

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 201891769 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2019.04.30

(51) Int. Cl. C07D 487/04 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2017.02.04

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ СОЕДИНЕНИЯ ПИРРОЛО[3,2-d]ПИРИМИДИНА И
ПРОМЕЖУТОЧНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

(31) 201610082028.3

(32) 2016.02.05

(33) CN

(86) PCT/CN2017/072893

(87) WO 2017/133686 2017.08.10

(71) Заявитель:

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

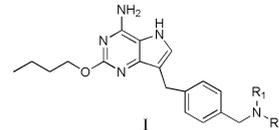
(72) Изобретатель:

Дин Чжаочжун, Сунь Фей, Ху Инху,
Чжоу Илун, Чжао Жуй, Ян Лин (CN)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к способу получения соединения пирроло[3,2-d]пиримидина (соединения, представленного формулой I) и соответствующих промежуточных соединений.



201891769 A1

201891769

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-551695EA/041

СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ СОЕДИНЕНИЯ ПИРРОЛО[3,2-D]ПИРИМИДИНА И ПРОМЕЖУТОЧНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Область техники

Настоящее изобретение относится к области медицинской химии и, в частности, относится к способу получения соединения пирроло[3,2-d]пиримидина и его промежуточного соединения.

Предпосылки

Различные клетки иммунной системы экспрессируют Toll-подобный рецептор, который распознает высоко консервативные структурные мотивы: патоген-ассоциированный молекулярный паттерн (PAMP), экспрессируемый патогенными микроорганизмами, или ассоциированные с повреждением молекулярные паттерны (DAMP), высвобождаемые погибшими клетками. PAMP или DAMP стимулирует Toll-подобный рецептор к запуску сигнального каскада, который индуцирует активацию транскрипционных факторов, таких как AP-1, NF-κB, и регуляторов интерферонов (функция импульсного ответа). Это ведет к различным клеточным ответам, в том числе образованию интерферонов, провоспалительных цитокинов и эффекторных цитокинов, в соответствии с чем возникает иммунный ответ. Определенно, у млекопитающих обнаружены Toll-подобные рецепторы 13 типов. Toll-подобные рецепторы 1, 2, 4, 5 и 6 преимущественно экспрессированы на клеточной поверхности, тогда как Toll-подобные рецепторы 3, 7, 8 и 9 экспрессированы в эндосомах. Различные Toll-подобные рецепторы распознают лиганды, получаемые из различных патогенов. Toll-подобный рецептор 7 (TLR7) преимущественно экспрессируют плазмацитоидные дендритные клетки (pDC), и распознавание его лиганда ведет к индукции секреции интерферона α (IFN-α). Toll-подобный рецептор 7 (TLR7) и Toll-подобный рецептор 8 (TLR8) обладают высокой гомологией и, следовательно, лиганд TLR7 в большинстве случаев также подходит для TLR8. Стимуляция TLR8 преимущественно индуцирует продуцирование цитокинов, таких как фактор некроза опухоли α (TNF-α) и хемоаттрактант. Интерферон α представляет собой одно

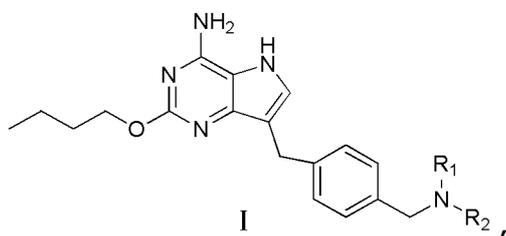
из лекарственных средств для лечения хронического гепатита В или гепатита С, тогда как TNF- α представляет собой провоспалительный цитокин, чрезмерная секреция которого ведет к тяжелым побочным эффектам.

Сообщается о нескольких агонистах TLR7, таких как имиквимод (British Journal of Dermatology 2003; 149 (Suppl. 66): 5-8), резиквимод (Antiviral Research 64 (2004) 79-83), GS-9620 (Gastroenterology (2013), 144(7), 1508-1517). Тем не менее, желательно иметь новые агонисты TLR7 с более хорошей избирательностью, активностью и безопасностью.

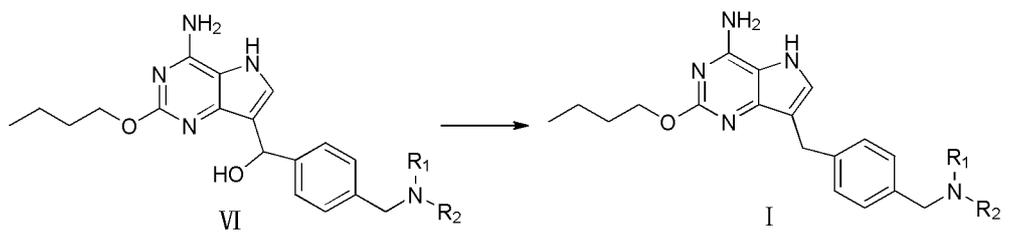
В китайской патентной заявке № 201410405136.0, которая включена в полном объеме по ссылке в настоящее описание, раскрыта серия соединений пирролопиримидина в качестве агониста TLR7.

Краткое изложение

В одном из аспектов предоставлен способ получения соединения формулы I:



способ включает дегидроксилирование соединения формулы VI для получения соединения формулы I:



где

R_1 и R_2 независимо выбирают из группы, состоящей из C_{1-4} алкил, или

R_1 и R_2 вместе с атомом N, прикрепленным к ним, формируют 4-8-членный гетероциклоалкил, где гетероциклоалкил необязательно замещают одним или несколькими заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из гидроксила, галогена, C_{1-4}

алкила и C₁₋₄ алкокси.

Подробное описание

Определения

Если не установлено иное, термины и фразы, используемые в настоящем описании, имеют следующие значения. Конкретный термин или фразу не следует рассматривать в качестве неясных или неопределенных, когда они не определены конкретно. Их следует понимать в соответствии с основным значением. Торговое название, используемое в настоящем описании, относится к соответствующему продукту или активному ингредиенту.

Пока иное не определено конкретно, в настоящем описании долю (в том числе процентную долю) или часть вычисляют на основании массы.

Когда используют с числовыми переменными, термин «около» или «приблизительно» обычно относится к значению переменной и всем значениям переменной в пределах ошибки эксперимента (например, в пределах усредненной доверительной области 95%) или в пределах $\pm 10\%$ от точно определенного значения или более широкого диапазона.

Выражение «содержать» или его синонимы «включать», «иметь» или тому подобное является открытым, что не исключает другие не перечисленные элементы, стадии или ингредиенты. Выражение «состоять из» исключает любые не перечисленные элементы, стадии или ингредиенты. Выражение «по существу состоять из» относится к конкретным элементам, стадиям или ингредиентам в заданном диапазоне, вместе с необязательными элементами, стадиями или компонентами, которые по существу не оказывают влияния на базовый и новый признак заявленного объекта изобретения. Следует понимать, что выражение «содержать» охватывает выражения «по существу состоять из» и «состоять из».

Термин «необязательный» или «необязательно» обозначает, что событие, следующее за ним, может наступать или не наступать. Этот термин охватывает случаи, когда событие может наступать или не наступать.

Выражение C_{m-n}, используемое в настоящем описании,

обозначает, что оно содержит $m-n$ атомов углерода. Например, «C₁₋₄ алкил» обозначает, что указанный алкил имеет 1-4 атомов углерода.

Числовой диапазон в настоящем описании относится к каждому из целых в нем и поддиапазонам, образуемым целыми. Например, «C₁₋₄» обозначает, что указанная группа может иметь 1 атом углерода, 2 атома углерода, 3 атома углерода или 4 атома углерода. Соответственно, «C₁₋₄ алкил» охватывает «C₂₋₃ алкил», «C₁₋₃ алкил», «C₂₋₄ алкил», а также C₁ алкил, C₂ алкил, C₃ алкил, C₄ алкил или тому подобное.

Термин «замещенный» обозначает, что один или несколько атомов водорода при данном атоме заменяют на заместитель, при условии, что валентность конкретного атома является обычной и соединение после замещения стабильно.

Если не установлено иное, термин «гетеро» обозначает гетероатом или гетерорадикал (т. е. радикал, содержащий гетероатом), т. е. атомы помимо атомов углерода и водорода или радикал, содержащий такие атомы. Предпочтительно, гетероатом независимо выбирают из группы, содержащей O, N, S и т. д. В одном из вариантов осуществления, в котором участвуют два или больше гетероатома, два или больше гетероатомов могут представлять собой одно и то же или два или больше гетероатомов могут быть различными частично или полностью.

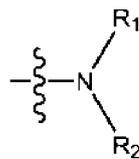
Термин «алкил» относится к линейной или разветвленной насыщенной алифатической гидрокарбильной группе, состоящей из атомов углерода и водорода, которая связана с остальной молекулой через одинарную связь. Неограничивающие примеры C₁₋₄ алкила включают, но не ограничиваясь этим, метил, этил, пропил, изопропил, н-бутил, изобутил, втор-бутил, трет-бутил или тому подобное.

Термин «C₁₋₄ алкокси» относится к «C₁₋₄ алкилу», который соединен с остальной молекулой через «-O-», где «C₁₋₄ алкил» определен выше.

Термин «галогено» или «галоген» относится к F, Cl, Br или I.

Термин «гидроксил» относится к группе -OH.

Атом N в выражении «R₁ и R₂ вместе с атомом N, прикрепленным



к ним» относится к атому N во фрагменте в формуле.

