавляют медленно по каплям со скоростью 1-2 капли/секунду SEM-Cl (4,00 кг, 24,00 моль). После добавления, реакционную жидкость перемешивают в течение 4 часов при 0°C. Завершение реакции отслеживают с помощью HPLC. Реакционную жидкость гасят посредством 70 л воды и экстрагируют этилацетатом (15лx3) после разбавления. Объединенные органические фазы промывают последовательно 1М-ым водным раствором хлористоводородной кислоты (5лx2) и насыщенным соляным раствором (7лx2), и растворитель отгоняют при пониженном давлении, что дает указанное в заголовке соединение (6,40 кг, 20,11 моль, выход 94,50%).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8,24-8,35 (м, 1 Н), 6,70-6,85 (м, 1 Н), 5,77 (с, 2 Н), 3,45-3,57 (м, 2 Н), 0,74-0,86 (м, 2 Н), 0,00 (с, 9 Н).

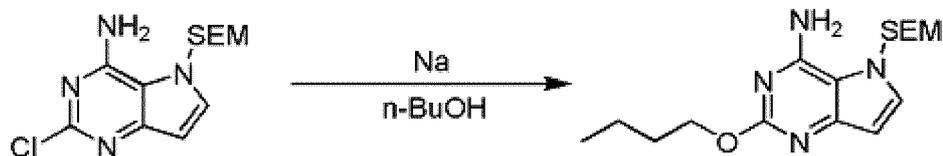
Стадия 4: 2-хлор-5-((2-(триметилсилил)этоксил)метил)-5Н-пирроло[3,2-d]пиримидин-4-амин



В автоклаве объемом 10 л, 2,4-дихлор-5-((2-(триметилсилил)этоксил)метил)-5Н-пирроло[3,2-d]пиримидин (1,60 кг, 5,03 моль) растворяют в изопропанол (1,60 л) и добавляют одной порцией водный раствор аммиака (4 л) при комнатной температуре (25°C). Реакционную смесь перемешивают при 95°C в течение 7 часов, и отслеживают завершение реакции с помощью HPLC. Реакционную жидкость охлаждают произвольно до комнатной температуры и фильтруют с помощью воронки Бюхнера, что дает твердое вещество черно-коричневого цвета. Твердое вещество последовательно суспендируют посредством этилацетата/н-гептана (1/1, 5л×2), суспендируют посредством этилацетата (4 л), что дает указанное в заголовке соединение в виде твердого вещества коричневого цвета (1,25 кг, 4,18 моль, выход 83,1%).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7,61-7,77 (м, 1 Н), 6,97-7,19 (м, 2 Н), 6,28-6,38 (м, 1 Н), 5,54-5,67 (м, 2 Н), 3,43-3,53 (м, 2 Н), 0,76-0,91 (м, 2 Н), 0,07 (с, 9 Н).

Стадия 5: 2-бутокси-5-((2-(триметилсилил)этоксил)метил)-5Н-пирроло[3,2-d]пиримидин-4-амин

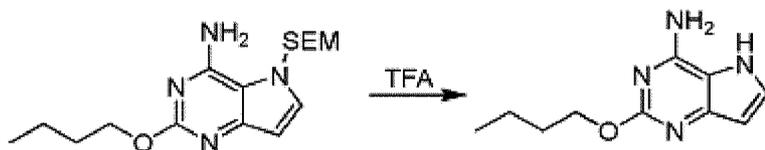


В условиях защитной атмосферы азота, к н-BuOH (17,0 л) медленно добавляют частями металлический натрий (525,05 г, 22,84 моль). После добавления, систему нагревают до 60°C и продолжают поддерживать перемешивание при той температуре до полного растворения металлического натрия. Затем систему охлаждают до 25°C и добавляют частями 2-хлор-5-((2-(триметилсилил)этоксил)метил)-5Н-пирроло[3,2-d]пиримидин-4-амин (1,95 кг, 6,53 моль). После смешения до однородного состояния при перемешивании, реагенты перемешивают в течение 8 часов при 90°C, и завершение реакции отслеживают с помощью HPLC. Реакционную смесь охлаждают до 25°C произвольно и затем выливают медленно в 30 л водного раствора хлорида аммония и экстрагируют этилацетатом (15 л×3). Объединенные органические фазы промывают

