

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **035668**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2020.07.23

(21) Номер заявки
201792121

(22) Дата подачи заявки
2016.04.22

(51) Int. Cl. **C07D 471/04** (2006.01)
A61K 31/437 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)

(54) ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ СОЛЕВЫЕ ФОРМЫ ИНГИБИТОРА СЕМИКАРБАЗИДЧУВСТВИТЕЛЬНОЙ АМИНОКСИДАЗЫ (SSAO)

(31) **1507031.1**

(32) **2015.04.24**

(33) **GB**

(43) **2018.03.30**

(86) **PCT/GB2016/051119**

(87) **WO 2016/170351 2016.10.27**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**БЕНЕВОЛЕНТАЙ КЕМБРИДЖ
ЛИМИТЕД (GB)**

(72) Изобретатель:
**Сейвори Эдвард, Хиггинботтом
Майкл (GB)**

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(56) **WO-A1-2010031789**

Harry G. Brittain: "Developing an Appropriate Salt Form for an Active Pharmaceutical Ingredient American Pharmaceutical Review - The Review of American Pharmaceutical Business & Technology", American Pharmaceutical Review, 1 December 2009 (2009-12-01), XP055109646, Retrieved from the Internet: URL:<http://www.americanpharmaceuticalreview.com/Featured-Articles/117788-Developing-an-Appropriate-Salt-Form-for-an-Active-Pharmaceutical-Ingredient/> [retrieved on 2014-03-24], Introduction, table 2

JOHN F. BAUER: "Pharmaceutical Solids - The Amorphous Phase", JOURNAL OF VALIDATION TECHNOLOGY, vol. 15, no. 3, 1 January 2009 (2009-01-01), pages 63-68, XP055280414, Netherlands Table

WERMUTH C.G. ET AL.: "Handbook of Pharmaceutical Salts passage", 1 January 2002 (2002-01-01), HANDBOOK OF PHARMACEUTICAL SALTS: PROPERTIES, SELECTION, AND USE, ZÜRICH: VERL. HELVETICA CHIMICA ACTA; WEINHEIM [U.A.]: WILEY-VCH, DE, PAGE(S) 1-7, XP002421267, ISBN: 978-3-906390-26-0, pages 1, 3

(57) Описываются сульфат ($\cdot 1,5H_2O$) (3S)-тетрагидрофуран-3-ил-(4S)-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5Н-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилата и мезилат (3S)-тетрагидрофуран-3-ил-(4S)-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5Н-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилата, фармацевтические композиции, их содержащие, и их применение для лечения воспаления, воспалительного заболевания, иммунного или аутоиммунного расстройства или для ингибирования роста опухоли.

B1**035668****035668****B1**

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к новым солевым формам (3S)-тетрагидрофуран-3-ил-(4S)-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5Н-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилата и к их применению в медицине.

Предпосылки создания изобретения

Активность семикарбазидчувствительной аминоксидазы (SSAO) является ферментативной активностью, выражаемой белком сосудистой адгезии-1 (VAP-1) или медьсодержащей аминоксидазой 3 (АОС3), принадлежащей к семейству ферментов медьсодержащих аминоксидаз (EC.1.4.3.6). Поэтому ингибиторы фермента SSAO могут также модулировать биологические функции белка VAP-1.

Активность SSAO обнаружена в различных тканях, включая ткань сосудистых и несосудистых гладких мышц, эндотелий и жировую ткань [Lewinsohn, *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 1984, 17, 223-256; Nakos & Gossrau, *Folia Histochem. Cytobiol.*, 1994, 32, 3-10; Yu et al., *Biochem. Pharmacol.*, 1994, 47, 1055-1059; Castillo et al., *Neurochem. Int.*, 1998, 33, 415-423; Lyles & Pino, *J. Neural. Transm. Suppl.*, 1998, 52, 239-250; Jaakkola et al., *Am. J. Pathol.*, 1999, 155, 1953-1965; Morin et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2001, 297, 563-572; Salmi & Jalkanen, *Trends Immunol.*, 2001, 22, 211-216]. Кроме того, белок SSAO обнаружен в плазме крови, и оказывается, что такая растворимая форма имеет свойства, схожие с формой, связанной с тканью [Yu et al., *Biochem. Pharmacol.*, 1994, 47, 1055-1059; Kurkijärvi et al., *J. Immunol.*, 1998, 161, 1549-1557].

Точная физиологическая роль этого распространенного фермента пока не определена полностью, но оказывается, что SSAO и продукты ее взаимодействия могут иметь некоторые функции в регуляции и передаче сигнала клеткой. Например, последние исследования предполагают, что SSAO играет роль как в опосредуемом GLUT4 поглощении глюкозы [Enrique-Tarancon et al., *J. Biol. Chem.*, 1998, 273, 8025-8032; Morin et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2001, 297, 563-572], так и в дифференцировке адипоцитов [Fontana et al., *Biochem. J.*, 2001, 356, 169-111; Mercier et al., *Biochem. J.*, 2001, 358, 335-342]. Кроме того, показано, что SSAO вовлекается в воспалительные процессы, где она действует как адгезивный белок для лейкоцитов [Salmi & Jalkanen, *Trends Immunol.*, 2001, 22, 211-216; Salmi & Jalkanen, в "Adhesion Molecules: Functions and Inhibition" K. Ley (Ed.), 2007, p. 237-251], и также может играть роль в развитии и сохранении матрикса соединительной ткани [Langford et al., *Cardiovasc. Toxicol.*, 2002, 2(2), 141-150; Göktürk et al., *Am. J. Pathol.*, 2003, 163(5), 1921-1928]. Более того, недавно обнаружена связь между SSAO и ангиогенезом [Noda et al., *FASEB J.*, 2008, 22(8), 2928-2935], и на основании этой связи ожидается, что ингибиторы SSAO имеют антиангиогенное действие.

Некоторые исследования на людях показали, что активность SSAO в плазме крови повышается при состояниях, таких как застойная сердечная недостаточность, сахарный диабет, болезнь Альцгеймера и воспаление [Lewinsohn, *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 1984, 17, 223-256; Boomsma et al., *Cardiovasc. Res.*, 1997, 33, 387-391; Ekblom, *Pharmacol. Res.*, 1998, 31, 87-92; Kurkijärvi et al., *J. Immunol.*, 1998, 161, 1549-1557; Boomsma et al., *Diabetologia*, 1999, 42, 233-237; Meszaros et al., *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.*, 1999, 24, 299-302; Yu et al., *Biochim. Biophys. Acta*, 2003, 1647(1-2), 193-199; Mátyus et al., *Curr. Med. Chem.*, 2004, 11(10), 1285-1298; O'Sullivan et al., *Neurotoxicology*, 2004, 25(1-2), 303-315; del Mar Hernandez et al., *Neurosci. Lett.*, 2005, 384(1-2), 183-187]. Предполагается, что реакционноспособные альдегиды и пероксид водорода, выработанные эндогенными аминоксидазами, вносят вклад в развитие сердечно-сосудистых заболеваний, диабетических осложнений и болезни Альцгеймера [Callingham et al., *Prog. Brain Res.*, 1995, 106, 305-321; Ekblom, *Pharmacol. Res.*, 1998, 31, 87-92; Yu et al., *Biochim. Biophys. Acta*, 2003, 1647(1-2), 193-199; Jiang et al., *Neuropathol. Appl. Neurobiol.*, 2008, 34(2), 194-204]. Кроме того, ферментативная активность SSAO вовлекается в процесс экстравазации лейкоцитов в местах воспаления, где, как показано, SSAO в значительной степени экспрессируется на эндотелии сосудов [Salmi et al., *Immunity*, 2001, 14(3), 265-276; Salmi & Jalkanen, в "Adhesion Molecules: Functions and Inhibition", K. Ley (Ed.), 2007, p. 237-251]. Соответственно, предполагается, что ингибирование SSAO имеет терапевтическую ценность при предупреждении диабетических осложнений и при воспалительных заболеваниях [Ekblom, *Pharmacol. Res.*, 1998, 37, 87-92; Salmi et al., *Immunity*, 2001, 14(3), 265-276; Salter-Cid et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2005, 315(2), 553-562].

В WO 2007/146188 утверждается, что блокада активности SSAO ингибирует рекрутмент лейкоцитов, ослабляет воспалительную реакцию и ожидается, будет благоприятной при предупреждении и лечении пароксизмов, например, при эпилепсии.

O'Rourke et al. (*J. Neural. Transm.*, 2007; 114(6):845-9) проверяли потенциальные ингибиторы SSAO при неврологических заболеваниях, причем предварительно показали эффективность ингибирования SSAO на крысиной модели удара. Ингибитор SSAO проверяли на рецидивирующем-ремиттирующем экспериментальном аутоиммунном энцефаломиелите (ЕАЕ), мышинная модель которого разделяет многие характеристики рассеянного склероза человека. Результаты показывают возможное клиническое благоприятное действие терапии низкомолекулярными веществами против SSAO на такой модели и, следовательно, при лечении рассеянного склероза человека.