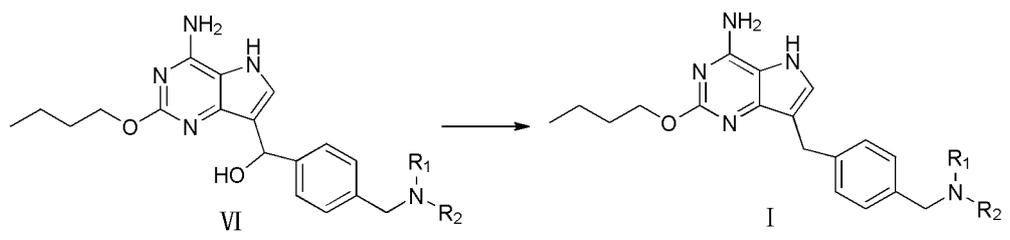
Термин «гетероциклоалкил» относится к группе насыщенной моноциклической или полициклической системы, в которой часть атомов кольца представляет собой гетероатомы, выбранные из группы, состоящей из N, O, S, а остальные атомы кольца представляют собой C. Соответственно, термин «4-8-членный гетероциклоалкил» относится к гетероциклоалкилу, содержащему 4-8 атомов кольца в системе, где один или несколько атомов кольца представляют собой гетероатомы, выбранные из группы, состоящей из N, O, S. «4-8-членный гетероциклоалкил» охватывает «4-7-членный», «4-6-членный», «5-7-членный» гетероциклоалкил, например, но не ограничиваясь этим, 4-, 5-, 6-, 7-, 8-членный гетероциклоалкил. Примеры 4-членного гетероциклоалкила включают, но не ограничиваясь этим, азетидинил; примеры 5-членного гетероциклоалкила включают, но не ограничиваясь этим, пирролидинил, изоксазолидинил, оксазолидинил, изотиазолидинил, тиазолидинил, имидазолидинил; примеры 6-членного гетероциклоалкила включают, но не ограничиваясь этим, пиперидинил, морфолинил, пиперазинил; и примеры 7-членного гетероциклоалкила включают, но не ограничиваясь этим, азациклогептанил, оксазабицикло[2.2.1]гептил или тому подобное.

Термин «один или несколько» относится к одному, двум, трем, четырем, пяти, шести, семи, восьми или больше.

В настоящем описании используют следующие сокращения: SEM: 2- (триметилсилил)этоксиметил; SEM-Cl: 2- (триметилсилил)этоксиметилхлорид; DIPEA: диизопропилэтиламин; TFA: трифторуксусная кислота; DMF: N,N-диметилформамид; n-BuOH: n-бутанол.

Способ получения соединения формулы I

В одном из аспектов предоставлен способ получения соединения формулы I, где способ включает дегидроксилирование соединения формулы VI для получения соединения формулы I:



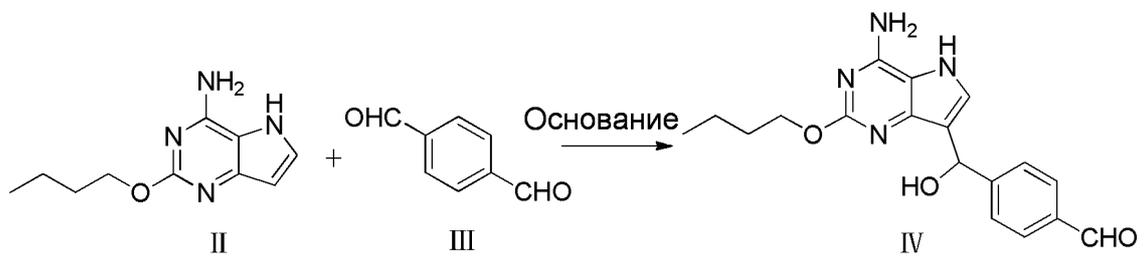
где

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

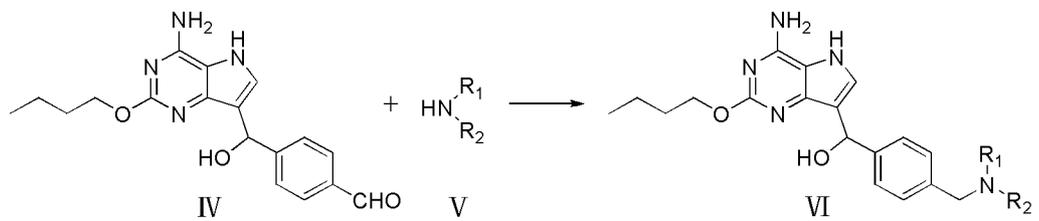
R_1 и R_2 вместе с атомом N, прикрепленным к ним, формируют 4-8-членный гетероциклоалкил, где гетероциклоалкил необязательно замещают одним или несколькими заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из гидроксила, галогена, C_{1-4} алкила и C_{1-4} алкокси.

В одном из вариантов осуществления способ получения соединения формулы I в соответствии с изобретением включает следующие стадии:

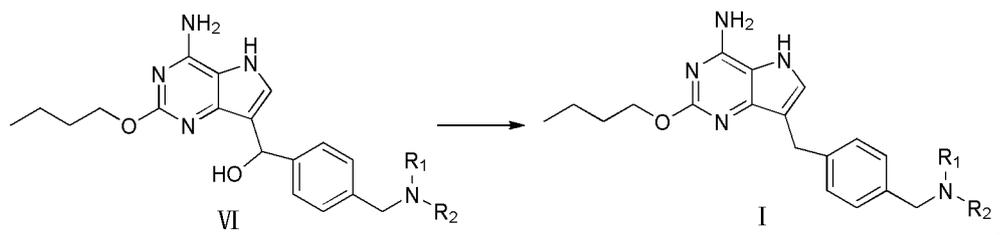
(a) взаимодействие соединения формулы II с соединением формулы III в присутствии основания для получения соединения формулы IV



(b) взаимодействие соединения формулы IV с соединением формулы V в присутствии восстановителя для получения соединения формулы VI



(c) дегидроксилирования соединения формулы VI для получения соединения формулы I



где

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

R_1 и R_2 вместе с атомом N, прикрепленным к ним, формируют 4-8-членный гетероциклоалкил, где гетероциклоалкил необязательно замещают одним или несколькими заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из гидроксила, галогена, C_{1-4} алкила и C_{1-4} алкокси.

В одном из вариантов осуществления основание выбирают из группы, состоящей из карбоната натрия, бикарбоната натрия, карбоната калия, фосфата калия, бикарбоната калия, карбоната цезия, гидроксида лития, гидроксида натрия, гидроксида калия, гидроксида кальция, гидроксида магния, гидроксида бария, метоксида натрия, этоксида натрия, т-бутоксида натрия, т-бутоксида калия, триэтиламина, диизопропилэтиламина, пиридина, N,N-диметиламинопиридина, пиперидина, N-метилпиперидина, морфолина, N-метилморфолина и любого их сочетания, предпочтителен карбонат натрия, карбонат калия, гидроксид натрия, гидроксид калия и любое их сочетание, наиболее предпочтителен карбонат калия.

В одном из вариантов осуществления стадию (а) осуществляют в растворителе. В предпочтительном варианте осуществления растворитель представляет собой изопропанол или смесь изопропанола с водой.

В одном из вариантов осуществления молярное соотношение соединения формулы II и основания составляет 1,0:1,0-3,0, предпочтительно 1,0:1,0-1,5, более предпочтительно 1,0:1,2.

В одном из вариантов осуществления молярное соотношение соединения формулы II и соединения формулы III составляет 1,0:1,0-3,0, предпочтительно 1,0:1,0-1,5, более предпочтительно 1,0:1,2-1,5.

В одном из вариантов осуществления стадию (b) осуществляют в присутствии кислоты. В другом варианте осуществления кислоту выбирают из группы, состоящей из соляной кислоты, бромистоводородной кислоты, фосфорной кислоты, серной кислоты, муравьиной кислоты, уксусной кислоты, пропановой кислоты, лимонной кислоты, фумаровой кислоты, яблочной кислоты, янтарной кислоты, салициловой кислоты, малеиновой кислоты, трифторуксусной кислоты и любого их сочетания, предпочтительна уксусная кислота.

В одном из вариантов осуществления на стадии (b) молярное соотношение соединения формулы IV и кислоты составляет 1,0:1,0-3,0, предпочтительно 1,0:1,2-2,0, более предпочтительно 1,0:1,5.

В одном из вариантов осуществления стадию (b) проводят в растворителе. В предпочтительном варианте осуществления растворитель представляет собой изопропанол или смесь изопропанола с водой.

В одном из вариантов осуществления восстановитель выбирают из группы, состоящей из BH_3 , NaBH_4 , NaBH_3CN , $\text{NaBH}(\text{AcO})_3$ и любого их сочетания, предпочтителен $\text{NaBH}(\text{AcO})_3$.

В одном из вариантов осуществления молярное соотношение соединения формулы IV и восстановителя составляет 1,0:1,0-3,0, предпочтительно 1,0:1,2-2,0, более предпочтительно 1,0:1,5.

В предпочтительном варианте осуществления дегидроксилирование осуществляют в присутствии триэтилсилана и трифторуксусной кислоты.

В другом предпочтительном варианте осуществления молярное соотношение соединения формулы VI и триэтилсилана составляет 1:1-10, предпочтительно 1:2-8, более предпочтительно 1:5.

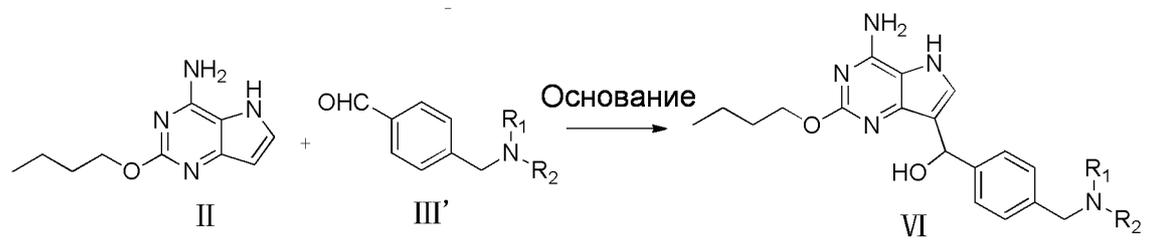
В другом предпочтительном варианте осуществления молярное соотношение соединения формулы VI и трифторуксусной кислоты составляет 1:2-20, предпочтительно 1:5-15, более предпочтительно 1:10-12.

В одном из вариантов осуществления стадию (c) осуществляют в растворителе. В предпочтительном варианте осуществления растворителем является дихлорметан.

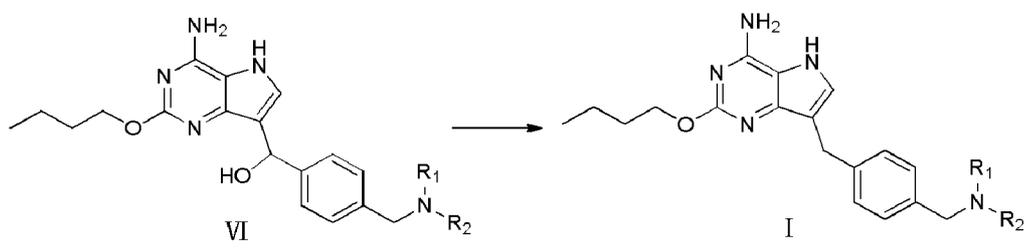
В другом варианте осуществления способ получения соединения

формулы I в соответствии с изобретением включает следующие стадии:

(a') взаимодействие соединения формулы II с соединением формулы III' в присутствии основания для получения соединения формулы VI



(b') дегидроксилирования соединения формулы VI для получения соединения формулы I



где

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

R_1 и R_2 вместе с атомом N, прикрепленным к ним, формируют 4-8-членный гетероциклоалкил, где гетероциклоалкил необязательно замещают одним или несколькими заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из гидроксила, галогена, C_{1-4} алкила и C_{1-4} алкокси.