насыщенным соляным раствором (20 лх2), сушат над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , и фильтруют. После отгонки растворителя при пониженном давлении, остаток суспендируют в н-гептане (4 л). Проводят фильтрацию, что дает твердое вещество, которое суспендируют в этилацетате (5 л), что дает указанное в заголовке соединение в виде твердого вещества желтовато-белого цвета (1,53 кг, 4,55 моль, 69,7%).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  7,49-7,54 (м, 1 Н), 6,54-6,62 (м, 2 Н), 6,15-6,20 (м, 1 Н), 5,54 (с, 2 Н), 4,10-4,22 (м, 2 Н), 3,42-3,55 (м, 2 Н), 1,58-1,73 (м, 2 Н), 1,35-1,47 (м, 2 Н), 0,90-0,96 (м, 3 Н), 0,83-0,89 (м, 2 Н), 0,05 (с, 9 Н).

Стадия 6: 2-бутоксипирроло[3,2-d]пиримидин-4-амин



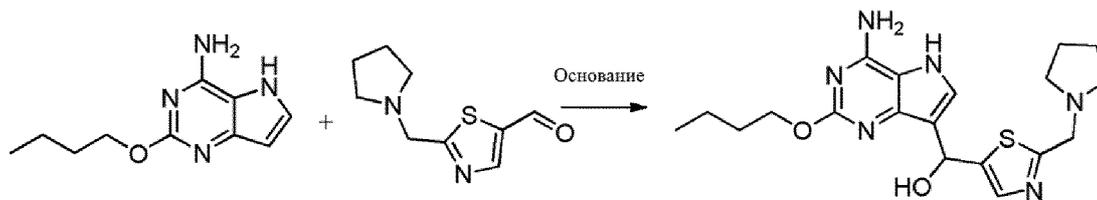
2-бутоксипирроло[3,2-d]пиримидин-4-амин (1,10 кг, 3,27 моль) растворяют в TFA (5,50 л), и реакционную жидкость перемешивают в течение 16 часов при 25°C. Завершение реакции отслеживают с помощью HPLC, и TFA отгоняют при пониженном давлении. Остаток растворяют в метаноле (1,2 л) и ледяной воде (1,2 л), и pH системы доводят до 12 посредством концентрированного водного раствора аммиака при перемешивании до однородного состояния и затем перемешивают в течение 2 часов. Осадок, по-прежнему, появляется в растворе. После фильтрации, фильтрационный осадок в виде твердого вещества белого цвета суспендируют посредством 15%-ого водного раствора аммиака (1,2 лх3) и этилацетата (4 л), что дает указанное в заголовке соединение в виде твердого вещества белого цвета (550,00 г, 2,67 моль, 81,7%).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{METANOL}-d_4$ )  $\delta$  7,37 (д,  $J=2,89$  Гц, 1 Н), 6,29 (д,  $J=3,01$  Гц, 1 Н), 4,27 (т,  $J=6,53$  Гц, 2 Н), 1,75 (д,  $J=7,91$  Гц, 2 Н), 1,44-1,61 (м, 2 Н), 1,00 (т,  $J=7,40$  Гц, 3 Н).

Стадия 7:

((4-амино-2-бутоксипирроло[3,2-d]пиримидин-7-ил) -

гидроксиметил) - [2 - (пирролидин-1-метилен) тиазол-5-ил] метанол



В трехгорлую колбу объемом 500 мл добавляют 2-бutoкси-5H-пирроло [3,2-d]пиримидин-4-амин (10,00 г, 48,49 ммоль), карбонат калия (7,37 г, 53,34 ммоль), воду (100 мл) и изопропанол (100 мл), к чему добавляют 2-(пирролидин-1-илметил) тиазол-5-формальдегид (14,27 г, 72,74 ммоль) при перемешивании. Реакцию проводят при 25°C в течение 16 часов, и отслеживают наличие 2-(пирролидин-1-метилен) тиазол-5-формальдегид с помощью LCMS на предмет завершения реакции. В реакционную жидкость добавляют 100 мл воды для разбавления и проводят экстракцию посредством 100 мл дихлорметана три раза. Объединенные органические фазы сушат над безводным сульфатом натрия, отфильтровывают твердое вещество и концентрируют при пониженном давлении, что дает остаток, который очищают с использованием колоночной хроматографии (градиент подвижной фазы: дихлорметан/метанол/водный раствор аммиака/: 30/1/0,1-10/1/0,1), что дает указанное в заголовке соединение в виде твердого вещества коричневого цвета (5,20 г, 12,92 ммоль, выход: 26,6%). Масс-спектрометрия (MS) с ионизацией электрораспылением (ESI)  $m/z$ : 403,3  $[M+H^+]$ .