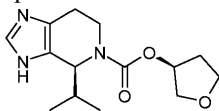
Нокаутированные для SSAO животные фенотипично явно нормальные, но проявляют заметное ослабление воспалительных реакций, вызванных в ответ на различные воспалительные раздражители [Stolen et al., *Immunity*, 2005, 22(1), 105-115]. Кроме того, показано с использованием антител и/или неболь-

ших молекул, что противодействие ее функции у животных дикого типа на многих животных моделях болезни человека (например, вызванного каррагинаном воспаления конечностей, вызванного оксазолоном колита, вызванного липополисахаридом воспаления легких, вызванного коллагеном артрита, вызванного эндотоксином увеита) является защитным в снижении инфильтрации лейкоцитов, уменьшении тяжести фенотипа заболевания и снижении уровней воспалительных цитокинов и хемокинов [Kirton et al., Eur. J. Immunol., 2005, 35(11), 3119-3130; Salter-Cid et al., J. Pharmacol. Exp. Ther., 2005, 315(2), 553-562; McDonald et al., Annual Reports in Medicinal Chemistry, 2007, 42, 229-243; Salmi & Jalkanen, в "Adhesion Molecules: Functions and Inhibition", K. Ley (Ed.), 2007, p. 237-251; Noda et al., FASEB J., 2008 22(4), 1094-1103; Noda et al., FASEB J., 2008, 22(8), 2928-2935]. Оказывается, что такая противовоспалительная защита предоставляется в широком ряду моделей воспаления у всех независимо от причинных механизмов, а не ограничивается одним определенным заболеванием или моделью заболевания. Это позволяет предположить, что SSAO может являться ключевой центральной точкой для регуляции воспалительной реакции, и, следовательно, вероятно, что ингибиторы SSAO будут эффективными противовоспалительными лекарственными средствами при широком ряде заболеваний человека. VAP-1 также вовлечен в развитие и поддержание фиброзных заболеваний, включая болезни печени и легких. Weston and Adams (J. Neural. Transm., 2011, 118(7), 1055-64) суммировали экспериментальные данные о вовлечении VAP-1 в фиброз печени, и Weston et al. (EASL Poster, 2010) сообщают, что блокада VAP-1 ускоряет рассасывание фиброза, вызванного четыреххлористым углеродом. Кроме того, VAP-1 вовлекается в воспаление легких (например, см. Singh et al., 2003, Virchows Arch., 442:491-495), что предполагает, что блокаторы VAP-1 могут ослаблять воспаление легких и, таким образом, благоприятны для лечения муковисцидоза путем лечения как профиброзного, так и провоспалительного аспектов заболевания.

SSAO (VAP-1) ап-регулируется при раке желудка и идентифицирована в сосудистой сети опухоли меланомы, гепатомы и опухолях головы и шеи человека (Yoong K.F., McNab G., Hubscher S.G., Adams D.H. (1998), J. Immunol., 160, 3978-88; Irjala H., Salmi M., Alanen K., Gre'nman R., Jalkanen S. (2001), Immunol., 166, 6937-6943; Forster-Horvath C., Dome B., Paku S. et al. (2004), Melanoma Res., 14, 135-40). В одном сообщении (Marttila-Ichihara F., Castermans K., Auvinen K., Oude Egbrink M.G., Jalkanen S., Griffioen A.W, Salmi M. (2010), J. Immunol., 184, 3164-3173) показано, что у мышей с ферментативно неактивным VAP-1 меланомы растут медленнее и у них уменьшенное число и диаметр кровеносных сосудов опухоли. Уменьшенный рост таких опухолей также отражается в меньшей (на 60-70%) инфильтрации миелоидных супрессорных клеток. Обнадешивает, что дефицит VAP-1 не влияет на образование сосудов или лимфососудов в нормальной ткани.

В силу указанных выше доводов ожидается, что ингибирование SSAO будет снижать уровни продуктов провоспалительных ферментов (альдегидов, пероксида водорода и аммиака), и причем в то же время уменьшается адгезивная способность иммунных клеток и соответственно их активация и конечная экстравазация. Заболевания, при которых ожидается, что такая активность является терапевтически благоприятной, включают все заболевания, где иммунные клетки играют заметную роль в инициации, поддержании или рассасывании патологии таких воспалительных заболеваний и иммунных/аутоиммунных заболеваний. Примеры таких заболеваний включают рассеянный склероз, артрит и васкулит.

Существует неудовлетворенная потребность в новых и улучшенных ингибиторах SSAO. В WO 2010/031789 (включенной в настоящее описание в качестве ссылки) раскрывается перспективный класс соединений ингибиторов SSAO, причем особенно перспективным является соединение примера 16, которое представляет собой свободное основание (3S)-тетрагидрофуран-3-ил-(4S)-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5Н-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилат и имеет следующую структуру:



Свободное основание (3S)-тетрагидрофуран-3-ил-(4S)-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5Н-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилат представляет собой гигроскопичное аморфное стеклообразное/смолистое вещество. Температура стеклования 39°C является относительно низкой температурой, так что свободное основание часто существует в виде смолы.

Изобретение, описанное в настоящем документе, относится к новым солевым формам ингибитора SSAO (3S)-тетрагидрофуран-3-ил-(4S)-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5Н-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилата, неожиданно имеющим улучшенные свойства.

Сущность изобретения

Гигроскопичность является нежелательным свойством для фармацевтического лекарственного средства, поскольку включение воды приводит к ряду проблем. Примеры таких проблем включают трудности взвешивания лекарственного средства из-за переменной массы воды и трудности обращения с лекарственным средством из-за его склонности становиться липким. Смолы, как правило, нежелательны, поскольку они являются липкими и затруднительными в обращении. Кристаллические вещества предпочтительны по сравнению с аморфными смолами, поскольку они лучше фильтруются и поэтому легче сушатся.

Хорошая теплостойкость является желательным свойством для фармацевтического лекарственного средства. Хорошо известно, что во время стандартных процедур измельчения и прессования таблеток температуры обычно превышают 50°C (см., например, *Developing Solid Oral Dosage Forms: Pharmaceutical Theory & Practice*; Yihong Qiu, Yisheng Chen, Geoff G.Z. Zhang, Lirong Liu, William Porter, 2009). Существует значительная опасность, что во время процесса измельчения или таблетирования будет иметь место "участок перегрева" и что температура в этом участке перегрева будет превышать температуру плавления лекарственного средства. Ожидается, что присутствие расплавленного лекарственного средства в процессе измельчения или прессования вызовет комкование частиц лекарственного средства или иное образование агрегатов. Предполагается, что такое плавление, комкование или агрегация препятствуют точности и консистенции.

После широких исследований получения и свойств свободного основания (3S)-тетрагидрофуран-3-ил-(4S)-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5H-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилата и его солевых форм Заявители обнаружили преимущественные солевые формы, а именно, соль мезилат, которая имеет благоприятную высокую теплостойкость и благоприятную низкую гигроскопичность, и соль сульфат, которая существует в виде гидрата, имеющего благоприятную высокую теплостойкость и благоприятную низкую гигроскопичность.

Настоящее изобретение относится к соединению, выбранному из сульфата ($\cdot 1,5H_2O$) (3S)-тетрагидрофуран-3-ил-(4S)-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5H-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилата и мезилата (3S)-тетрагидрофуран-3-ил-(4S)-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5H-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилата.

Также изобретение относится к фармацевтической композиции для лечения воспаления, воспалительного заболевания, иммунного или аутоиммунного расстройства или ингибирования роста опухоли, включающей соединение, выбранное из сульфата ($\cdot 1,5H_2O$) (3S)-тетрагидрофуран-3-ил-(4S)-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5H-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилата и мезилата (3S)-тетрагидрофуран-3-ил-(4S)-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5H-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилата, и один или несколько фармацевтически приемлемых эксципиентов.