В одном из вариантов осуществления основание выбирают из группы, состоящей из карбоната натрия, бикарбоната натрия, карбоната калия, фосфата калия, бикарбоната калия, карбоната цезия, гидроксида лития, гидроксида натрия, гидроксида калия, гидроксида кальция, гидроксида магния, гидроксида бария, метоксида натрия, этоксида натрия, т-бутоксида натрия, т-бутоксида калия, триэтиламина, диизопропилэтиламина, пиридина, N,N-диметиламинопиридина, пиперидина, N-метилпиперидина, морфолина, N-метилморфолина и любого их сочетания, предпочтителен карбонат натрия, карбонат калия, гидроксид

натрия, гидроксид калия и любое их сочетание, наиболее предпочтителен карбонат калия.

В одном из вариантов осуществления стадию (a') осуществляют в растворителе. В предпочтительном варианте осуществления растворителем является метанол или смесь метанола с водой.

В одном из вариантов осуществления молярное соотношение соединения формулы II и основания составляет 1,0:1,0-3,0, предпочтительно 1,0:1,0-1,5, более предпочтительно 1,0:1,2.

В одном из вариантов осуществления молярное соотношение соединения формулы II и соединения формулы III' составляет 1,0:1,0-3,0, предпочтительно 1,0:1,0-1,5, более предпочтительно 1,0:1,2-1,5.

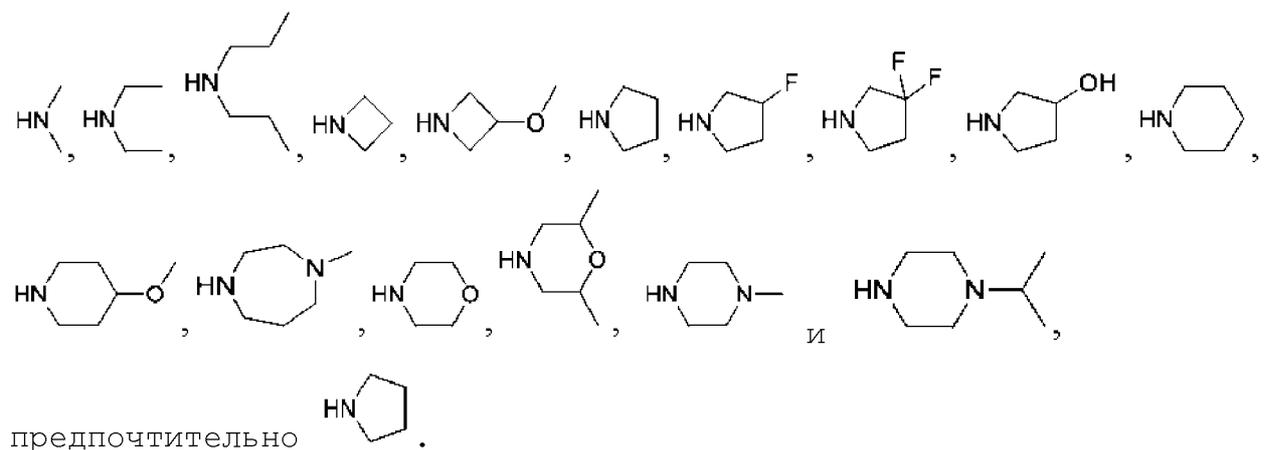
В предпочтительном варианте осуществления дегидроксилирование осуществляют в присутствии триэтилсилана и трифторуксусной кислоты.

В другом предпочтительном варианте осуществления молярное соотношение соединения формулы VI и триэтилсилана составляет 1:1-10, предпочтительно 1:2-8, более предпочтительно 1:5.

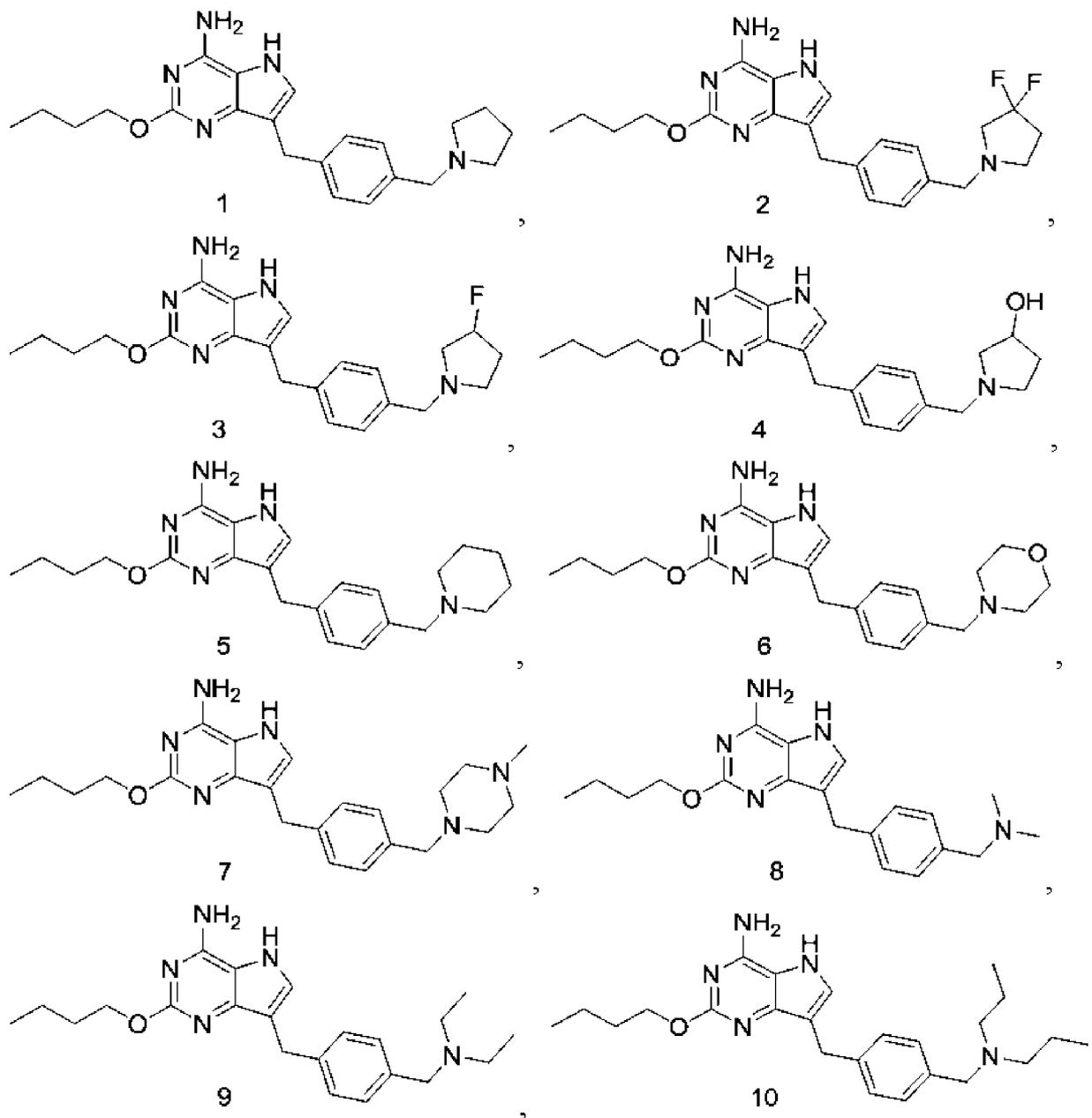
В другом предпочтительном варианте осуществления молярное соотношение соединения формулы VI и трифторуксусной кислоты составляет 1:2-20, предпочтительно 1:5-15, более предпочтительно 1:10-12.

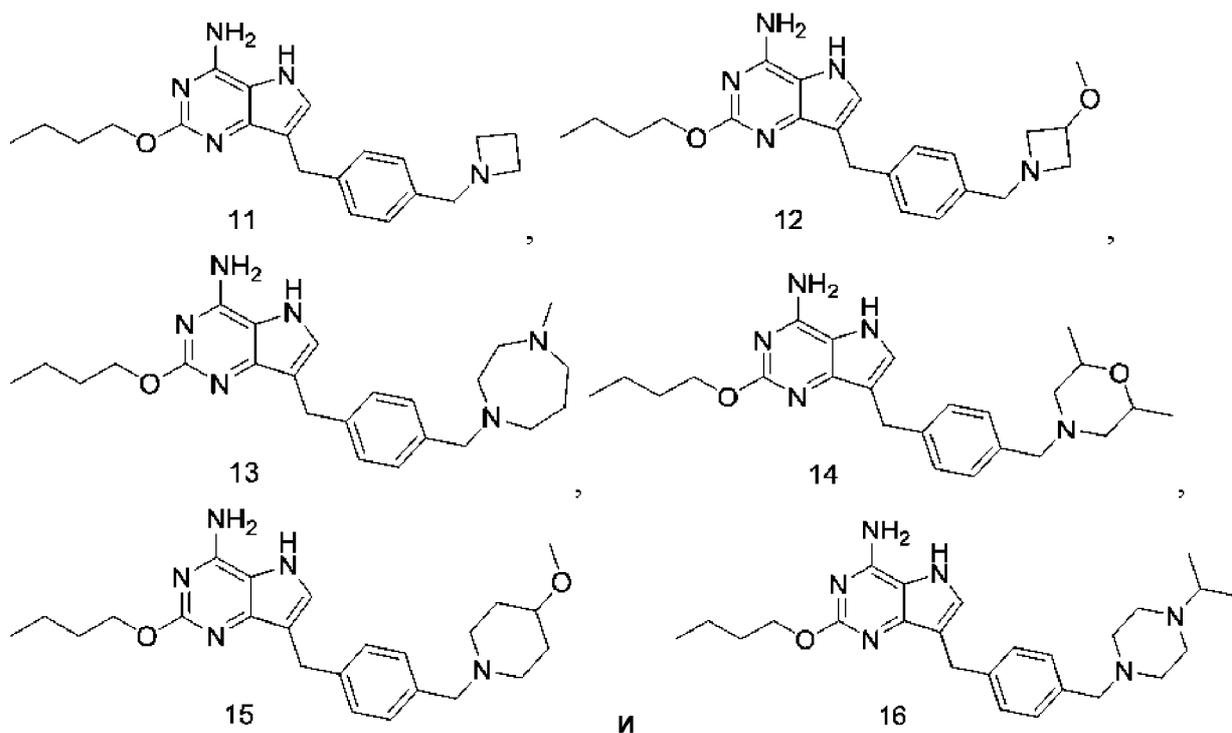
В одном из вариантов осуществления стадию (b') осуществляют в растворителе. В предпочтительном варианте осуществления растворителем является дихлорметан.