Стадия 8:

2-бutoкси-7-(2-(пирролидин-1-илметил) тиазол-5-ил) метил) -5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-амин



В баклажаноподобную колбу объемом 100 мл загружают ((4-амино-2-бutoкси-5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-7-ил) - гидроксиметил) - [2 - (пирролидин-1-метилен) тиазол-5-ил] метанол (5,10 г, 12,60 ммоль), триэтилсилан (10,00 мл) и трифторуксусную

кислоту (40,00 мл), и реакционную смесь перемешивают при 20°C в течение 12 часов. Наличие исходных веществ отслеживают посредством LCMS на предмет завершения реакции. Растворитель удаляют концентрированием при пониженном давлении. В систему добавляют 100 мл этилацетата и затем добавляют насыщенный раствор карбоната натрия для доведения значения pH раствора до 9-10. Экстракцию проводят посредством 50 мл этилацетата три раза. Органические фазы объединяют, сушат над безводным сульфатом натрия, отфильтровывают твердое вещество и концентрируют при пониженном давлении, что дает остаток, который разделяют с помощью препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии, что дает 4,2 г 2-бутокси-7-(2-(пирролидин-1-илметил) триазол-5-ил) метил)-5Н-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-амин в виде масла светло-желтого цвета (диформиат указанного в заголовке соединения).

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, Метанол-d<sub>4</sub>) δ 8,30 (с, 2H), 7,61 (с, 1H), 7,41 (с, 1H), 4,51 (с, 2H), 4,44 (кв., J=6,6 Гц, 2H), 4,24 (с, 2H), 3,33-3,28 (м, 4H), 2,02 (с, 4H), 1,83-1,73 (м, 2H), 1,56-1,46 (м, 2H), 0,99 (т, J=7,2 Гц, 3H).

**Экспериментальный Пример 1: Испытание *in vitro* с оценением активности связывания с рецептором для Toll-подобного рецептора 7 и Toll-подобного рецептора 8**

Реагенты:

Клетки HEK-blue hTLR7 и клетки HEK-blue hTLR8 (доступные для приобретения в InvivoGen)

Среда DMEM

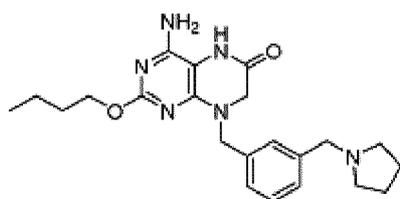
Термоинактивированная фетальная бычья сыворотка

Реагент для определения антител к микоплазме Normocin™

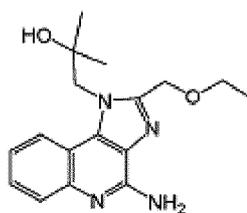
Блеомицин

Бластицидин

Используемые GS-9620 и R848 имеют следующие структуры. GS-9620 может быть получен согласно способу, раскрытому в патенте US20100143301; R848 закупают в ABGENT (Каталог: IMG-2208, 0,5 мг).



GS9620



R848/Резиквимод

Схема:

1. Подготовка 96-луночного планшета для соединений:

Осуществляют градиентное разведение соединений в DMSO 3-кратно с использованием рабочей станции для жидкостей POD, начиная с концентрации 10 ммоль/л, и осуществляют разведения в 10 точках (2-я колонка - 11-я колонка, и каждую точку дублируют). В 12-ую колонку добавляют 1 мкл положительного соединения R848 в концентрации 5 мг/мл в качестве положительного контроля; и в 1-ую колонку добавляют 1 мкл DMSO в качестве отрицательного контроля. Каждая лунка содержит 1 мкл DMSO.

2. Клетки в колбе для клеточной культуры собирают, и плотность клеток доводят разведением до 250000 клеток/мл.

3. 200 мкл (50000 клеток/лунка) клеточной суспензии добавляют в подготовленный содержащий соединения планшет, и конечная концентрация DMSO в каждой лунке составляет 0,5%.

4. Культуральные планшеты, содержащие клетки и соединения, инкубируют в инкубаторе с CO<sub>2</sub> в течение 24 часов при 37°C, в атмосфере 5%CO<sub>2</sub>.

5. По истечении 24 часов инкубации, 20 мкл супернатанта переносят из каждой лунки планшетов для клеточных культур в 96-луночный прозрачный аналитический планшет. В каждую лунку аналитического планшета добавляют 180 мкл реагента Quanti-Blue, и планшет инкубируют в инкубаторе при 37°C, в атмосфере 5%CO<sub>2</sub> в течение 1 часа.