Ожидается, что соли сульфата или мезилата (3S)-тетрагидрофуран-3-ил-(4S)-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5H-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилата применимы при лечении воспаления, воспалительного заболевания, иммунного или аутоиммунного расстройства или ингибировании роста опухолей. В одном воплощении воспаление или воспалительное заболевание или иммунное или аутоиммунное расстройство представляют собой артрит (включая ревматоидный артрит, ювенильный ревматоидный артрит, остеоартрит и псориатический артрит), синовит, васкулит, болезнь Шегрена, состояние, связанное с воспалением кишечника (включая болезнь Крона, неспецифический язвенный колит, воспалительное заболевание кишечника и синдром раздраженной толстой кишки), атеросклероз, рассеянный склероз, болезнь Альцгеймера, сосудистую деменцию, болезнь Паркинсона, церебральную амилоидную ангиопатию, церебральную аутосомно-доминантную артериопатию с субкортикальными инфарктами и лейкоэнцефалопатией, воспалительное заболевание легких (включая астму, хроническую обструктивную болезнь легких и острый респираторный дистресс-синдром), фиброзное заболевание (включая идиопатический фиброз легких, кардиальный фиброз, фиброз печени и системный склероз (склеродерму)), воспалительное заболевание кожи (включая контактный дерматит, атопический дерматит и псориаз), воспалительное заболевание глаз (включая возрастную дегенерацию желтого пятна, увеит и диабетическую ретинопатию), синдром системной воспалительной реакции, сепсис, воспаление и/или аутоиммунное состояние печени (включая аутоиммунный гепатит, первичный билиарный цирроз, алкогольную болезнь печени, склерозирующий холангит и аутоиммунный холангит), диабет (типа I или II) и/или его осложнения, хроническую сердечную недостаточность, застойную сердечную недостаточность, ишемическую болезнь (включая удар и ишемически-реперфузионное повреждение) или инфаркт миокарда и/или его осложнения или эпилепсию.

Настоящее изобретение относится к применению указанных солей сульфата и мезилата (3S)-тетрагидрофуран-3-ил-(4S)-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5H-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилата при изготовлении лекарственного средства для лечения или предупреждения вышеуказанных состояний и заболеваний. Изобретение также относится к способам лечения или предупреждения таких состояний и заболеваний, включающим введение млекопитающему, включая человека, нуждающемуся в таком лечении, эффективного количества соединения, указанного выше.

Краткое описание фигур

Фиг. 1 показывает спектры ^1H ЯМР свободного основания (3S)-тетрагидрофуран-3-ил-(4S)-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5H-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилата (обозначен (A)) и соли гидрохлорида (обозначен (B)).

Фиг. 2 показывает спектры ^1H ЯМР свободного основания (3S)-тетрагидрофуран-3-ил-(4S)-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5H-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилата (обозначен (CA)) и соли фосфата (обозначен (D)).

Подробное описание изобретения

После длительного исследования образования солей путем взаимодействия (3S)-тетрагидрофуран-3-ил-(4S)-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5H-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилата с 22 кислотами (хлороводородной кислотой, серной кислотой, 1,2-этанedisульфоновой кислотой, п-толуолсульфоновой кислотой, метансulfоновой кислотой, бензолсulfоновой кислотой, L-аспарагиновой кислотой, малеиновой кислотой, фосфорной кислотой, этансulfоновой кислотой, L-глутаминовой кислотой, L-винной кислотой, фумаровой кислотой, лимонной кислотой, L-яблочной кислотой, D-глюконовой кислотой, D/L-молочной кислотой, L-молочной кислотой, бензойной кислотой, янтарной кислотой, адипиновой кислотой и уксусной кислотой) Заявитель нашел четыре новые кристаллические солевые формы, а именно:

гидрохлорид (3S)-тетрагидрофуран-3-ил-(4S)-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5H-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилата;

фосфат (3S)-тетрагидрофуран-3-ил-(4S)-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5H-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилата;

гидрат сульфата (3S)-тетрагидрофуран-3-ил-(4S)-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5H-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилата и

мезилат (3S)-тетрагидрофуран-3-ил-(4S)-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5H-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилата.

Обнаружено, что соли, образованные взаимодействием свободного основания с 1,2-этанedisульфоновой кислотой, п-толуолсульфоновой кислотой, бензолсulfоновой кислотой, L-аспарагиновой кислотой, малеиновой кислотой, этансulfоновой кислотой, L-глутаминовой кислотой, L-винной кислотой, фумаровой кислотой, лимонной кислотой, L-яблочной кислотой, D-глюконовой кислотой, D/L-молочной кислотой, L-молочной кислотой, бензойной кислотой, янтарной кислотой, адипиновой кислотой и уксусной кислотой, не являются кристаллическими.

Четыре кристаллические соли испытывают для того, чтобы определить легкость обращения с ними, гигроскопичность и теплостойкость. Гидрохлорид и фосфат имеют преимущество улучшенных свойств обращения по сравнению со свободным основанием как стеклом/смолой в силу их кристалличности. Однако первые исследования показывают, что обе солевые формы являются до некоторой степени гигроскопичными. Обе соли расплываются при хранении в течение ночи при 40°C в среде, имеющей 75% относительную влажность.

Соли сульфат и мезилат имеют преимущество улучшенных свойств обращения по сравнению со свободным основанием как стеклом/смолой в силу их кристалличности. Неожиданно обе соли имеют сниженную гигроскопичность. Мезилат расплывается после хранения в течение 3 суток при 40°C в среде, имеющей 75% относительную влажность. Сульфат остается неизменным после хранения в течение 7 суток при 40°C в среде, имеющей 75% относительную влажность.

Соли сульфат и мезилат имеют преимущество существенно улучшенной теплостойкости. Мезилат имеет температуру плавления 189°C. Сульфат имеет температуру плавления 106°C. На основании таких температур плавления ожидается, что как мезилат, так и сульфат выдержат процедуры измельчения и прессования без плавления или иного препятствования процессу. Таким образом, соли как сульфат, так и мезилат имеют неожиданно низкую гигроскопичность и улучшенную теплостойкость по сравнению с соответствующим свободным основанием.

Определения

"Лечение" при использовании в настоящем описании включает профилактику названного расстройства или состояния или облегчение или устранение расстройства, как только оно установлено.

Термин "эффективное количество" относится к количеству соединения, которое дает терапевтический эффект субъекту, которого лечат. Терапевтический эффект может быть объективным (т.е., который можно измерить с помощью некоторого теста или маркера) или субъективным (т.е. субъект показывает или ощущает действие).

"Фармацевтически приемлемый" означает применимость при получении фармацевтической композиции, которая вообще безопасна, нетоксична и ни биологически, ни как-то иначе не является нежелательной, и включает применимость для применения в ветеринарии, а также фармацевтическое применение человеком.

Если не указано иное, термин "(3S)-тетрагидрофуран-3-ил-(4S)-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5H-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилат" в связи с солевыми формами, описанными в настоящем описании, включает смесь энантиомеров (3S,4S) и (3R,4R). В одном воплощении (3S)-тетрагидрофуран-3-ил-

(4S)-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5Н-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилат и его соли имеют абсолютную чистоту >95%, предпочтительно >99%, предпочтительнее >99,5%. В одном воплощении (3S)-тетрагидрофуран-3-ил-(4S)-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5Н-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилат обозначает (3S,4S)-энантиомер, имеющий энантиомерную чистоту >95%, предпочтительно >99%, предпочтительнее >99,5%. В одном воплощении (3S)-тетрагидрофуран-3-ил-(4S)-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5Н-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилат имеет диастереоизомерную чистоту >95%, предпочтительно >99%, предпочтительнее >99,5%.

Композиции

Для клинического применения соединения по изобретению вводят в фармацевтические композиции для различных способов введения. Следует иметь в виду, что соединения по изобретению можно вводить вместе с физиологически приемлемым носителем, эксципиентом или разбавителем. Фармацевтические композиции по изобретению можно вводить любым подходящим путем, предпочтительно пероральным, ректальным, назальным, топическим (включая трансбуккальное и сублингвальное), сублингвальным, трансдермальным, интратекальным, трансмукозальным или парентеральным (включая подкожное, внутримышечное, внутривенное и интрадермальное) введением.

Иначе, композиции обычно могут быть представлены в стандартной лекарственной форме, например таблеток и капсул с пролонгированным высвобождением, и в липосомах и могут быть получены любыми методами, хорошо известными в области фармации. Фармацевтические композиции обычно получают путем смешивания активного вещества или его фармацевтически приемлемой соли с обычными фармацевтически приемлемыми носителями, разбавителями или эксципиентами. Примерами эксципиентов являются вода, желатин, аравийская камедь, лактоза, микrokристаллическая целлюлоза, крахмал, натрия крахмал гликолят, гидрофосфат кальция, стеарат магния, тальк, коллоидный диоксид кремния и т.п. Такие композиции также могут содержать другие фармакологически активные средства и обычные добавки, такие как стабилизаторы, смачивающие вещества, эмульгаторы, корригенты, буферы и т.п. Как правило, количество активных соединений составляет в препарате 0,1-95 мас.%, предпочтительно 0,2-20 мас.% в препаратах для парентерального применения и предпочтительнее 1-50 мас.% в препаратах для перорального введения.