В одном из вариантов осуществления соединение формулы V выбирают из



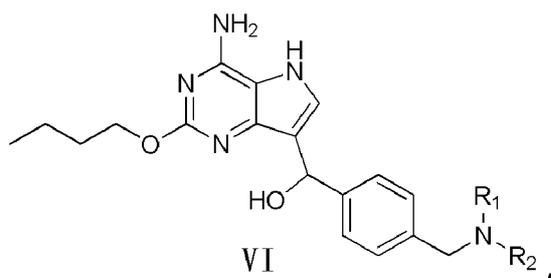
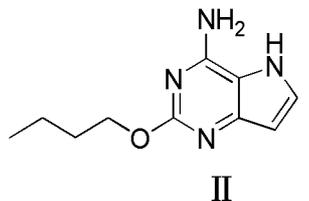
В предпочтительном варианте осуществления соединения формулы I выбирают из соединений, пронумерованных следующим образом:





Промежуточное соединение и получение

В качестве промежуточного соединения предоставлены соединения формулы II и соединение формулы VI:



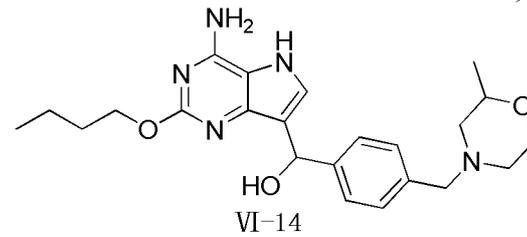
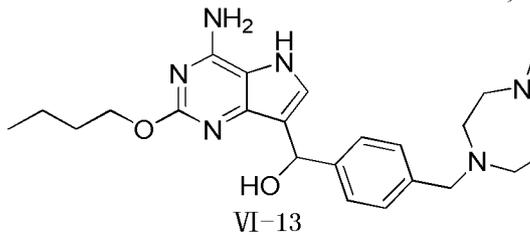
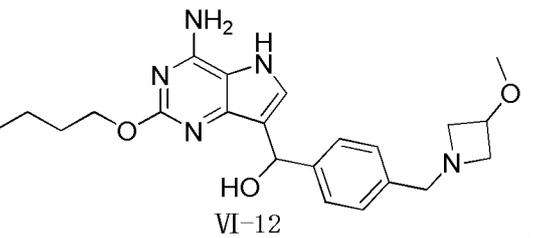
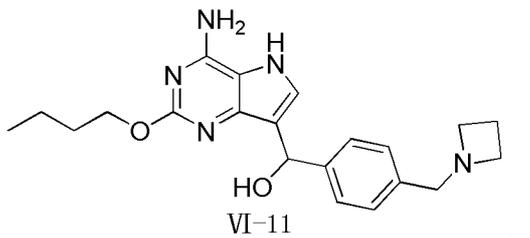
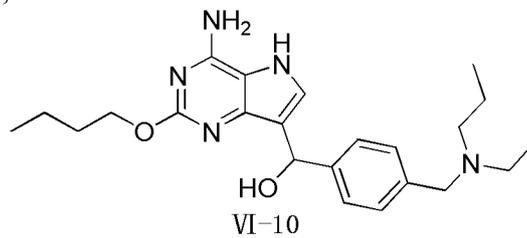
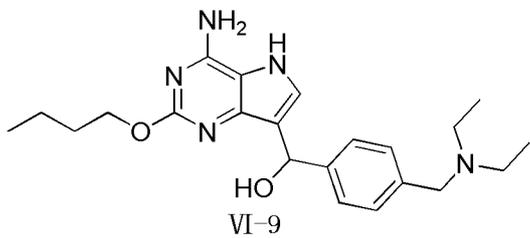
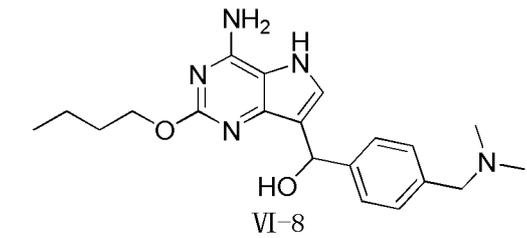
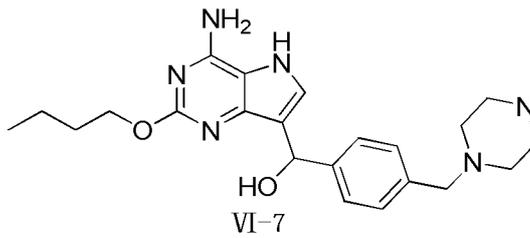
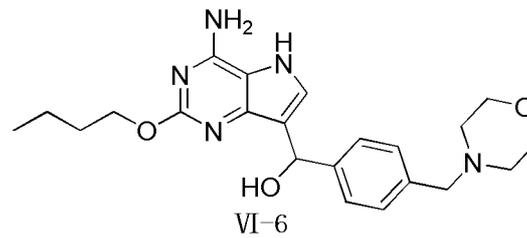
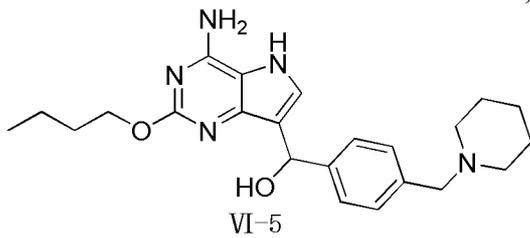
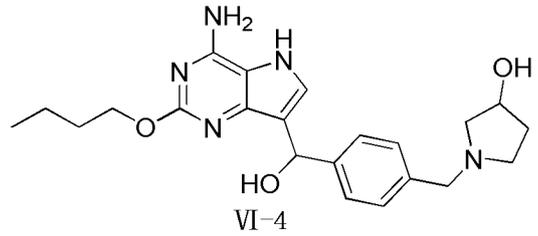
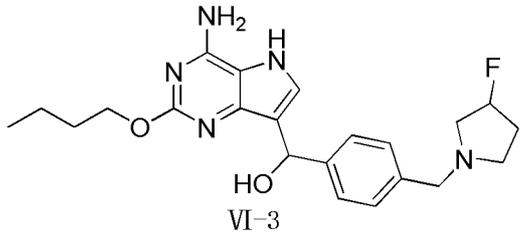
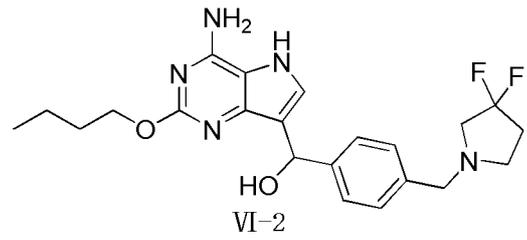
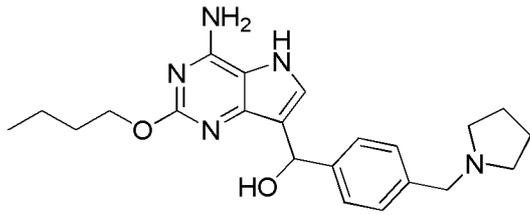
где

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

R_1 и R_2 вместе с атомом N, прикрепленным к ним, формируют 4-8-членный гетероциклоалкил, где гетероциклоалкил необязательно замещают одним или несколькими заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из гидроксила, галогена, C_{1-4} алкила и C_{1-4} алкокси.

В одном из вариантов осуществления соединения формулы VI

выбирают из



получения.

Примеры

Чтобы лучше понять изобретение, далее приведена дополнительная иллюстрация со ссылкой на следующие примеры. Однако конкретные примеры не предназначены для того, чтобы ограничивать объем настоящего изобретения.

Пример получения 1

Пример получения соединения формулы I:

Получение 2-бутокси-7-(4-(пирролидин-1-илметил)бензил)-5Н-пирроло[3,2-d]пиримидин-4-амина (соединения формулы I № 1)

Получение 4-((4-амино-2-бутокси-5Н-пирроло[3,2-d]пиримидин-7-ил)-гидроксиметил)бензальдегида (соединения формулы IV)



В трехгорлую колбу добавляли терефталевый альдегид (790,64 мг, 5,82 ммоль) и изопропанол (10 мл), после чего следовало добавление 2-бутокси-5Н-пирроло[3,2-d]пиримидин-4-амина (1,00 г, 4,85 ммоль) при перемешивании. Перемешивание осуществляли в течение 10 мин, после систему охлаждали до 0°C. Добавляли очищенную воду (10 мл) и карбонат калия (804,17 мг, 5,82 ммоль) и осуществляли реакцию при 25°C в течение 16 ч до исчерпания сырья при мониторинге с помощью LCMS. После завершения реакции осаждали твердое вещество. Осуществляли фильтрование и твердое вещество последовательно разжижали в 20 мл очищенной воды и 30 мл (этилацетата/н-гептана=1/20). Осуществляли фильтрование и проводили сушку для получения указанного в заголовке соединения в виде твердого вещества желтого цвета (1,50 г, 4,41 ммоль, выход: 90,9%).

¹H ЯМР (400 МГц, метанол-d₄) δ 9,94 (с, 1H), 7,86 (д, J=8,16 Гц, 2H), 7,72 (д, J=8,16 Гц, 2H), 7,12-7,17 (м, 1H), 6,19 (с, 1H), 4,28 (т, J=6,53 Гц, 2H), 1,68-1,77 (м, 2H), 1,44-1,54 (м, 2H), 0,97 (т, J=7,34 Гц, 3H).

