

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **039977**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.04.05

(21) Номер заявки
201990528

(22) Дата подачи заявки
2017.11.09

(51) Int. Cl. **C07D 401/14** (2006.01)
C07D 403/14 (2006.01)
C07D 413/14 (2006.01)
C07D 417/04 (2006.01)
C07D 417/14 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)
A61P 31/12 (2006.01)

(54) **ДИГИДРОПИРИМИДИНОВЫЕ СОЕДИНЕНИЯ И СПОСОБ ИХ ПОЛУЧЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ**

(31) **201611015150.5; 201710328659.3**

(32) **2016.11.18; 2017.05.11**

(33) **CN**

(43) **2019.09.30**

(86) **PCT/CN2017/110123**

(87) **WO 2018/090862 2018.05.24**

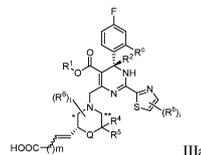
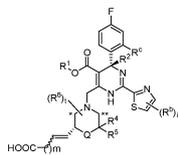
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**СЫЧУАНЬ КЭЛУНЬ-БАЙОТЕК
БАЙОФАРМАСЬЮТИКАЛ КО., ЛТД.
(CN)**

(72) Изобретатель:
**Сун Шуай, Цай Цзяцян, Тянь Цян,
Цзэн Хун, Сун Хунмэй, Дэн Ханьвэнь,
Тан Цзуцзянь, Дуань Сяофань, Лун
Жунжун, Лю Яо, Ван Личунь, Ван
Цзини (CN)**

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

(56) **CN-A-104144924
CN-A-104650068
CN-A-105209470
WO-A1-2015132276**

(57) Изобретение относится к дигидропиримидиновому соединению формул (III) и (IIIa), обладающему противовирусной активностью, содержащей его фармацевтической композиции и его применению в предотвращении или лечении вирусного заболевания, включая, но не ограничиваясь, гепатит А, гепатит В, гепатит С, грипп, герпес и синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД)

**B1****039977****039977****B1**

Область техники изобретения

Изобретение относится к дигидропиримидиновому соединению, обладающему противовирусной активностью, содержащей его фармацевтической композиции, способу его получения и его применению в предотвращении или лечении вирусных заболеваний, включая, но не ограничиваясь, вирусный гепатит типа А, вирусный гепатит типа В, вирусный гепатит типа С, грипп, герпес и синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД).

Уровень техники изобретения

Вирус состоит из молекулы нуклеиновой кислоты (ДНК или РНК) и белков или состоит только из белков (таких как прион). Вирусы могут вызывать различные инфекционные заболевания.

Распространенные заболевания, вызываемые вирусом, включают, но не ограничиваются, вирусный гепатит типа А, вирусный гепатит типа В, вирусный гепатит С, грипп, герпес и синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД).

В настоящее время, противовирусные лекарственные средства, применяемые в клинической практике, оказывают действие ингибированием прикрепления и "разделения" вируса, репликации вирусных генов и созревания или высвобождения или воздействием на иммунную систему хозяина. Данные противовирусные лекарственные средства в основном включают ингибиторы обратной транскриптазы, ингибиторы сборки белкового капсида и подобные.

Вирус гепатита типа В (ВГВ) представляет собой распространенный гепатофильный ДНК вирусный патоген. Вирус может приводить в результате к острому гепатиту, хроническому гепатиту, фиброзу печени, циррозу печени, раку печени и подобным.

Лекарственные средства для лечения гепатита типа В включают интерферон и нуклеозидные аналоги (такие как ламивудин и адефовир дипивоксил). Среди них интерферон взаимодействует с рецептором клеточной поверхности, обеспечивая продуцирование клетками противовирусных белков, посредством этого, ингибируя репликацию вируса гепатита В. Его недостатками является относительно низкая скорость эффективной реакции и необходимость длительного введения инъекций. Нуклеозидные аналоги оказывают действие в основном ингибированием репликации вирусной полимеразы (обратной транскриптазы). Их недостаток заключается в том, что данные лекарственные средства требуют длительного применения, что часто приводит в результате к мутации вируса и приводит к лекарственной устойчивости.