Композиции также можно получить известными способами, такими как грануляция, прессование, микроинкапсулирование, нанесение покрытия распылением и т.д. Композиции можно получить традиционными способами в лекарственной форме таблеток, капсул, гранул, порошков, сиропов, суспензий, суппозиторий или инъекций. Жидкие композиции можно получать растворением или суспендированием активного вещества в воде или других подходящих средах. На таблетки или гранулы можно нанести покрытия обычным способом. Для поддержания терапевтически эффективных концентраций в плазме в течение длительных периодов времени соединения по изобретению могут быть включены в композиции с постепенным высвобождением.

Уровень дозы и частота дозирования конкретного соединения будут изменяться в зависимости от ряда факторов, включая эффективность конкретного используемого соединения, метаболическую устойчивость и длительность действия такого соединения, возраст, массу тела, состояние здоровья, пол, питание пациента, тип и время введения, скорость экскреции, комбинацию лекарств, тяжесть состояния, от которого лечат, и терапию, которой подвергают пациента. Суточная дозировка может, например, колебаться от примерно 0,001 до примерно 100 мг на 1 кг массы тела, вводимая в одной или нескольких дозах, например, от примерно 0,01 до примерно 25 мг каждая. Обычно такая дозировка дается перорально, но также можно выбрать парентеральное введение.

Экспериментальные методы

Эксперименты по образованию солей.

Скрининг солей выполняют с использованием 24 кислотных противоионов (см. табл. 1) в попытке получить как моно-, так и гемисоли в соответствующем случае. Выполняют девять наборов экспериментов с использованием различного ряда систем растворителей и условий.

Таблица 1

Кислоты, используемые для экспериментов по образованию солей

Противоион	Добавление в виде	Противоион	Добавление в виде
Хлороводородная кислота	1 М в ТГФ	Л-Винная кислота	1 М в ТГФ
Серная кислота	1 М в ТГФ	Фумаровая кислота	0,5 М в ТГФ, МеОН
1,2-Этандисульфоновая кислота	1 М в ТГФ	Лимонная кислота	1 М в ТГФ
п-Толуолсульфоновая кислота	1 М в EtOH	Л-Яблочная кислота	1 М в ТГФ
Метансульфоновая кислота	1 М в ТГФ	D-Глюконовая кислота	50% в воде, мас./мас
Бензолсульфоновая кислота	1 М в ТГФ	D/L-Молочная кислота	Жидкость
Л-Аспарагиновая кислота	Твердая	Л-Молочная кислота	1 М в ТГФ
Малеиновая кислота	1 М в ТГФ	Бензойная кислота	1 М в IPA
Фосфорная кислота	1 М в ТГФ	Янтарная кислота	1 М в МеОН
Этансульфоновая кислота	1 М в ТГФ	Адипиновая кислота	1 М в МеОН, ТГФ
Л-Глутаминовая кислота	Твердая	Уксусная кислота	1 М в ТГФ

Эксперименты по образованию солей постепенным охлаждением.

Отдельные образцы (3S)-тетрагидрофуран-3-ил-(4S)-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5Н-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилата свободного основания (20 мг) растворяют в IPA (2,5 об.)/IPAc (2,5 об.), смеси ацетон-вода (9:1, об./об., 2,5 об.) или DIPE (10 об.). Растворы нагревают до 40°C и добавляют каждую испытываемую кислоту (1 или 0,5 экв., см. табл. 1) при осторожном перемешивании. Сосуды выдерживают при 40°C в течение 1 ч и затем охлаждают до 5°C со скоростью 1°/мин. Смеси выдерживают при 5°C в течение ночи. Все полученные твердые вещества собирают фильтрацией и анализируют XRPD. Масла и смолы подвергают циклам созревания, R_T - 50°C, 4 ч при каждой температуре, для благоприятствования кристаллизации. Растворы упаривают в условиях окружающей среды. Остатки анализируют ¹H-ЯМР и ДСК для оценки образования соли и/или возможной кристаллизации после нагревания.

Эксперименты по образованию солей путем добавления антирастворителя.

Отдельные образцы (3S)-тетрагидрофуран-3-ил-(4S)-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5Н-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилата свободного основания (15 мг) растворяют в IPAc (с 3% об./об., воды и без нее, 5 об.) и растворы нагревают до 40°C. Добавляют соответствующие кислоты (1 или 0,5 экв., см. табл. 1) при осторожном перемешивании. Сосуды выдерживают при 40°C в течение 1 ч, затем добавляют возрастающие количества антирастворителя (н-гептана или TBME) до тех пор, пока растворы не станут мутными. В этот момент образцы охлаждают до 5°C со скоростью 1°/мин и выдерживают при 5°C в течение ночи. Добавляют еще антирастворитель, где осаждения не произошло. Все полученные твердые вещества собирают фильтрацией и анализируют XRPD. Масла и смолы подвергают циклам созревания, R_T - 50°C, 4 ч при каждой температуре, для благоприятствования кристаллизации. Растворы охлаждают до температуры ниже температуры окружающей среды и упаривают, если осаждения не происходит.

Аналитические методы.

Порошковая рентгенография (XRPD).

Порошковые рентгенограммы получают на дифрактометре Bruker AXS C2 GADDS с использованием излучения Cu K α (40 кВ, 40 мА), автоматизированной стадии XYZ, лазерного видеомикроскопа для автоматической установки образца и 2-мерного поверхностного детектора HiStar. Рентгеновская оптика состоит из одного многослойного зеркала Göbel, соединенного с точечным коллиматором 0,3 мм. Осуществляют еженедельный контроль технических характеристик с использованием сертифицированного корундового стандарта NIST 1976 (плоская пластина). Расходимость пучка, т.е. эффективный размер рентгеновского пучка на образце, составляет приблизительно 4 мм. Используют режим θ - θ непрерывного сканирования с расстоянием от образца до детектора 20 см, что дает эффективный диапазон 2 θ 3,2-29,7°. Типично образец может подвергаться воздействию рентгеновского пучка в течение 120 с. Про-

грамма, используемая для сбора данных, GADDS для WNT 4.1.16, данные анализируют и представляют с использованием Diffraс Plus EVA, v9.0.0.2 или v13.0.0.2. Образцы, испытываемые в условиях окружающей среды, получают в виде образцов плоских пластин с использованием порошка, как он получен, без измельчения. Приблизительно 1-2 мг образца слегка спрессовывают на предметном стекле для получения плоской поверхности. Образцы, испытываемые не во внешних условиях, располагают на кремниевой пластине с теплопроводящим соединением. Затем образец нагревают до соответствующей температуры приблизительно при 10°C/мин и затем выдерживают в изотермических условиях в течение приблизительно 1 мин перед тем, как начинают сбор данных.

С другой стороны, порошковые рентгенограммы получают на дифрактометре Bruker D8 с использованием излучения Cu K α (40 кВ, 40 мА), гониометра θ -2 θ и расходимости V4 и принимающих щелей, Ge-монокроматора и детектора Lynxeye. Технические характеристики прибора проверяют с использованием сертифицированного корундового стандарта (NIST 1976). Программой, используемой для сбора данных, является Diffraс Plus XRD Commander, v2.5.0GADDS, и данные анализируют и представляют с использованием Diffraс Plus EVA, v11.0.0.2 или v13.0.0.2. Образцы испытывают в условиях окружающей среды в виде образцов плоских пластин с использованием порошка, как он получен. Приблизительно 20 мг образца осторожно помещают в полость, вырезанную в полированной кремниевой пластине с нулевым фоном (510). Образец во время анализа вращается в своей собственной плоскости. Подробности для получения данных: диапазон углов 2-42° 2 θ ; размер шага 0,05° 2 θ ; время сбора 0,5 с/шаг.

Ядерный магнитный резонанс (ЯМР).

Спектры ¹H ЯМР получают на приборе Bruker, 400 МГц, снабженном автоматическим пробоотборником и управляемом пультом DRX400. Автоматизированные эксперименты выполняют с использованием ICONNMR v4.0.4 (форма 1), выполняемой с помощью Topspin v1.3 (уровень исправлений 10), с использованием стандартных опытов загрузки Bruker. В случае нестандартной спектроскопии результатов добиваются с использованием только Topspin. Образцы получают в d₆-DMCO, если не указано иное. Автономный анализ осуществляют с использованием ACD SpecManager v. 12.00 (форма 29094). С другой стороны, спектры ¹H ЯМР получают на приборе Bruker Avance III, 400 МГц, QNP Ultrashield Plus Cryo.

Жидкостная хроматография - масс-спектрометрия (ЖХМС).

Аналитическую ЖХМС выполняют на системе ВЭЖХ Agilent 1100 с масс-спектрометром Waters ZQ с использованием колонки Phenomenex Synergi (RP-Hydro, 150×4,6 мм, 4 мкм, 1,5 мл/мин, 30°C, градиент 5-100% MeCN (+0,085% ТФК) в воде (+0,1% ТФК) в течение 7 мин - выдержка в течение 0,5 мин, 200-300 нм).