Получение (4-амино-2-бутокси-5Н-пирроло [3,2-d] пиримидин-7-ил) (4-(пирролидин-1-илметил) фенил) метанола (соединение формулы VI-1)

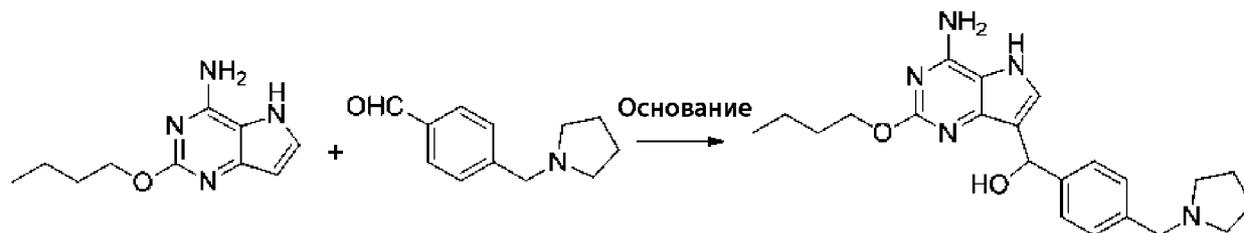


В 30 л сосуд добавляли полученное выше соединение формулы IV 4-((4-амино-2-бутокси-5Н-пирроло [3,2-d] пиримидин-7-ил) - гидроксилметил) бензальдегид (450,0 г, 1,32 моль) и изопропанол (4,5 л). После перемешивания в течение 5 мин добавляли ледяную уксусную кислоту (119,0 г, 1,98 моль). Систему перемешивали до тех пор, пока ее не охлаждали до 0-10°C. Пирролидин (112,4 г, 1,58 моль) добавляли по каплям, во время чего температуру системы поддерживали ниже 10°C. После добавления, по частям добавляли триацетоксиборогидрид натрия ($\text{NaBH}(\text{AcO})_3$) (420,0 г, 1,98 моль). Реакцию осуществляли при 10-20°C в течение 3 ч до исчерпания сырья при мониторинге посредством жидкостной хроматографии. После завершения реакции добавляли 5 л очищенной воды и температуру раствора снижали приблизительно до -10°C. Добавляли 12 л 15% водного аммиака, во время чего температуру раствора поддерживали ниже 0°C. Твердое вещество осаждали при перемешивании. Осуществляли фильтрование и твердое вещество последовательно разжижали в 2 л воды и 2 л x2 этилацетата. Осуществляли фильтрование и проводили сушку при 40°C при пониженном давлении в течение 12 ч, чтобы получить указанное в заголовке соединение в виде твердого вещества желтого цвета (465,0 г, 1,18 моль, выход 89,4%, влага 0,9%).

^1H ЯМР (400 МГц, метанол- d_4) δ 7,46 (д, $J=7,91$ Гц, 1H), 7,29 (д, $J=8,03$ Гц, 1H), 7,09 (с, 1H), 6,12 (с, 1H), 4,29 (т, $J=6,53$ Гц, 2H), 3,60 (с, 2H), 2,52 (ушир. с, 4H), 1,66-1,83 (м, 6H), 1,49 (д, $J=7,53$ Гц, 2H), 0,98 (т, $J=7,40$ Гц, 3H).

Соединение формулы VI-1 также можно получать в соответствии со следующим процессом:

Получение (4-амино-2-бутокси-5Н-пирроло [3,2-d] пиримидин-7-ил) (4-(пирролидин-1-илметил) фенил) метанола (соединения формулы VI-1)



В смесь 2-бутокси-5Н-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-амина (3,00 г, 14,55 ммоль), 4-(пирролидин-1-илметил) бензальдегида (4,13 г, 21,82 ммоль), метанола (30 мл) и воды (30 мл) добавляли карбонат калия (2,41 г, 17,46 ммоль) при перемешивании. Затем перемешивание осуществляли при 25°C в течение 12 ч и происходило истощение сырья при мониторинге посредством тонкослойной хроматографии. Твердое вещество осаждали после завершения реакции. Добавляли 30 мл воды и твердое вещество фильтровали и сушили для получения указанного в заголовке соединения в виде твердого вещества белого цвета (3,50 г, 8,85 ммоль, выход: 60,82%).

¹H ЯМР (400 МГц, метанол-d₄) δ 7,46 (д, J=7,91 Гц, 1H), 7,29 (д, J=8,03 Гц, 1H), 7,09 (с, 1H), 6,12 (с, 1H), 4,29 (т, J=6,53 Гц, 2H), 3,60 (с, 2H), 2,52 (ушир. с, 4H), 1,66-1,83 (м, 6H), 1,49 (д, J=7,53 Гц, 2H), 0,98 (т, J=7,40 Гц, 3H).

Получение 2-бутокси-7-(4-(пирролидин-1-илметил) бензил) -5Н-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-амина (соединение формулы I № 1)



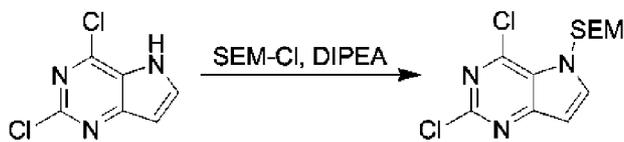
В 20 л сосуд добавляли полученное выше соединение формулы VI-1 (4-амино-2-бутокси-5Н-пирроло [3,2-d] пиримидин-7-ил) (4-(пирролидин-1-илметил) фенил) метанол (440,0 г, 1,11 моль) и дихлорметан (7,0 л). Систему перемешивали до тех пор, пока ее не охлаждали ниже -15°C. Триэтилсилан (880 мл, 5,55 моль) добавляли по каплям, после чего следовала трифторуксусная кислота (880 мл,

11,84 моль) по каплям, во время чего температуру системы поддерживали ниже -10°C . После добавления, реакцию осуществляли при 0°C в течение 2 ч до исчезновения точки сырья при мониторинге посредством жидкостной хроматографии. После завершения реакции реакционную жидкость концентрировали досуха, добавляли 2,2 л этилацетата и систему охлаждали ниже 0°C при перемешивании. Насыщенный раствор карбоната натрия добавляли для того, чтобы корректировать pH до 9-10, во время чего температуру поддерживали ниже 10°C . Осуществляли фильтрование и полученный фильтровальный осадок разжижали в 2,2 л воды. Сушку проводили при пониженном давлении для получения 550 г 2-бутоксипирроло[3,2-d]пиримидин-4-амин (трифторацетата указанного в заголовке соединения) в виде твердого вещества белого цвета. Полученное твердое вещество белого цвета обессоливали при щелочных условиях для получения указанного в заголовке соединения, которое можно осуществлять, например, с помощью стандартного процесса.

^1H ЯМР (400 МГц, метанол- d_4) δ 7,27 (д, $J=8,0$ Гц, 2H), 7,22 (д, $J=8,0$ Гц, 2H), 7,04 (с, 1H), 4,32 (т, $J=6,6$ Гц, 2H), 3,99 (с, 2H), 3,60 (с, 2H), 2,55-2,52 (м, 4H), 1,85-1,71 (м, 6H), 1,55-1,48 (м, 2H), 1,00 (т, $J=7,4$ Гц, 3H).

Пример получения 2: соединение формулы II

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

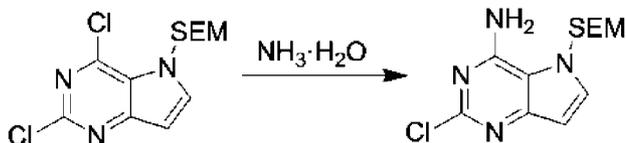


В DMF (20,00 л) растворяли 2,4-дихлор-5Н-пирроло[3,2-d]пиримидин (4,00 кг, 21,28 моль), по частям добавляли DIPEA (2,58 кг, 20,00 моль) при комнатной температуре (25°C) и перемешивание осуществляли впоследствии в течение 30 мин. Реакционную жидкость охлаждали до 0°C с использованием ледяной бани. Затем SEM-Cl (4,00 кг, 24,00 моль) добавляли по каплям медленно при скорости 1-2 капли/с в течение 5 ч. После добавления, реакцию осуществляли при 0°C в течение 4 ч при

перемешивании, и мониторинг реакции осуществляли с помощью HPLC до завершения реакции. Реакционную жидкость гасили и разводили в 70 л воды и экстрагировали этилацетатом (15 л ×3). Объединенную органическую фазу последовательно промывали в 1 М водном растворе соляной кислоты (5 л ×2) и насыщенном солевом растворе (7 л ×2). Растворитель удаляли посредством дистилляции при пониженном давлении для получения указанного в заголовке соединения (6,40 кг, 20,11 моль, выход 94,50%).

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 8,24-8,35 (м, 1H), 6,70-6,85 (м, 1H), 5,77 (с, 2H), 3,45-3,57 (м, 2H), 0,74-0,86 (м, 2H), 0,00 (с, 9H).

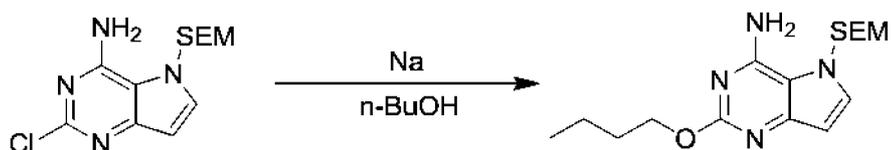
2-хлор-5-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-5H-пирроло[3,2-d]пиримидин-4-амин



В изопропанол (1,60 л) растворяли 2,4-дихлор-5-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-5H-пирроло[3,2-d]пиримидин (1,60 кг, 5,03 моль) в 10 л автоклаве. Водный аммиак (4 л) добавляли одной частью при комнатной температуре (25°C). Реакционную смесь перемешивали при 95°C в течение 7 ч и осуществляли мониторинг посредством HPLC до завершения реакции. Реакционную жидкость оставляли остывать до комнатной температуры и фильтровали через воронку Бюхнера для получения твердого вещества темно-коричневого цвета. Твердое вещество последовательно разжижали в этилацетате/н-гептане (1/1, 5 л ×2) и этилацетате (4 л) для получения указанного в заголовке соединения в виде твердого вещества коричневого цвета (1,25 кг, 4,18 моль, выход 83,1%).

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 7,61-7,77 (м, 1H), 6,97-7,19 (м, 2H), 6,28-6,38 (м, 1H), 5,54-5,67 (м, 2H), 3,43-3,53 (м, 2H), 0,76-0,91 (м, 2H), 0,07 (с, 9H).