Кроме того, вирусный гепатит типа В можно лечить ненуклеозидными аналогами. Гетероарильное дигидропиримидиновое соединение (Bay41-4109), открытое Deres et al., может предотвращать репликацию вируса ВГВ ингибированием сборки вирусного белкового капсида (Science, 2003, 299, 893-896). Специфический механизм действия является следующим: дигидропиримидиновое соединение вызывает нарушенную сборку капсидных белков, приводя в результате к образованию нестабильных капсидных белков и ускорению разрушения капсидных белков (Biochem. Pharmacol., 2003, 66, 2273-2279).

Гетероарильное дигидропиримидиновое соединение HAP1, открытое Zlotnick et al. (Proc. Natl. Acad. Sci., 2005, 102, 8138-8143), и гетероарильное дигидропиримидиновое соединение (GLS4), сообщаемое SUNSHINE LAKE PHARMA CO., LTD. (Antimicrob. Agents Chemother., 2013, 57, 5344-5354; WO 2015078391, US 2016206616 и WO 2015144093), также обладают анти-ВГВ активностью.

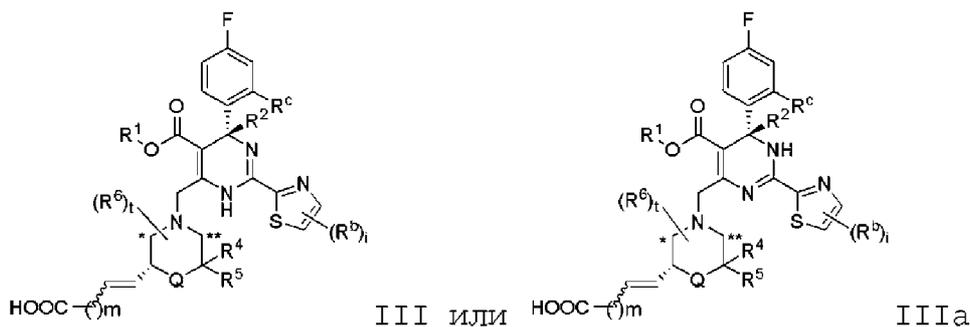
Хотя соединения выше проявляют некоторую степень подавления вируса, их противовирусная активность все еще не является удовлетворительной. Более того, некоторые соединения также проявляют значительные токсические эффекты (например, GLS4 проявляется значительную hERG кардиотоксичность).

Сущность изобретения

Посредством интенсивных исследований было обнаружено дигидропиримидиновое соединение. Дигидропиримидин настоящего изобретения неожиданно является более эффективным при ингибировании репликации ДНК ВГВ, чем описанные дигидропиримидиновые модуляторы сборки белкового капсида ВГВ (например, на клеточном уровне, противовирусная активность предпочтительных соединений настоящего изобретения является в 10 раз большей активности предпочтительного соединения в WO 2015144093 (соединение примера 9)). Соединение настоящего изобретения не обладает кардиотоксичностью, проявляемой описанными дигидропиримидиновыми соединениями (например, hERG ингибирующая активность GLS4 и предпочтительное соединение в WO 2015144093 (соединение примера 9)). Более того, по сравнению с описанными дигидропиримидиновыми соединениями (такими как соединение примера 5 в WO 201403748), соединение настоящего изобретения обладает значительно сниженным индуктивным эффектом на CYP450 изоформу 3A4. Кроме того, соединение настоящего изобретения проявляло лучшие фармакокинетические свойства (такие как лучшая степень воздействия, концентрация лекарственного средства в крови и биодоступность) в фармакокинетических испытаниях на крысах, собаках породы бигль и макаках-крабоедах. При этом предпочтительные соединения настоящего изобретения обладают превосходными направленными на печень свойствами, и степень воздействия лекарственного средства в печени может достигать приблизительно 10-кратной величины по сравнению с плазмой, что указывает на то, что соединения обладают способностью достигать печени, посредством этого способствуя увеличению эффективности при лечении заболеваний печени.