6. По истечении 1 часа, определяют содержание щелочной фосфатазы в 20 мкл супернатанта с помощью считывающего устройства для микропланшетов при OD<sub>650</sub>.

7. EC<sub>50</sub> для каждого соединения получают с помощью программного обеспечения Prism.

Результаты показаны в Таблице 1:

Таблица 1

Испытуемый образец	EC <sub>50</sub> (нМ) в случае TLR7	EC <sub>50</sub> (нМ) в случае TLR8
GS-9620	517	7867
Пример 1	454,1	29332

В соответствии с вышеупомянутой таблицей, соединение согласно изобретению проявляет более высокую активность связывания с рецептором *in vitro* в отношении Toll-подобного рецептора 7, чем контрольный агонист Toll-подобного рецептора 7 GS-9620, и более низкую активность связывания с рецептором *in vitro* в отношении Toll-подобного рецептора 8, чем контрольный агонист Toll-подобного рецептора 7 GS-9620. Соединение согласно изобретению имеет значительное различие в селективности для различных рецепторов, показывая лучший эффект, чем прототип.

#### **Экспериментальный Пример 2: Анализ фармакокинетики у крысы**

12 самцов SD-крыс делят на 4 группы, по 3 SD-крысы в каждой группе. 2 группам животных вводят путем внутривенной инъекции (IV) 1 мг/кг контрольного агониста Toll-подобного рецептора 7 GS-9620 и соединение Примера 1 по настоящему изобретению в виде содержащего 10% гидроксипропил-β-циклодекстрина водного раствора (концентрация составляет 0,5 мг/мл), соответственно. Другим 2 группам вводят перорально (PO) 5 мг/кг GS-9620 и 3 мг/кг соединения Примера 1 в виде суспензии, содержащей 0,5% метилцеллюлозы/0,2% Tween 80 в чистой воде (концентрация составляет 1 мг/мл). Собирают образцы цельной крови каждой крысы, получившей внутривенную инъекцию, для непрерывного получения плазмы через 2, 15, 30 минут и 1, 2, 4, 8, 24 часа после введения. Собирают образцы цельной крови каждой крысы из групп перорального введения для непрерывного получения плазмы через 15, 30 минут и 1, 2, 4, 8, 24 часа после введения. Концентрации в плазме GS-9620 и соединения Примера 1 определяют методом LC-MS/MS (Жидкостная Хроматография с тандемной масс-спектрометрией).

Результаты показаны в Таблице 2.

Таблица 2

Средняя концентрация лекарственного средства в плазме крови				
Название соединения	GS-9620		Соединение Примера 1	
Период времени (часы)	IV 1 (1 мг/кг массы тела)	PO 1 (5 мг/кг массы тела)	IV 2 (1 мг/кг массы тела)	PO 2 (3 мг/кг массы тела)
0,083	170	--	500	--
0,25	102	56,3	277	45,4
0,5	65,4	33,2	197	52,0
1	48,1	83,4	120	86,8
2	21,6	136	66,1	113
4	13	16,7	30,6	23,6
8	4,17	9,49	13,1	5,64
24	ND	ND	ND	ND
C0 или Cmax (нМ)	220	164	673	148
T1/2 (часы)	2,57	2,24	3,08	1,54
Vdss (л/кг)	32,8	--	13,5	--
C1 (мл/мин/кг)	205	--	75,8	--
AUC0-последний (нМ·час)	185	316	541	313
AUC0-инф (нМ·час)	201	359	573	325

В эквивалентных условиях, что касается и внутривенной инъекции и перорального введения (преобразованное количество введения), по сравнению с контрольным агонистом Toll-подобного рецептора 7 GS-9620, соединение согласно изобретению показывает более сильное воздействие на крыс.

**Экспериментальный Пример 3: анализ фармакодинамики *in vivo* на мышной экспериментальной модели, инфицированной AAV (Аденоассоциированный вирус) -несущим вирусом гепатита В (HBV)**

План и методики эксперимента:

Путь введения: внутрижелудочное введение

Период времени введения: с 26 дня после внедрения вируса, одно введение каждые три дня, всего 6 недель

Группы введения: группа 1: несущая лекарственное вещество среда, 10% HP-β-CD; группа 2: GS-9620, 20 мг/кг; группы 3: соединение Примера, 20 мг/кг

Забор пробы крови: с 3 дня после 1-ого введения, дважды в

неделю, всего 8 недель;

Забор пробы печени: пробу печени забирают на день 64 после 1-ого введения.