Дифференциальная сканирующая калориметрия (ДСК).

Данные по ДСК собирают на приборах TA Q2000, снабженных 50-позиционным автоматическим пробоотборником. Калибровку для теплоемкости выполняют с использованием сапфира и калибровку для энергии и температуры выполняют с использованием сертифицированного индия. Типично 0,5-3 мг каждого образца в алюминиевом тигле с отверстием нагревают по 10°C/мин от 25 до 350°C. Над образцом поддерживают продувку сухим азотом при 50 мл/мин. ДСК с модуляцией по температуре выполняют с использованием основной скорости 2°C/мин и параметров модуляции $\pm 1,27^\circ\text{C}/\text{мин}$ и 60 с. Программой управляющей прибором, является Advantage for Q Series v2.8.0.392 и Thermal Advantage v4.8.3, и результаты анализируют с использованием Universal Analysis v4.3A.

Термогравиметрический анализ (ТГА).

Данные по ТГА собирают на приборах TA Q500 TGA, снабженных 16-позиционным автоматическим пробоотборником. Прибор калибруют по температуре с использованием сертифицированного алюминия и никеля. Типично 5-30 мг каждого образца загружают в предварительно тарированный платиновый тигель и алюминиевый тигель для ДСК и нагревают по 10°C/мин от температуры окружающей среды до 350°C. Над образцом поддерживают продувку азотом при 60 мл/мин. Программой управляющей прибором, является Advantage for Q Series v2.8.0.392 и Thermal Advantage v4.8.3.

Микроскопия в поляризованном свете (PLM).

Образцы исследуют на поляризационном микроскопе Lieca LM/DM с цифровой видеокамерой для представления изображения. Небольшое количество каждого образца помещают на предметное стекло, закрепляют в иммерсионном масле и накрывают предметным стеклом, причем отдельные частицы разделяют насколько возможно. Образец рассматривают при соответствующем увеличении и в частично поляризованном свете в сочетании с лямбда-ложным светофильтром.

Высокотемпературная микроскопия (HSM) [температура плавления].

Высокотемпературную микроскопию осуществляют с использованием поляризационного микроскопа Lieca LM/DM в комбинации с высокотемпературным Metter-Toledo MTFP82HT и цифровой видеокамерой для представления изображения. Небольшое количество каждого образца помещают на предметное стекло с отдельными частицами, разделенными насколько возможно. Образец рассматривают при соответствующем увеличении и в частично поляризованном свете в сочетании с лямбда-ложным светофильтром, причем в это время его нагревают от температуры окружающей среды типично со скоростью 10-20°C/мин.

Определение химической чистоты методом ВЭЖХ.

Анализ на чистоту выполняют на системе Agilent серии HP1100, снабженной диодно-матричным детектором, и с использованием программы ChemStation vB.02.01-SR1, используя метод, подробно описанный ниже.

Получение образца	0,5 мг/мл в смеси ацетонитрил:вода 1:1		
Колонка	Supelco Ascentis Express C18, 100×4,6 мм, 2,7 мкм		
Температура колонки (°C)	25		
Впрыск (мкл)	5		
Длина волны, ширина полосы (нм)	255, 90 нм		
Скорость потока (мл.мин ⁻¹)	2,0		
Фаза А	0,1% ТФК в воде		
Фаза В	0,085% ТФК в ацетонитриле		
График	Время (мин)	Фаза А, %	Фаза В, %
	0	95	5
	6	5	95
	6,2	95	5
	8	95	5

Определение хиральной чистоты методом хиральной ВЭЖХ.

Хиральную ВЭЖХ выполняют на системе Agilent 1200 с использованием колонки Astec Chirobiotic T, 100×4,6 мм, 5 мкм, полярная обращенная фаза, 150×4,6 мм, 5 мкм, изократное элюирование 85% MeOH, 15% 20 mM ацетата аммония в течение 10 мин, 1,0 мл/мин, 220 нм.

Определение воды титрованием по Карлу Фишеру (KF).

Содержание воды в каждом образце измеряют на кулонометре Mettler Toledo DL39 с использованием реагента Hydranal Coulomat AG и продувки аргоном. Взвешенные твердые образцы вводят в сосуд на платиновом тигле для ТГА, который соединен с subseal для того, чтобы избежать попадания воды. Приблизительно 10 мг образца используют на титрование, и определение проводят при двукратном повторе.

Определение сорбции паров гравиметрическим методом (GVS).

Изотермы сорбции получают с использованием анализатора действительной сорбции влаги SMS DVS, управляемого программой DVS Intrinsic Control v1.0.0.30. Поддерживают температуру образца 25°C приборным регулированием. Влажность регулируют, смешивая потоки сухого и влажного азота при общей скорости 200 мл/мин. Относительную влажность измеряют калиброванным зондом Rotronic (динамический диапазон 1,0-100% RH), размещенным вблизи образца. Изменение массы (релаксацию массы) образца как функции % RH контролируют непрерывно по микробалансу (точность ±0,005 мг). Типично 5-20 мг образца помещают в затаренную сетку из нержавеющей стали в условиях окружающей среды. Образец загружают и выгружают при 40% RH и 25°C (типичные комнатные условия). Изотерму сорбции влаги получают, как описано ниже (причем два сканирования дают один полный цикл). Стандартную изотерму получают при 25°C с интервалами 10% RH в диапазоне 0,5-90% RH. Анализ результатов проводят в Microsoft Excel с использованием DVS Analysis Suite v6.0.0.7.

Параметры метода для экспериментов с SMS DVS:

просмотр адсорбции 1: 40-90;
 просмотр десорбции/адсорбции 2: 90-0, 0-40;
 интервалы (%RH): 10;
 число просмотров: 4;
 скорость потока (мл/мин): 200;
 температура (°C): 25;
 устойчивость (°C/мин): 0,2;
 время сорбции (ч): тайм-аут 6 ч.

После получения изотермы образец извлекают и повторно анализируют XRPD.

Ионная хроматография (ИХ).

Результаты получают на Metrohm 761 Compact IC (для катионов) и Metrohm 861 Advanced Compact IC (для анионов) с использованием программы IC Net v2.3. Точно взвешенные образцы подготавливают в виде исходных растворов в соответствующем растворяющем растворе и разбавляют 1:9 перед испытанием. Количественное определение осуществляют путем сравнения со стандартными растворами известной

концентрации анализируемого иона.

Параметры метода ИХ для анионной хроматографии:

тип метода: анионный обмен;

колонка Metrosep A Supp 5-250 (4,0×250 мм);

температура колонки (°C): как у окружающей среды;

впрыск (мкл): 20;

детекция: детектор проводимости;

скорость потока (мл/мин): 0,7;

элюент: 3,2 мМ раствор карбоната натрия, 1,0 мМ раствор гидрокарбоната натрия в 5% водном ацетоне.

Результаты.

Выделены кристаллические соли гидрохлорид, сульфат, фосфат и мезилат, и эти соли охарактеризованы с использованием некоторых или всех методов анализа XRPD, ¹H ЯМР, ДСК, ТГА, GVS, ИХ, PLM, HSM, ВЭЖХ и KF (см. табл. 2). Соли гидрохлорид и фосфат являются сильно гигроскопичными. Соли мезилат и сульфат анализировали дополнительно.

Синтез (3S)-тетрагидрофуран-3-ил-(4S)-4-изопропил-1,4,6,1-тетрагидро-5Н-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилата и его форм мезилата и сульфата

В описании используют следующие аббревиатуры:

Aq - водный,

DCM - дихлорметан,

DIPEA - диизопропилэтиламин,

ee - энантиомерный избыток,

ES* - электрораспыление,

EtOAc - этилацетат,

ч - час(ы),

ВЭЖХ - высокоэффективная жидкостная хроматография,

МСВР - масс-спектрометрия высокого разрешения,

ЖХМС - жидкостная хроматография/масс-спектрометрия,

М - молярный,

MeOH - метанол,

[МН⁺] - протонированный молекулярный ион,

мин – минута(ы),

ОФ - обращенная фаза,

МС - масс-спектрометрия,

R_T - время удерживания,

насыщ. - насыщенный,

ТГФ - тетрагидрофуран,

ТФК - трифторуксусная кислота.

Экспериментальные методы

Все реагенты технической чистоты и используются, как получены, без дополнительной очистки, если не указано иное. Во всех случаях используют растворители химически чистые.