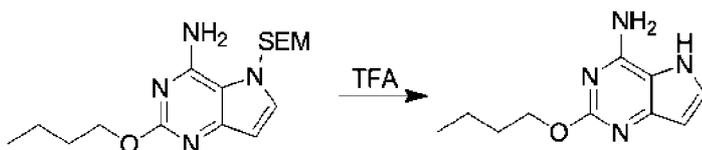
2-бутокси-5-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-5H-пирроло[3,2-d]пиримидин-4-амин



В n-BuOH (17,0 л) медленно добавляли металлический натрий (525,05 г, 22,84 моль) по частям под атмосферой азота. После добавления, систему нагревали до 60°C и продолжали перемешивание при этой температуре до полного растворения металлического натрия. Систему охлаждали до 25°C и по частям добавляли 2-хлор-5-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-5Н-пирроло[3,2-d]пиримидин-4-амин (1,95 кг, 6,53 моль). После гомогенного смешивания при перемешивании, реагенты перемешивали при 90°C в течение 8 ч и осуществляли мониторинг посредством HPLC до завершения реакции. Реакционную жидкость оставляли остывать до 25°C, медленно выливали в 30 л насыщенного водного раствора хлорида аммония и экстрагировали этилацетатом (15 л ×3). Объединенную органическую фазу промывали насыщенным солевым раствором (20 л ×2) и сушили с использованием безводного Na₂SO₄. После фильтрования, растворитель удаляли посредством дистилляции при пониженном давлении и остаток разжижали в н-гептане (4 л). Осуществляли фильтрование для получения твердого вещества. Затем твердое вещество разжижали этилацетатом (5 л) для получения указанного в заголовке соединения в виде твердого вещества желто-белого цвета (1,53 кг, 4,55 моль, 69,7%).

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 7,49-7,54 (м, 1H), 6,54-6,62 (м, 2H), 6,15-6,20 (м, 1H), 5,54 (с, 2H), 4,10-4,22 (м, 2H), 3,42-3,55 (м, 2H), 1,58-1,73 (м, 2H), 1,35-1,47 (м, 2H), 0,90-0,96 (м, 3H), 0,83-0,89 (м, 2H), 0,05 (с, 9H).

2-бутоксид-5Н-пирроло[3,2-d]пиримидин-4-амин



В TFA (5,50 л) растворяли 2-бутоксид-5-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-5Н-пирроло[3,2-d]пиримидин-4-амин (1,10 кг, 3,27 моль). Реакционную жидкость перемешивали при 25°C

в течение 16 ч, и осуществляли мониторинг посредством HPLC до завершения реакции. TFA удаляли посредством дистилляции при пониженном давлении. Остаток растворяли в метаноле (1,2 л) и воде со льдом (1,2 л), концентрированный водный аммиак использовали при равномерном перемешивании для того, чтобы корректировать pH до 12 и затем перемешивание осуществляли в течение 2 ч. Осадок осаждали из раствора непрерывно. После фильтрования, фильтровальный осадок представлял собой твердое вещество белого цвета, которое последовательно разжижали в 15% водном аммиаке (1,2 л ×3) и этилацетате (4 л) для получения указанного в заголовке соединения в виде твердого вещества белого цвета (550,00 г, 2,67 моль, 81,7%).

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

Примеры фармацевтической активности

Скрининг активности связывания рецептора *in vitro* для Toll-подобного рецептора 7 и Toll-подобного рецептора 8

Реактивы:

Клетки HEK-blue hTLR7 и клетки HEK-blue hTLR8 (доступны в InvivoGen)

Среда DMEM

Инактивированная теплом эмбриональная телячья сыворотка

Реактив NormocinTM против Mycoplasma

Блеомицин

Бластцидин

Структуры GS-9620 и R848 использовали следующим образом, где получение GS-9620 можно найти в процессе, раскрытом в US20100143301; R848 коммерчески доступен в ABGENT (IMG-2208, описание: 0,5 мг).

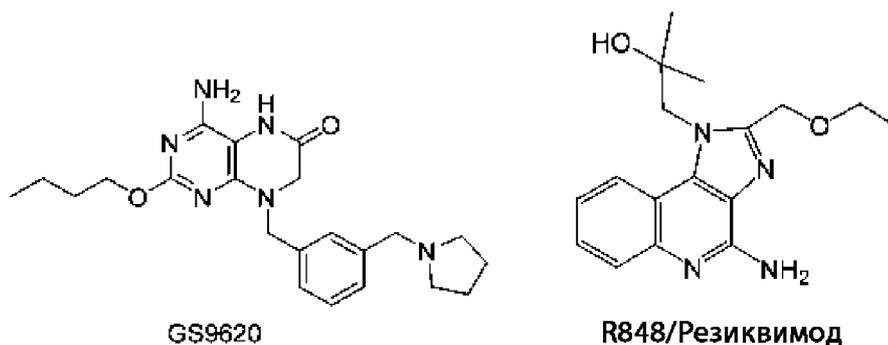


Схема:

1. Получение 96-луночного планшета с соединениями:

Получали градиент разведений соединений в DMSO 3-кратно с использованием станции для работы с жидкостями POD, начиная с концентрации 10 ммоль/л и разводили 10 точек (со 2-й колонки до 11-й колонки, и каждую точку дублировали). В 12-ю колонку добавляли 1 мкл 5 мг/мл положительного соединения R848 в качестве положительного контроля; и в 1-ю колонку добавляли 1 мкл DMSO в качестве отрицательного контроля. Каждая лунка содержала 1 мкл DMSO.

2. Клетки в культуральной колбе собирали и плотность клеток разводили до 250000 клеток/мл.

3. 200 мкл (50000 клеток/лунка) клеточной суспензии добавляли в полученный планшет с соединениями и конечная концентрация DMSO в каждой лунке составляла 0,5%.

4. Культуральные планшеты, содержащие клетки и соединения, инкубировали в CO₂ инкубаторе в течение 24 ч при 37°C, 5% CO₂.

5. После 24 ч инкубации 20 мкл супернатанта удаляли из каждой лунки в 96-луночных прозрачный аналитический планшет. В каждую лунку аналитического планшета добавляли 180 мкл реактива Quanti-Blue и планшет инкубировали в инкубаторе при 37°C, 5% CO₂ в течение 1 ч.

6. После 1 ч содержание щелочной фосфатазы в 20 мкл супернатанта определяли с использованием Microplate Reader OD650.

7. EC₅₀ каждого соединения получали с использованием программного обеспечения Prism.

Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1

Соединение	TLR7 EC ₅₀	Соединение	TLR7 EC ₅₀
Соединение 1	В	Соединение 9	В
Соединение 2	С	Соединение 10	В
Соединение 3	В	Соединение 11	В
Соединение 4	В	Соединение 12	В
Соединение 5	В	Соединение 13	В
Соединение 6	С	Соединение 14	В
Соединение 7	С	Соединение 15	В
Соединение 8	В	Соединение 16	В

Примечание: $1 \text{ нМ} \leq A \leq 100 \text{ нМ}$; $100 \text{ нМ} < B \leq 1000 \text{ нМ}$; $1000 \text{ нМ} < C \leq 50 \text{ мМ}$.

Результаты соединения 1 и контрольного образца агониста GS-9620 Toll-подобного рецептора 7 представлены в таблице 2.

Таблица 2

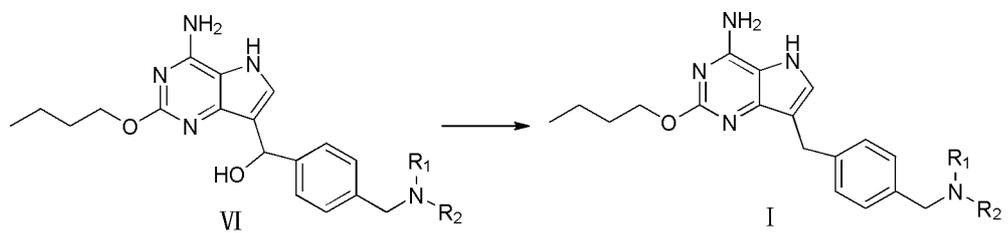
Образцы (указанное в заголовке соединение)	TLR7 EC ₅₀ (нМ)	TLR8 EC ₅₀ (нМ)
GS-9620	517	7867
Соединение 1	160	11632

Соединение в соответствии с изобретением продемонстрировало более высокую активность связывания рецептора *in vitro* для Toll-подобного рецептора 7, чем контроль (агонист GS-9620 Toll-подобного рецептора 7) и более низкую активность связывания рецептора *in vitro* для Toll-подобного рецептора 8, чем контроль (агонист GS-9620 Toll-подобного рецептора 7).

Соединение по настоящему изобретению обладает выраженными различиями в избирательности в отношении различных рецепторов, и эффект превосходит известный уровень техники.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ получения соединения формулы I, который включает дегидроксилирование соединения формулы VI для получения соединения формулы I



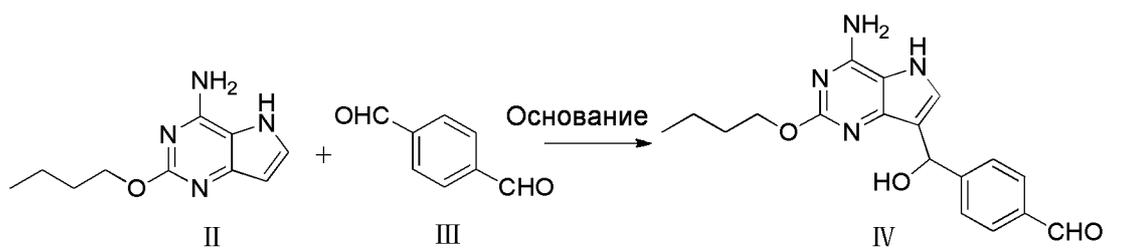
где

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

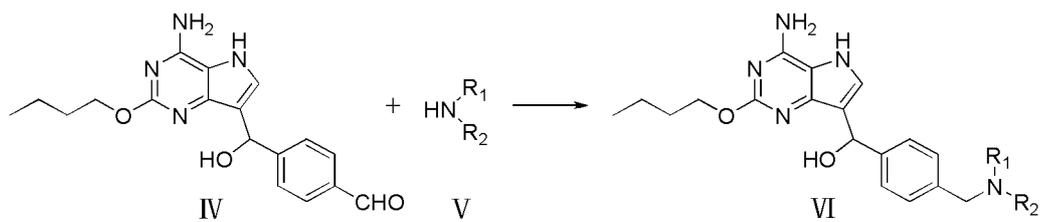
R_1 и R_2 вместе с атомом N, прикрепленным к ним, формируют 4-8-членный гетероциклоалкил, где гетероциклоалкил необязательно замещают одним или несколькими заместителями, независимо выбранным из группы, состоящей из гидроксила, галогена, C_{1-4} алкила и C_{1-4} алкокси.