Подробные данные показаны в Таблице 3 и Таблице 4.

Таблица 3

Число мышей	Процедура инъекции		Забор крови
	AAV-HBV в.г./200 мкл	Способ инъекции	
30+6	$1 \cdot 10^{11}$	200 мкл/животное, хвостовая вена, с 0 дня	1. На 14 день и 21 день после внедрения вируса инъекцией, 30 мышей делят на 6 групп, в соответствии с уровнем в крови HBV DNA, HBsAg и HBeAg; 2. Кровь забирают на 26 день относительно внедрения вируса в качестве подготовленного образца для введения.

\*HBsAg: поверхностный антиген вируса гепатита В; HBeAg: оболочечный (E) антиген вируса гепатита В

Таблица 4

Группа	Число мышей	Методика эксперимента				Момент времени забора крови	Момент времени забора печени
		Соединение	Количество введения (мг/кг)	Объем введения (мл/кг)	Способ введения		
1	5	Несущая лекарство / среда		10	После 26 дня относительно внедрения вируса, проводят внутрижелудочное введение, однократно каждые три дня, всего 6 недель.	Забор первой крови проводят на 3 день после введения, дважды в неделю, всего 8 недель.	День 64 после 1-ого введения
2	5	GS9620	20				
3	5	Пример 1	20				

Подробные результаты анализа фармакодинамики *in vivo* на мышинной модели, инфицированной AAV-несущим вирусом гепатита В,

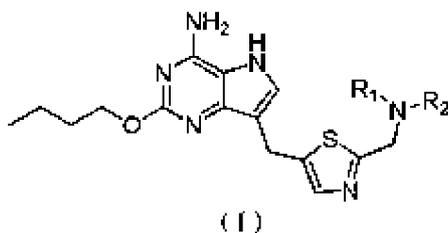
показаны на Фигурах 1-3. Данные по числу копий ДНК HBV в плазме, по числу копий поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg) в плазме и по уровню продуцирования Anti-HBsAb (антител к поверхностному антигену вируса гепатита В) показывают, что соединение Примера 1, в эквивалентных условиях, имеет более высокую эффективность, чем контрольный агонист Toll-подобного рецептора 7 GS-9620, показывая преимущественный эффект.

Если не указано иное, то все числа, отражающие количества ингредиентов, клеточной культуры, условий обработки, и прочего, используемые в описании изобретения, включая пункты формулы, следует понимать, как модифицируемые во всех случаях посредством термина "приблизительно". В соответствии с этим, если не указано иное обратное, то числовые параметры представляют собой приближенные величины и могут варьироваться в зависимости от желательных свойств, которые стараются получить посредством настоящего изобретения. Если не указано иное, то термин "по меньшей мере", предваряющий ряд элементов, следует понимать как относящийся к каждому элементу в этом ряду. Специалист в данной области распознает, или сможет выявить в результате не более, чем рутинного экспериментирования, многие эквиваленты конкретных вариантов осуществления изобретения, описываемых в данном документе. Такие эквиваленты, как подразумевается, охватываются прилагаемыми пунктами формулы изобретения.

Многие модификации и вариации изобретения могут быть сделаны без отступления от его существа и объема, что будет очевидно для специалиста в данной области. Конкретные варианты осуществления, описываемые в данном документе, предложены исключительно для примера и никоим образом не предназначены быть ограничивающими. Предполагается, что описание изобретения и примеры считаются исключительно иллюстративными, где истинный объем и сущность изобретения приведены в прилагаемых пунктах формулы изобретения.

### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль,



где

$R_1$  и  $R_2$ , каждый независимо, выбирают из группы, состоящей из H и  $C_{1-4}$ алкила, или

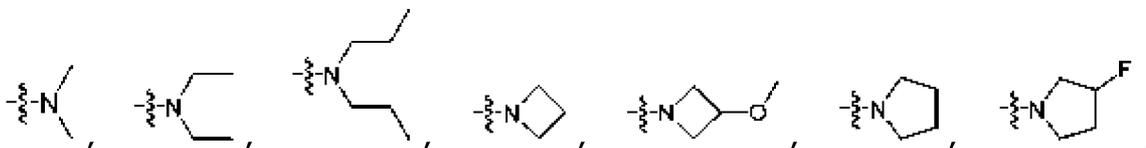
$R_1$  и  $R_2$  вместе с атомом N, к которому они присоединены, образуют 4-8-членный гетероциклоалкил, где 4-8-членный гетероциклоалкил необязательно замещен одним или более  $R_3$ ,  $R_3$ , каждый независимо, выбирают из группы, состоящей из гидроксила, галогена, цианогруппы,  $C_{1-4}$ алкила и  $C_{1-4}$ алкоксигруппы.