Аналитическую ЖХМС выполняют на масс-спектрометре Waters ZQ, соединенном с системой ВЭЖХ Agilent 1100. Аналитическую ВЭЖХ выполняют на системе Agilent 1100. Масс-спектры высокого разрешения (МСВР) получают на Agilent MSD-TOF, соединенном с системой ВЭЖХ Agilent 1100. Во время анализов калибровку проверяют с помощью двух масс и при необходимости автоматически корректируют. Спектры получают положительной ионизацией электрораспылением. Полученный диапазон массы составляет m/z 100-1100. Используют детекцию по профилю пиков масс-спектра. Флэш-хроматографию выполняют или на системе CombiFlash Companion, снабженной колонками с диоксидом кремния RediSep, или на системе Flash Master Personal, снабженной гигатрубками (gigatubes) с диоксидом кремния Strata SI-1. ВЭЖХ с обращенной фазой выполняют на системе Gilson (насос Gilson 322 с насосом Gilson 321 для уравнивания и автоматическим пробоотборником Gilson 215), снабженной колонками Phenomenex Synergi Hydro RP, 150×10 мм, YMC ODS-A 100/150×20 мм или Chirobiotic T 250×10 мм. Колоночную хроматографию с обращенной фазой выполняют на системе Reverse Gilson (насос Gilson 321 и сборник фракций Gilson FC204), снабженной колонками с диоксидом кремния Merck LiChroprep® RP-18 (40-63 мкм). Соединения называют автоматически с использованием ACD 6.0. Все соединения сушат в вакууме в течение ночи.

Данные аналитической ВЭЖХ и ЖХМС получают с помощью

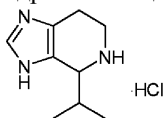
системы А: Phenomenex Synergi Hydro RP (C18, 30×4,6 мм, 4 мкм), градиент 5-100% CH₃CN (+0,085% ТФК) в воде (+0,1% TFA), 1,5 мл/мин, со временем градиента 1,75 мин, 200 нм, 30°C; или

системы В: Phenomenex Synergi Hydro RP (C18, 150×4,6 мм, 4 мкм), градиент 5-100% CH₃CN (+0,085% ТФК) в воде (+0,1% TFA), 1,5 мл/мин со временем градиента 7 мин, 200 нм, 30°C.

Данные хиральной ВЭЖХ получают с помощью системы C: Chirobiotic V полярно-ионного типа (150×4,6 мм), 70% MeOH в 10 mM водн. аммонийформиатном буфере, 1,0 мл/мин в течение 10 мин, 200 нм, 30°C.

Промежуточное соединение 1.

Гидрохлорид 4-изопропил-4,5,6,7-тетрагидро-1H-имидазо[4,5-с]пиридина



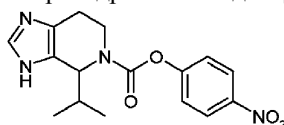
Гидрохлорид гистамина (61,9 г, 336 ммоль) растворяют в растворе NaOH (33,6 г, 841 ммоль) в воде (125 мл) и MeOH (500 мл) и добавляют изобутиральдегид (61,4 мл, 672 ммоль). Реакционную смесь кипятят с обратным холодильником при 80°C в течение 24 ч, охлаждают до комнатной температуры, pH доводят до 7 в водн. раствором HCl (250 мл) и растворители удаляют в вакууме. Остаток растворяют в теплом MeOH (300 мл), оставляют на 1 ч, фильтруют и растворители удаляют в вакууме. Остаток перемешивают в MeOH (50 мл) и ацетоне (400 мл) в течение 2 ч и охлаждают до 4°C в течение 2 ч. Полученное выпавшее в осадок вещество промывают ацетоном (100 мл) и получают гидрохлорид 4-изопропил-4,5,6,7-тетрагидро-1H-имидазо[4,5-с]пиридина (33,0 г, 48,7%) в виде белого твердого вещества.

Аналитическая ЖХМС: чистота >90% (система A, $R_T=0,51$ мин),

ES⁺: 166,4 [M]⁺.

Промежуточное соединение 2.

4-Нитрофенил-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5H-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилат



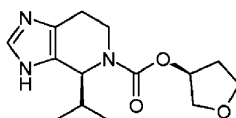
Промежуточное соединение 1 (2,78 г, 8,28 ммоль, чистота 60%) и DIPEA (5,27 мл, 30,3 ммоль) растворяют в DCM (100 мл). Реакционную смесь охлаждают до 0°C и добавляют 4-нитрофенилхлорформиат (4,07 г, 20,2 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 18 ч. Реакционную смесь промывают насыщ. водн. раствором NaHCO₃ (5×100 мл), сушат (MgSO₄), растворители удаляют в вакууме и получают 4-нитрофенил-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5H-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилат (5,28 г, неочищенный) в виде желтой смолы.

Аналитическая ВЭЖХ: чистота 41% (система B, $R_T=4,70$ мин).

Аналитическая ЖХМС: чистота 86% (система A, $R_T=1,70$ мин),

ES⁺: 331,0 [M]⁺.

(3S)-Тетрагидрофуран-3-ил-(4S)-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5H-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилат



NaH (0,40 г, 10,0 ммоль, 60% дисперсия в минеральном масле) суспендируют в безводном ТГФ (20 мл), охлаждают до 0°C и добавляют (S)-3-гидрокситетрагидрофуран (0,88 г, 0,68 мл, 10,0 ммоль). Суспензию перемешивают при 0°C в течение 30 мин, затем добавляют к раствору промежуточного соединения 2 (3,30 г, 10,0 ммоль, чистота 70%) в ТГФ (60 мл) и реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре. Добавляют еще две дополнительные порции NaH и (S)-3-гидрокситетрагидрофурана в ТГФ через 5 и 29 час соответственно. Через 2 суток реакцию гасят водой (10 мл) и растворители удаляют в вакууме. Остаток растворяют в EtOAc (100 мл), промывают 1 M водн. раствором Na₂CO₃ (4×100 мл), сушат (MgSO₄) и растворители удаляют в вакууме. Остаток очищают колоночной хроматографией (нормальная фаза, 20 г Strata Si-1, гигатрубка с диоксидом кремния, DCM (200 мл), затем 2, 4 и 5% MeOH в DCM (каждый раз 200 мл)) и ВЭЖХ с обращенной фазой (YMC ODS-A 100×20 мм, 5 мкм, 25 мл/мин, градиент 30-60% (в течение 7 мин), затем 100% (3 мин) MeOH в смеси 10% MeOH/вода) и получают (3S)-тетрагидрофуран-3-ил-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5H-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилат (34,8 мг, 1,1%) в виде белого твердого вещества.

Аналитическая ВЭЖХ: чистота 100% (система B, $R_T=3,63$ мин).

Аналитическая ЖХМС: чистота 100% (система B, $R_T=4,01$ мин),

ES⁺: 280,1 [M]⁺.

(3S)-Тетрагидрофуран-3-ил-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5H-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилат (39,91 мг) растворяют в 10 mM аммонийформиатном буфере и MeOH (2 мл, 1:1) и дважды очищают хиральной ВЭЖХ с обращенной фазой (Chirobiotic T, 250×10 мм, 3 мл/мин, изократное элюирование 70% MeOH в 10 mM аммонийформиатном буфере (40 мин), pH 7,4) и получают отдельный диастереоизомер (3S)-тетрагидрофуран-3-ил-(4S)-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5H-имидазо[4,5-

с]пиридин-5-карбоксилат (6,90 мг, ee 99%).

Аналитическая ВЭЖХ: чистота 100% (система В, $R_T=3,63$ мин).

Хиральная ВЭЖХ: чистота 99,5% (система С, $R_T=2,22$ мин).

Аналитическая ЖХМС: чистота 100% (система В, $R_T=3,90$ мин),

ES^+ : 280,1 [МН]⁺;

МСВР вычислено для $C_{14}H_{21}N_3O_3$ 279,1583, найдено 279,1571.

Мезилат (3S)-тетрагидрофуран-3-ил-(4S)-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5Н-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилата.

Свободное основание (3S)-тетрагидрофуран-3-ил-(4S)-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5Н-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилат (460 мг, 1,65 ммоль) растворяют в EtOAc (10 мл) при комнатной температуре и получают прозрачный бесцветный раствор. Добавляют по частям метансульфоновую кислоту (107 мкл) при слабом нагревании. Раствор охлаждают до комнатной температуры в течение ночи. Полученные кристаллы собирают фильтрацией, промывают EtOAc (2×10 мл) и сушат в течение ночи при 40°C в вакууме. Соль мезилат (3S)-тетрагидрофуран-3-ил-(4S)-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5Н-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилата получают с выходом 99% (615 мг) в виде белого твердого вещества.

ВЭЖХ: время удерживания 2,27 мин, чистота 99,5%.

Температура плавления 189°C.

ЖХМС: время удерживания 4,19 мин,

ES^+ 280,0 [МН]⁺, чистота 100%.