2. Способ по п. 1, который включает следующие стадии:

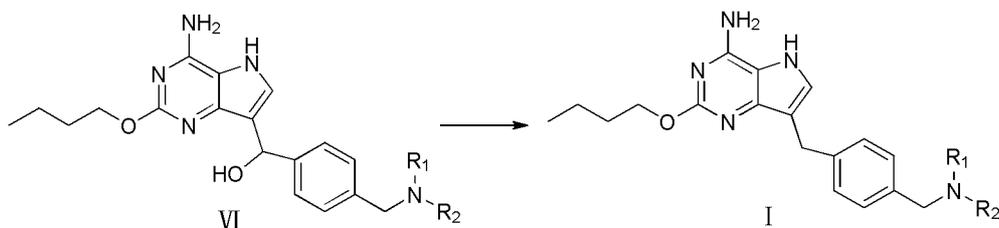
(a) взаимодействие соединения формулы II с соединением формулы III в присутствии основания для получения соединения формулы IV



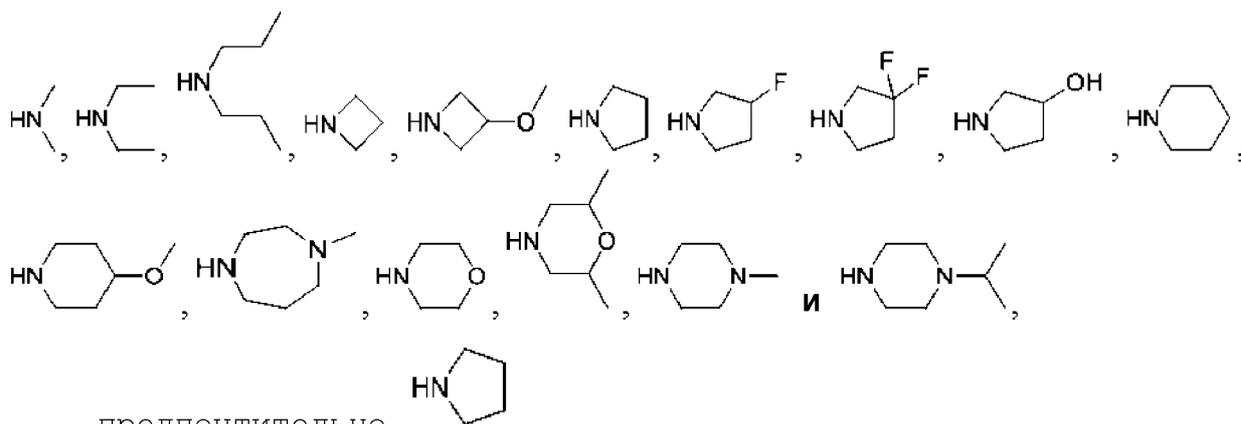
(b) взаимодействие соединения формулы IV с соединением формулы V в присутствии восстановителя для получения соединения формулы VI



(c) дегидроксилирование соединения формулы VI для получения соединения формулы I



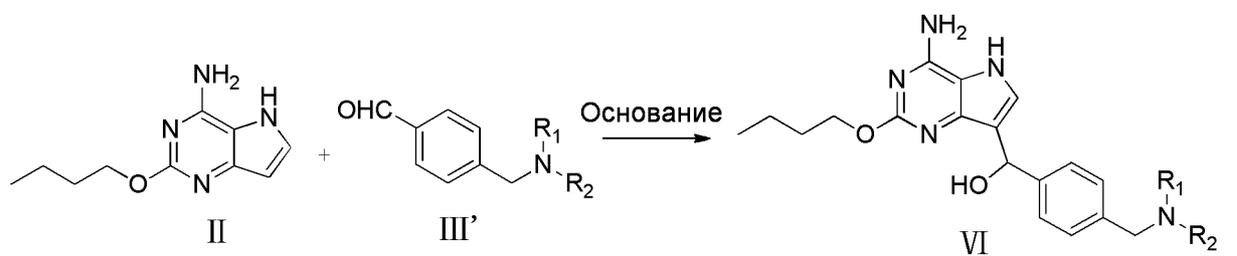
3. Способ по п. 2, в котором соединение формулы V выбирают из:



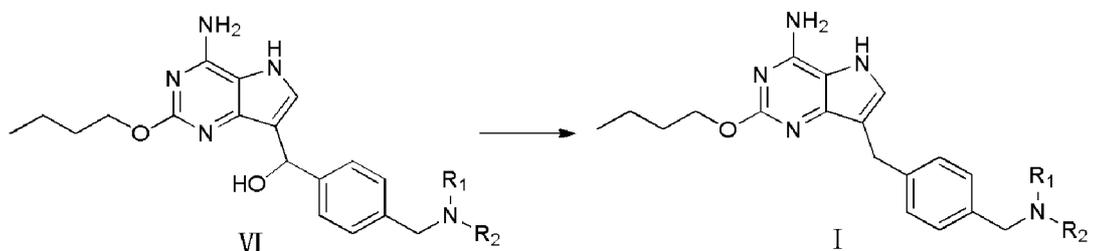
предпочтительно

4. Способ по п. 1, где способ включает следующие стадии:

(a') взаимодействие соединения формулы II с соединением формулы III' в присутствии основания для получения соединения формулы VI



(b') дегидроксилирования соединения формулы VI для получения соединения формулы I



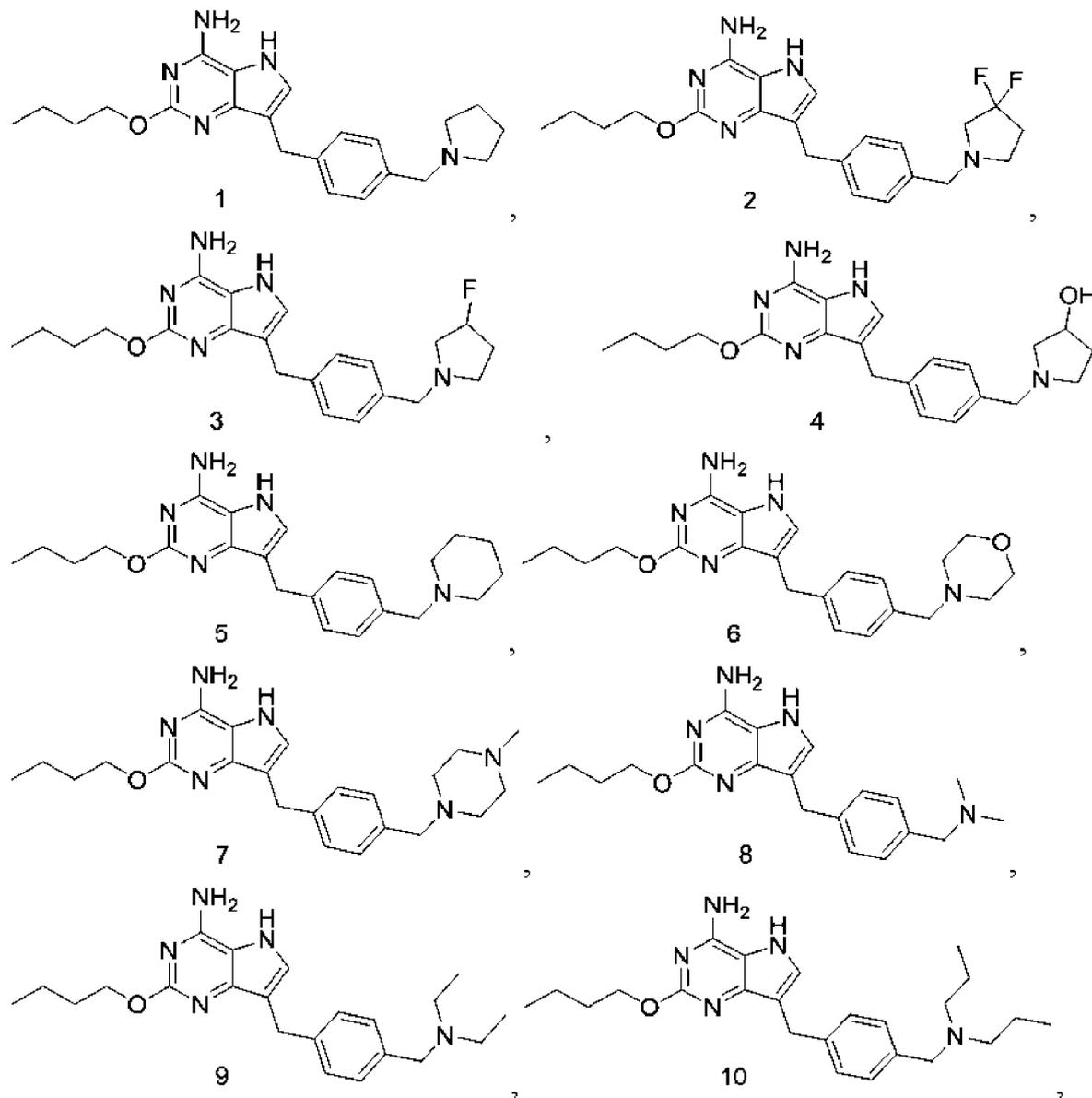
5. Способ по любому одному из пп. 1-4, в котором дегидроксилирование осуществляют в присутствии триэтилсилана и трифторуксусной кислоты.