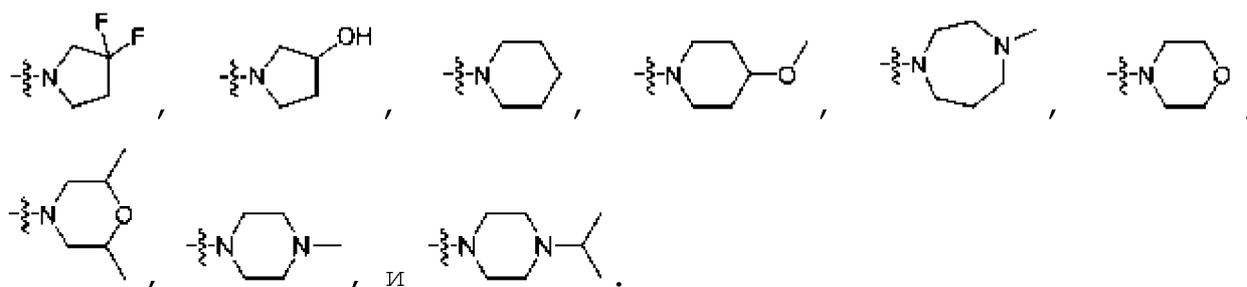
2. Соединение по п. 1 или его фармацевтически приемлемая соль, отличающееся(-аяся) тем, что 4-8-членный гетероциклоалкил содержит 0, 1, 2 или 3 дополнительных гетероатома, выбранных из группы, состоящей из N, O и S.

3. Соединение по п. 2 или его фармацевтически приемлемая соль, отличающееся(-аяся) тем, что 4-8-членный гетероциклоалкил представляет собой 4-членный, 5-членный, 6-членный, 7-членный или 8-членный гетероциклоалкил.

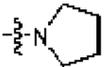
4. Соединение по п. 1 или его фармацевтически приемлемая соль, отличающееся(-аяся) тем, что  $R_3$  независимо выбирают из группы, состоящей из гидроксила, F, Cl, Br, CN, метила, этила, пропила, метоксила, этоксила и пропоксигруппы.

5. Соединение по п. 1 или его фармацевтически приемлемая соль, отличающееся(-аяся) тем, что группу, образованную посредством  $R_1$ ,  $R_2$  вместе с атомом N, к которому они присоединены, выбирают из группы, состоящей из:

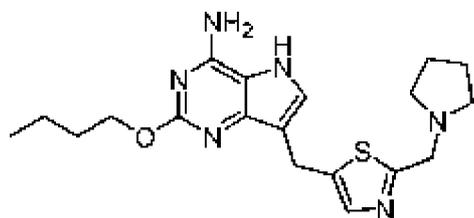




6. Соединение по п. 5 или его фармацевтически приемлемая соль, отличающееся(-аяся) тем, что группа, образованная посредством  $R_1$ ,  $R_2$  вместе с атомом N, к которому они

присоединены, представляет собой .

7. Соединение следующей формулы или его фармацевтически приемлемая соль,



8. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по любому из п.п. 1-7 и/или его фармацевтически приемлемую соль в терапевтически или профилактически эффективном количестве, и один или более фармацевтически приемлемых носителей и/или эксципиентов.

9. Применение соединения по любому из п.п. 1-7 или его фармацевтически приемлемой соли, или фармацевтической композиции по п. 8 для получения лекарственного препарата в лечении или предупреждении вирусной инфекции.