Хиральная ВЭЖХ: время удерживания 3,70 мин, de >99,5%.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): δ_H 8,72 (1H, м, NHCHNH⁺), 5,29 (1H, м, OCH), 5,05 (0,5H, д, J=8,4 Гц, CCHN), 4,89 (0,5H, д, J=7,6 Гц, CCHN), 4,59 (0,5H, м, NCH_ACH_B), 4,39 (0,5H, м, NCH_ACH_B), 3,97-3,85 (4H, м, CH₂OCH₂), 3,20 (1H, м, NCH_ACH_B), 2,89 (3H, с, CH₃SO₃⁻), 2,89-2,72 (2H, м, CCH₂CH₂N), 2,23-2,07 (3H, м, CH(CH₃)₂, OCH₂CH₂), 1,16 (3H, д, J=6,4 Гц, CH₃) и 1,06-0,96 (3H, м, CH₃).

Сульфат (3S)-тетрагидрофуран-3-ил-(4S)-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5Н-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилата.

Свободное основание (3S)-тетрагидрофуран-3-ил-(4S)-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5Н-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилат (460 мг, 1,65 ммоль) растворяют в IPAc (5 об., 2,20 мл). Прозрачный раствор нагревают до 40°C и выдерживают при этой температуре в течение 30 мин. Затем при слабом перемешивании добавляют H₂SO₄ (1 М раствор в ТГФ, 1 экв., 1,6 мл), что вызывает выпадение в осадок белого твердого вещества. Суспензию охлаждают до 5°C при 1°C/мин и выдерживают при этой температуре в течение 20 ч. Твердое вещество отфильтровывают при разрежении и сушат в вакууме при комнатной температуре в течение ночи. Соль сульфат (3S)-тетрагидрофуран-3-ил-(4S)-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5Н-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилата получают с выходом 65% в виде белого твердого вещества.

ВЭЖХ: чистота 99,3%.

Температура плавления 106°C.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): δ_H 13,70 (1H, уш, HSO₄⁻), 9,05 (1H, м, NHCHNH⁺), 5,28 (1H, м, OCH), 4,95 (0,5H, д, J=8,4 Гц, CCHN), 4,86 (0,5H, д, J=7,6 Гц, CCHN), 4,55 (0,5H, м, NCH_ACH_B), 4,35 (0,5H, м, NCH_ACH_B), 3,95-3,74 (4H, м, CH₂OCH₂), 3,15 (1H, м, NCH_ACH_B), 2,78-2,67 (2H, м, CCH₂CH₂N), 2,21-1,99 (3H, м, CH(CH₃)₂, OCH₂CH₂), 1,09 (3H, д, CH₃) и 0,94-0,81 (3H, м, CH₃).

Таблица 2

Общие свойства свободного основания
(3S)-тетрагидрофуран-3-ил-(4S)-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5Н-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилата и его солей гидрохлорида, фосфата, сульфата и мезилата

Образец	Форма	Т.пл.	Гигроскопичность
Свободное основание	Аморфная смола	–	Расплавляется при 25°C/60%RH в пределах <24 час
Соль гидрохлорид	Кристаллическое твердое вещество	168°C	Расплавляется при 40°C/75%RH в пределах <24 час
Соль фосфат	Кристаллическое твердое вещество	ND	Расплавляется при 40°C/75%RH в пределах <24 час
Соль сульфат (.1, 5H ₂ O)	Кристаллическое твердое вещество	106°C	Нет изменений при 40°C/75%RH до 7 суток
Соль мезилат	Кристаллическое твердое вещество	189°C	Расплавляется при 40°C/75%RH спустя 3 суток

Устойчивость/Гигроскопичность при длительном хранении.

Мезилат (3S)-тетрагидрофуран-3-ил-(4S)-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5Н-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилата также оценивают на устойчивость и гигроскопичность, когда 3-г аликвоты распределяют в мешки-вкладыши LDPE, герметично закрывают кабельной стяжкой и помещают с пакетиком с осушителем в мешок из фольги, который затем запаивают. Затем мешок из фольги помещают в бочонок HDPE с крышкой HDPE. Такие условия отражают типичные условия хранения по GMP. Устойчивость оценивают ВЭЖХ и гигроскопичность оценивают титрованием по Карлу Фишеру (KF). Мезилат (3S)-тетрагидрофуран-3-ил-(4S)-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5Н-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилата разрушается только на 0,1% с поглощением только 0,1% воды после 6 месяцев при 40°C/75%RH.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение, выбранное из сульфата (.1, 5H₂O) (3S)-тетрагидрофуран-3-ил-(4S)-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5Н-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилата и мезилата (3S)-тетрагидрофуран-3-ил-(4S)-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5Н-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилата.
2. Соединение по п.1, которое представляет собой мезилат (3S)-тетрагидрофуран-3-ил-(4S)-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5Н-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилата.
3. Соединение по п.2, имеющее чистоту выше 95%.
4. Соединение по п.2, имеющее чистоту выше 99%.
5. Соединение по п.2, имеющее чистоту выше 99,5%.
6. Соединение по любому из пп.2-5, имеющее энантиомерную чистоту выше 95%.
7. Соединение по любому из пп.2-5, имеющее энантиомерную чистоту выше 99%.
8. Соединение по любому из пп.2-5, имеющее энантиомерную чистоту выше 99,5%.
9. Соединение по п.1, которое представляет собой сульфат (3S)-тетрагидрофуран-3-ил-(4S)-4-изопропил-1,4,6,7-тетрагидро-5Н-имидазо[4,5-с]пиридин-5-карбоксилата. 1,5H₂O.
10. Соединение по п.9, имеющее чистоту выше 95%.
11. Соединение по п.9, имеющее чистоту выше 99%.
12. Соединение по п.9, имеющее чистоту выше 99,5%.
13. Соединение по любому из пп.9-12, имеющее энантиомерную чистоту выше 95%.
14. Соединение по любому из пп.9-12, имеющее энантиомерную чистоту выше 99%.
15. Соединение по любому из пп.9-12, имеющее энантиомерную чистоту выше 99,5%.

16. Применение соединения по п.1 для лечения воспаления, воспалительного заболевания, иммунного или аутоиммунного расстройства или для ингибирования роста опухоли.

17. Применение соединения по п.1 для получения лекарственного средства для лечения воспаления, воспалительного заболевания, иммунного или аутоиммунного расстройства или для ингибирования роста опухоли.

18. Применение по п.16 или 17, где воспаление или воспалительное заболевание или иммунное или аутоиммунное расстройство представляют собой артрит, синовит, васкулит, болезнь Шегрена, состояние, связанное с воспалением кишечника, атеросклероз, рассеянный склероз, болезнь Альцгеймера, сосудистую деменцию, болезнь Паркинсона, церебральную амилоидную ангиопатию, церебральную аутосомно-доминантную артериопатию с субкортикальными инфарктами и лейкоэнцефалопатией, воспалительное заболевание легких, фиброзное заболевание, воспалительное заболевание кожи, воспалительное заболевание глаз, синдром системной воспалительной реакции, сепсис, воспаление и/или аутоиммунное состояние печени, диабет (типа I или II) и/или его осложнения, хроническую сердечную недостаточность, застойную сердечную недостаточность, ишемическую болезнь или инфаркт миокарда и/или его осложнения или эпилепсию.

19. Применение по п.18, где

артрит выбирают из ревматоидного артрита, ювенильного ревматоидного артрита, остеоартрита и псориатического артрита;

состояние, связанное с воспалением кишечника, выбирают из болезни Крона, неспецифического язвенного колита, воспалительного заболевания кишечника и синдрома раздраженной толстой кишки;

воспалительное заболевание легких выбирают из астмы, хронической обструктивной болезни легких и острого респираторного дистресс-синдрома;

фиброзное заболевание выбирают из идиопатического фиброза легких, кардиального фиброза, фиброза печени и системного склероза (склеродермы);

воспалительное заболевание глаз выбирают из возрастной дегенерации желтого пятна, увеита и диабетической ретинопатии;

воспаление и/или аутоиммунное состояние печени выбирают из аутоиммунного гепатита, первичного билиарного цирроза, алкогольной болезни печени, склерозирующего холангита и аутоиммунного холангита;

ишемическую болезнь выбирают из удара и ишемически-реперфузионного повреждения.

20. Применение по п.16 или 17, где заболевание выбирают из ревматоидного артрита, остеоартрита, фиброза печени, хронической обструктивной болезни легких, рассеянного склероза, болезни Шегрена, болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона, воспалительного заболевания кишечника или сосудистой деменции.

21. Фармацевтическая композиция для лечения воспаления, воспалительного заболевания, иммунного или аутоиммунного расстройства или для ингибирования роста опухоли, включающая соединение по п.1 и один или несколько подходящих эксципиентов, где соединение по п.1 присутствует в эффективном количестве.