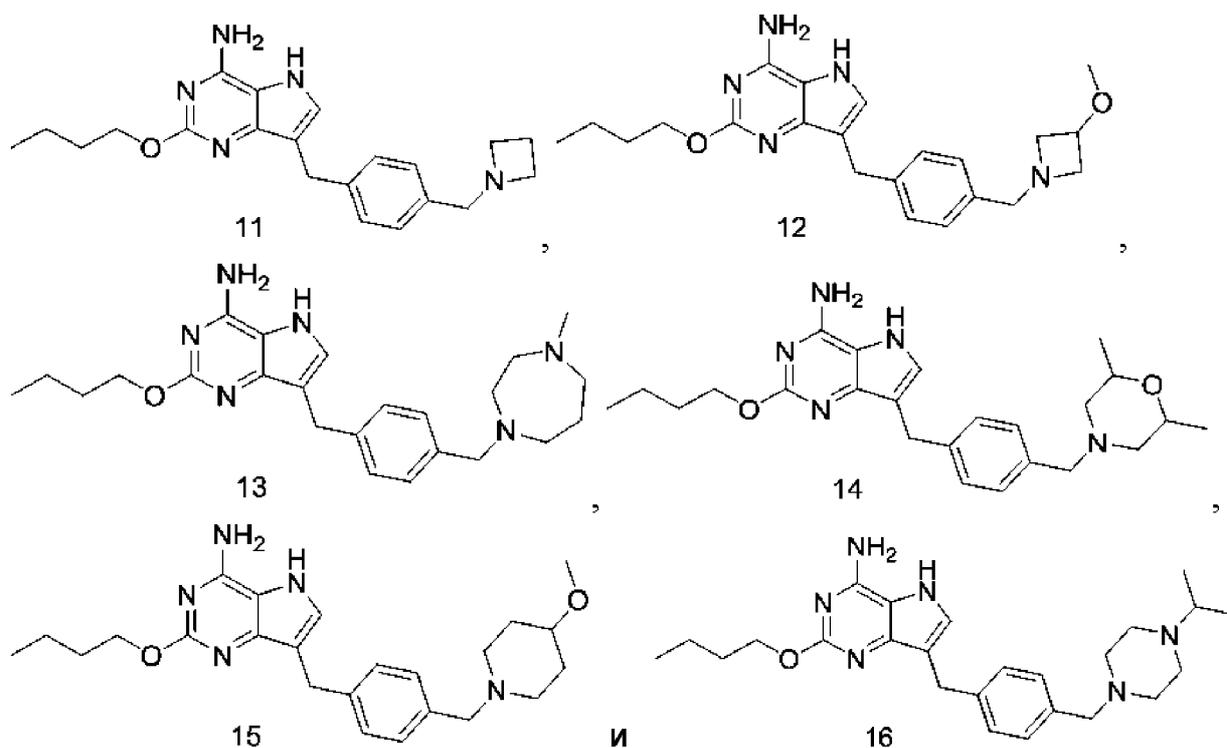
6. Способ по п. 5, в котором

молярное соотношение соединения формулы VI и триэтилсилана составляет 1:1-10, предпочтительно 1:2-8, более предпочтительно 1:5;

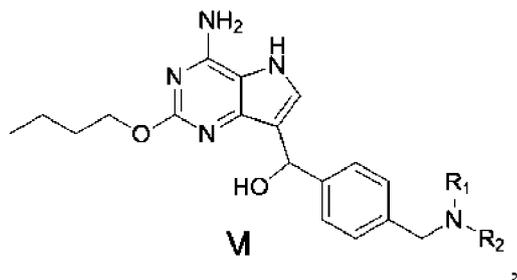
молярное соотношение соединения формулы VI и трифторуксусной кислоты составляет 1:2-20, предпочтительно 1:5-15, более предпочтительно 1:10-12.

7. Способ по любому одному из пп. 1-6, в котором соединение формулы I выбирают из:





8. Соединение формулы VI:

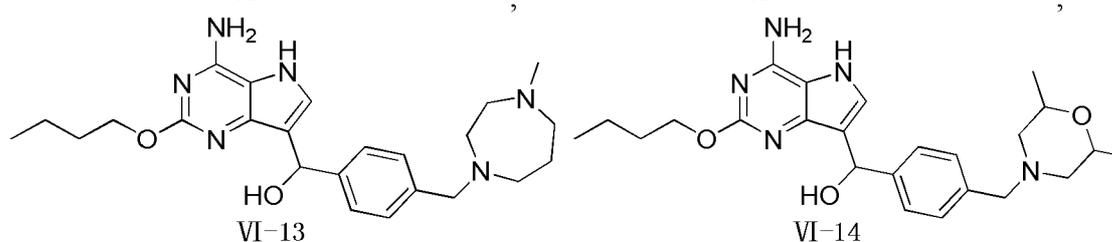
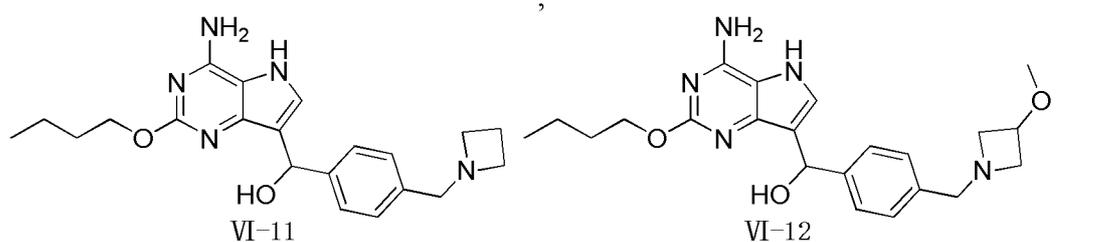
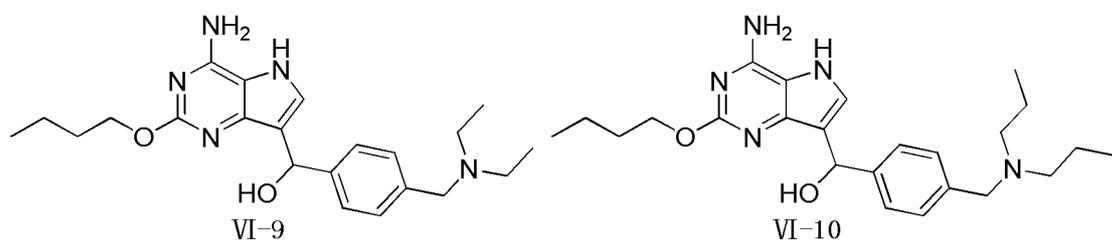
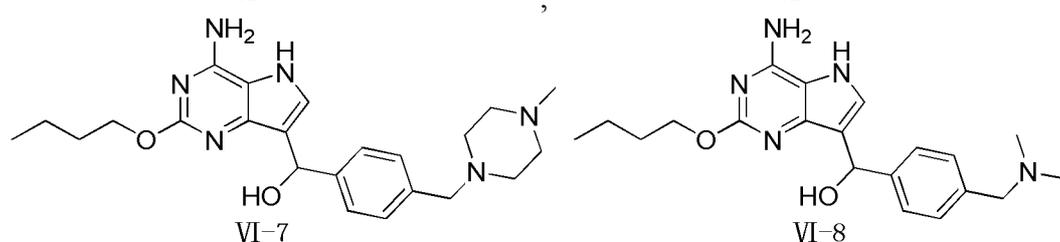
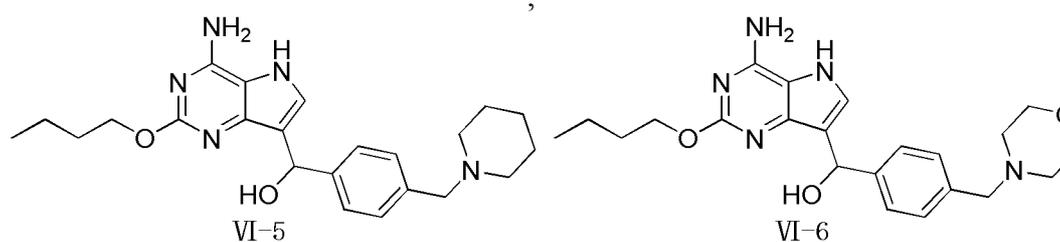
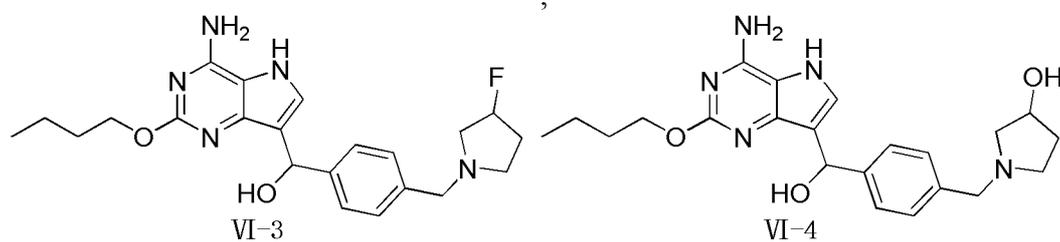
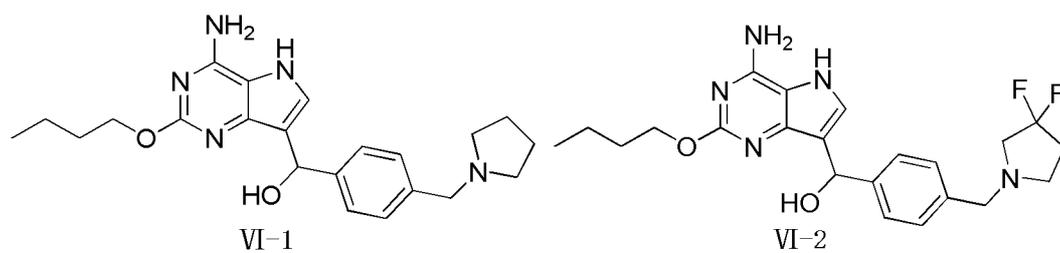


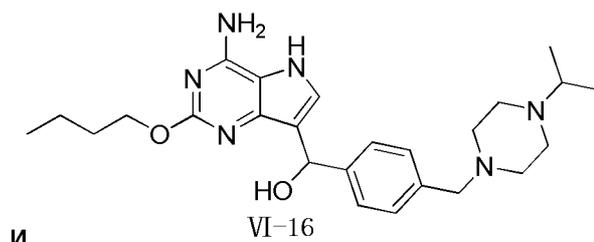
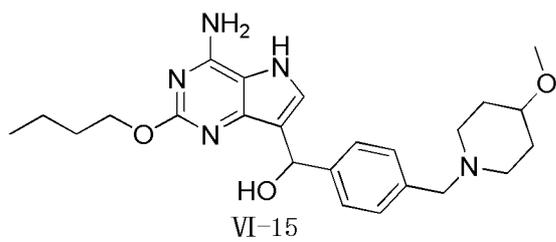
в которой

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

R_1 и R_2 вместе с атомом N, прикрепленным к ним, формируют 4-8-членный гетероциклоалкил, где гетероциклоалкил необязательно замещают одним или несколькими заместителями, независимо выбранными из гидроксила, галогена, C_{1-4} алкила и C_{1-4} алкокси.

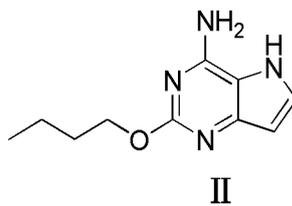
9. Соединение формулы VI по п. 8, выбранное из:





и

10. Соединение формулы II:



По доверенности