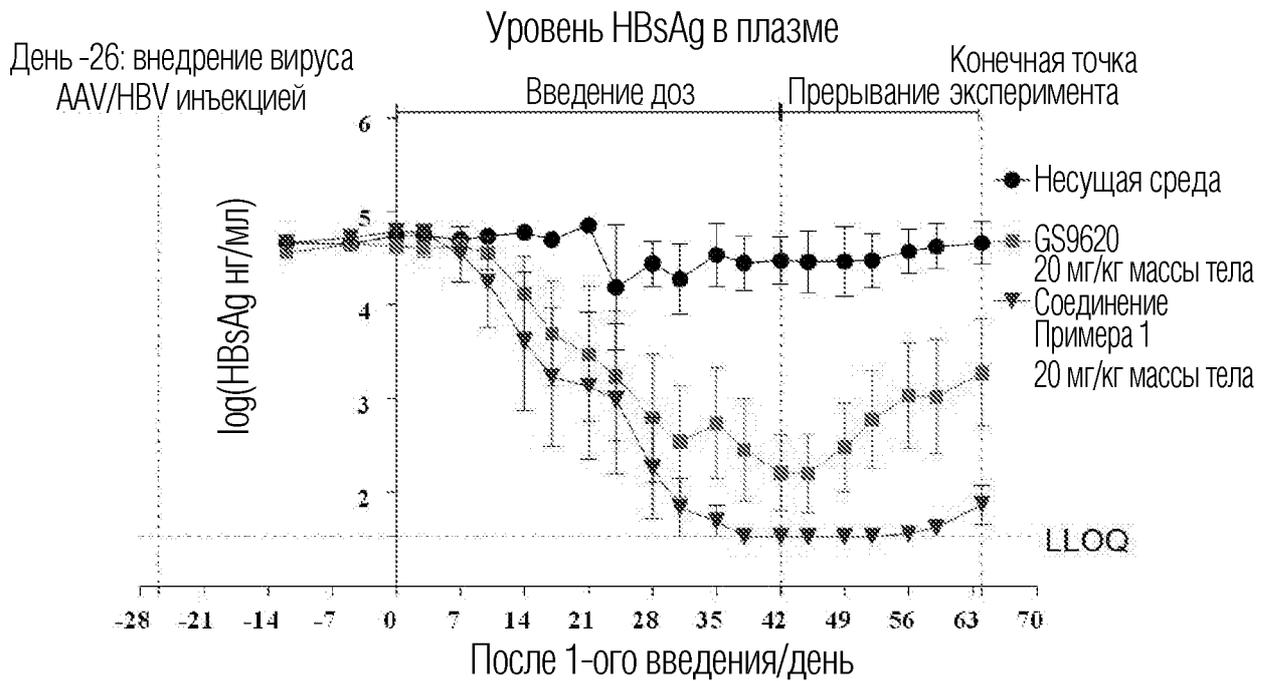
10. Применение по п. 9, отличающееся тем, что вирусная инфекция представляет собой вирусную инфекцию, протекающую как вирус лихорадки Денге, вирус желтой лихорадки, вирус Западного Нила, вирус японского энцефалита, вирус клещевого энцефалита, вирус Кунджин, вирус энцефалита долины Муррея, вирус энцефалита Сент-Луис, вирус омской геморрагической лихорадки, вирус диареи крупного рогатого скота, вирус Зика, или вирус гепатита.

11. Применение по п. 10, отличающееся тем, что

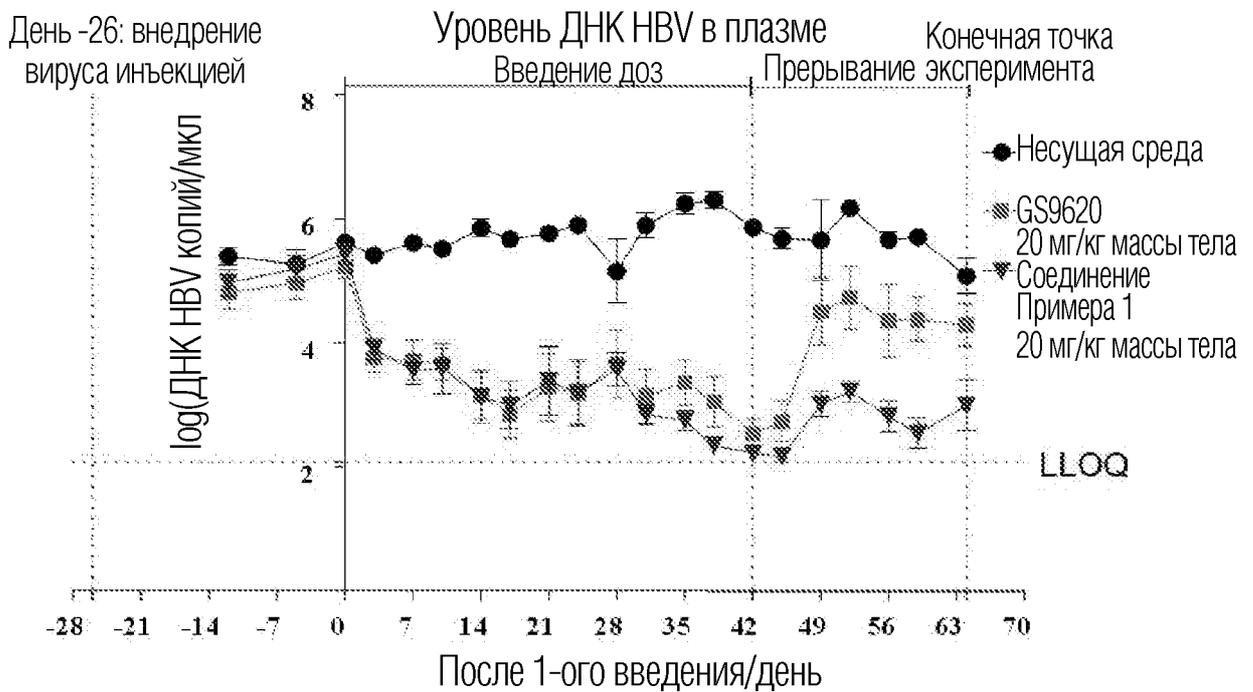
вирусная инфекция представляет собой вирусную инфекцию гепатита.