22. Фармацевтическая композиция по п.21, где воспаление или воспалительное заболевание или иммунное или аутоиммунное расстройство представляют собой артрит, синовит, васкулит, болезнь Шегрена, состояние, связанное с воспалением кишечника, атеросклероз, рассеянный склероз, болезнь Альцгеймера, сосудистую деменцию, болезнь Паркинсона, церебральную амилоидную ангиопатию, церебральную аутосомно-доминантную артериопатию с субкортикальными инфарктами и лейкоэнцефалопатией, воспалительное заболевание легких, фиброзное заболевание, воспалительное заболевание кожи, воспалительное заболевание глаз, синдром системной воспалительной реакции, сепсис, воспаление и/или аутоиммунное состояние печени, диабет (типа I или II) и/или его осложнения, хроническую сердечную недостаточность, застойную сердечную недостаточность, ишемическую болезнь или инфаркт миокарда и/или его осложнения или эпилепсию.

23. Фармацевтическая композиция по п.22, где

артрит выбирают из ревматоидного артрита, ювенильного ревматоидного артрита, остеоартрита и псориатического артрита;

состояние, связанное с воспалением кишечника, выбирают из болезни Крона, неспецифического язвенного колита, воспалительного заболевания кишечника и синдрома раздраженной толстой кишки;

воспалительное заболевание легких выбирают из астмы, хронической обструктивной болезни легких и острого респираторного дистресс-синдрома;

фиброзное заболевание выбирают из идиопатического фиброза легких, кардиального фиброза, фиброза печени и системного склероза (склеродермы);

воспалительное заболевание глаз выбирают из возрастной дегенерации желтого пятна, увеита и диабетической ретинопатии;

воспаление и/или аутоиммунное состояние печени выбирают из аутоиммунного гепатита, первичного билиарного цирроза, алкогольной болезни печени, склерозирующего холангита и аутоиммунного холангита;

ишемическую болезнь выбирают из удара и ишемически-реперфузионного повреждения.

24. Фармацевтическая композиция по п.21 для лечения заболевания, выбранного из ревматоидного артрита, остеоартрита, фиброза печени, хронической обструктивной болезни легких, рассеянного склероза, болезни Шегрена, болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона, воспалительного заболевания кишечника или сосудистой деменции.

25. Применение фармацевтической композиции по п.21 для получения лекарственного средства для лечения воспаления, воспалительного заболевания, иммунного или аутоиммунного расстройства или для ингибирования роста опухоли.

26. Применение по п.25, где воспаление или воспалительное заболевание или иммунное или аутоиммунное расстройство представляют собой артрит, синовит, васкулит, болезнь Шегрена, состояние, связанное с воспалением кишечника, атеросклероз, рассеянный склероз, болезнь Альцгеймера, сосудистую деменцию, болезнь Паркинсона, церебральную амилоидную ангиопатию, церебральную аутосомно-доминантную артериопатию с субкортикальными инфарктами и лейкоэнцефалопатией, воспалительное заболевание легких, фиброзное заболевание, воспалительное заболевание кожи, воспалительное заболевание глаз, синдром системной воспалительной реакции, сепсис, воспаление и/или аутоиммунное состояние печени, диабет (типа I или II) и/или его осложнения, хроническую сердечную недостаточность, застойную сердечную недостаточность, ишемическую болезнь или инфаркт миокарда и/или его осложнения или эпилепсию.

27. Применение по п.26, где

артрит выбирают из ревматоидного артрита, ювенильного ревматоидного артрита, остеоартрита и псориатического артрита;

состояние, связанное с воспалением кишечника, выбирают из болезни Крона, неспецифического язвенного колита, воспалительного заболевания кишечника и синдрома раздраженной толстой кишки;

воспалительное заболевание легких выбирают из астмы, хронической обструктивной болезни легких и острого респираторного дистресс-синдрома;

фиброзное заболевание выбирают из идиопатического фиброза легких, кардиального фиброза, фиброза печени и системного склероза (склеродермы);

воспалительное заболевание глаз выбирают из возрастной дегенерации желтого пятна, увеита и диабетической ретинопатии;

воспаление и/или аутоиммунное состояние печени выбирают из аутоиммунного гепатита, первичного билиарного цирроза, алкогольной болезни печени, склерозирующего холангита и аутоиммунного холангита;

ишемическую болезнь выбирают из удара и ишемически-реперфузионного повреждения.

28. Применение по п.25 для лечения заболевания, выбранного из ревматоидного артрита, остеоартрита, фиброза печени, хронической обструктивной болезни легких, рассеянного склероза, болезни Шегрена, болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона, воспалительного заболевания кишечника или сосудистой деменции.

29. Способ лечения воспаления, воспалительного заболевания, иммунного или аутоиммунного расстройства или ингибирования роста опухоли, включающий введение пациенту, страдающему от указанного заболевания, эффективного количества соединения по п.1 или фармацевтической композиции по п.21.

30. Способ по п.29, где воспаление или воспалительное заболевание или иммунное или аутоиммунное расстройство представляют собой артрит, синовит, васкулит, болезнь Шегрена, состояние, связанное с воспалением кишечника, атеросклероз, рассеянный склероз, болезнь Альцгеймера, сосудистую деменцию, болезнь Паркинсона, церебральную амилоидную ангиопатию, церебральную аутосомно-доминантную артериопатию с субкортикальными инфарктами и лейкоэнцефалопатией, воспалительное заболевание легких, фиброзное заболевание, воспалительное заболевание кожи, воспалительное заболевание глаз, синдром системной воспалительной реакции, сепсис, воспаление и/или аутоиммунное состояние печени, диабет (типа I или II) и/или его осложнения, хроническую сердечную недостаточность, застойную сердечную недостаточность, ишемическую болезнь или инфаркт миокарда и/или его осложнения или эпилепсию.

31. Способ по п.30, где

артрит выбирают из ревматоидного артрита, ювенильного ревматоидного артрита, остеоартрита и псориатического артрита;

состояние, связанное с воспалением кишечника, выбирают из болезни Крона, неспецифического язвенного колита, воспалительного заболевания кишечника и синдрома раздраженной толстой кишки;

воспалительное заболевание легких выбирают из астмы, хронической обструктивной болезни легких и острого респираторного дистресс-синдрома;

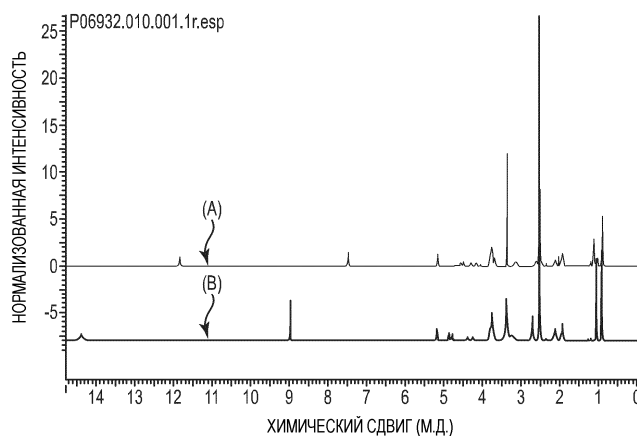
фиброзное заболевание выбирают из идиопатического фиброза легких, кардиального фиброза, фиброза печени и системного склероза (склеродермы);

воспалительное заболевание глаз выбирают из возрастной дегенерации желтого пятна, увеита и диабетической ретинопатии;

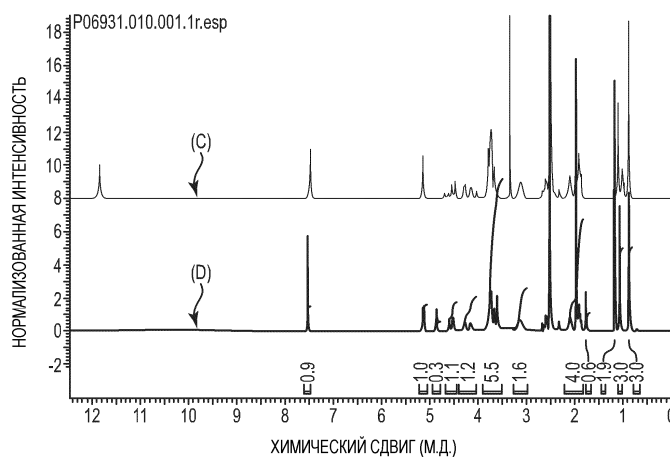
воспаление и/или аутоиммунное состояние печени выбирают из аутоиммунного гепатита, первичного билиарного цирроза, алкогольной болезни печени, склерозирующего холангита и аутоиммунного холангита;

ишемическую болезнь выбирают из удара и ишемически-реперфузионного повреждения.

32. Способ по п.29, где заболевание выбирают из ревматоидного артрита, остеоартрита, фиброза печени, хронической обструктивной болезни легких, рассеянного склероза, болезни Шегрена, болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона, воспалительного заболевания кишечника или сосудистой деменции.



Фиг. 1



Фиг. 2



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

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