12. Применение по п. 11, отличающееся тем, что вирусная инфекция представляет собой вирусную инфекцию гепатита В или гепатита С.

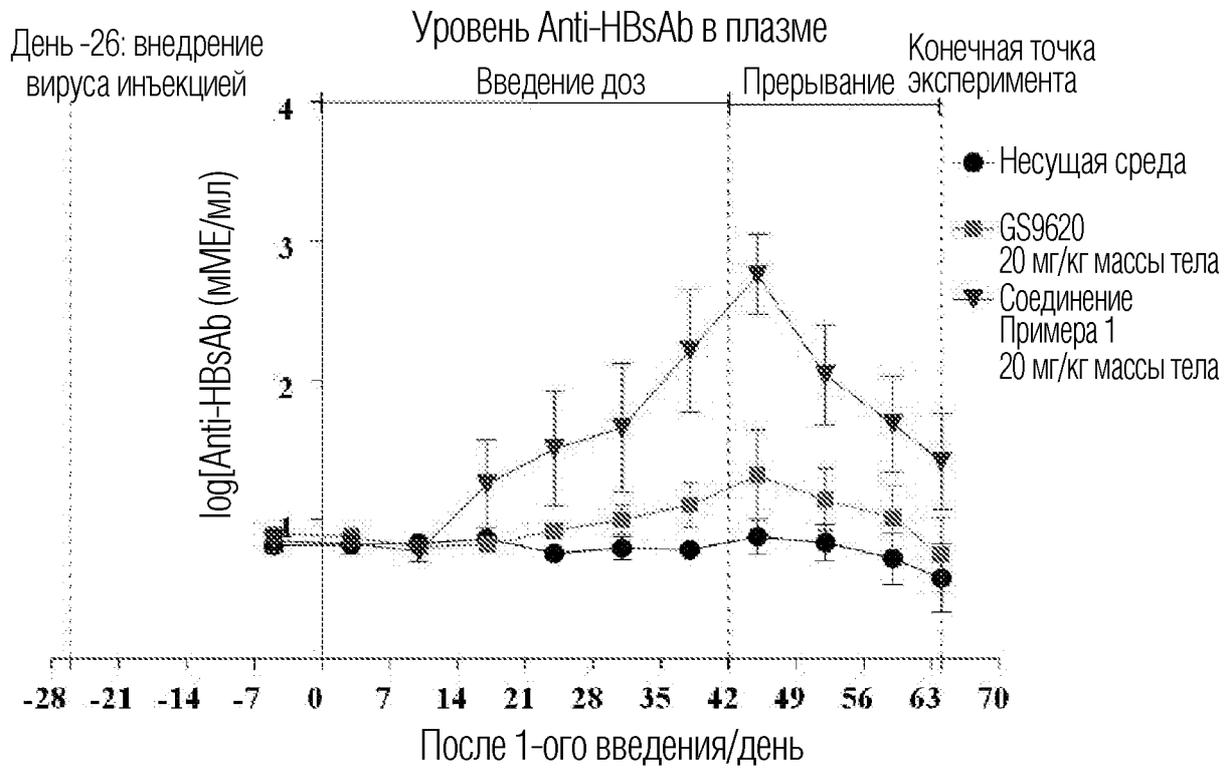
По доверенности



ФИГ. 1



ФИГ. 2



ФИГ. 3