Один аспект настоящего изобретения относится к соединению или его стереоизомеру или таутоме-

ру, где соединение имеет следующую структуру:



где R^1 представляет собой C_{1-6} алкил;

R^2 представляет собой H;

Q представляет собой $-(CR^aR^{a'})_g-$ или $-O-$;

каждый R^a и $R^{a'}$ представляют собой H;

R^4 и R^5 представляют собой H или галоген;

R^6 представляют собой H;

каждый R^b , при каждом появлении, независимо выбран из группы, состоящей из H, C_{1-6} галогеналкила и C_{1-6} алкила;

каждый R^c , при каждом появлении, независимо выбран из группы, состоящей из Cl, Br, C_{1-6} галогеналкила и C_{1-6} алкила;

R^6 присоединен к кольцевому атому (атомам) углерода, обозначенному * или **, в общей формуле;

g равен 1;

i равен 1;

m равен 0; и

t равен 1.

Другой аспект настоящего изобретения относится к фармацевтической композиции, обладающей противовирусной активностью, содержащей профилактически или терапевтически эффективное количество соединения настоящего изобретения или его стереоизомера или таутомера и один или более фармацевтически приемлемых носителей, и фармацевтическая композиция предпочтительно представляет собой твердый, жидкий или трансдермальный состав.

Другой аспект настоящего изобретения относится к способу получения фармацевтической композиции, включающему смешение соединения настоящего изобретения или его стереоизомера или таутомера и одного или более фармацевтически приемлемых носителей.

Другой аспект настоящего изобретения относится к применению соединения настоящего изобретения или его стереоизомера или таутомера или фармацевтической композиции настоящего изобретения для получения лекарственного средства для предотвращения или лечения вирусного заболевания.

Вирусное заболевание выбрано из группы, состоящей из вирусного гепатита типа А, вирусного гепатита типа В, вирусного гепатита типа С, гриппа, герпеса и синдрома приобретенного иммунодефицита (СПИД).

Краткое описание чертежей

На фигуре показан эффект соединения 10-227, контрольного соединения 3 и рифампицина на индукцию СУР450 изоформы 3А4.

Определения.

Если иначе не определено в контексте, все технические и научные термины, применяемые в настоящем изобретении, имеют те же значения, как обычно известно специалисту в данной области техники. Способы, применяемые в настоящем изобретении, относятся к способам, как обычно ясно в данной области техники, включая варианты данных способов или замены эквивалентными способами, которые будут ясны специалисту в данной области техники. Тогда как считают, что следующие термины могут быть понятны специалисту в данной области техники, следующие определения, тем не менее, применяют для лучшей иллюстрации настоящего изобретения.

Термины "содержит", "включает", "имеет" или "относится к", а также другие варианты, применяемые в настоящем изобретении, являются включающими или неограничивающими и не исключают дополнительные, неперечисленные элементы или стадии способа.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "алкилен" относится к насыщенному двухвалентному гидрокарбилю, предпочтительно относится к насыщенному двухвалентному гидрокарбилю, содержащему 1, 2, 3, 4, 5 или 6 атомов углерода, например метилену, этилену, пропилену или бутилену.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "алкенилен" относится к двухвалентному гидрокарбилю, содержащему одну или более двойных связей, предпочтительно содержащему 2, 3, 4, 5 или 6 атомов углерода, такому как винилен, пропенилен или аллилиден. Когда соединение настоящего изобре-

тения содержит алкениленовую группу, соединение может существовать в виде чистой E (на противоположных сторонах) формы, чистой Z (с одной стороны) формы, или любой их смеси.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "алкил" определяют как линейный или разветвленный насыщенный алифатический углеводород. В некоторых вариантах осуществления алкил содержит 1-12, например 1-6 атомов углерода. Например, как применяют в настоящем изобретении, термин "C₁₋₆ алкил" относится к линейной или разветвленной группе, содержащей 1-6 атомов углерода (такой как метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, изобутил, втор-бутил, трет-бутил, н-пентил или н-гексил), которая необязательно замещена одним или более (например, 1-3) подходящими заместителями, такими как галоген (в данном случае группу можно называть "галогеналкил") (например, CF₃, C₂F₅, CHF₂, CH₂F, CH₂CF₃, CH₂Cl или -CH₂CH₂CF₃ и т.д.). Термин "C₁₋₄ алкил" относится к линейной или разветвленной алифатической углеводородной цепи, содержащей 1-4 атомов углерода (т.е. метилу, этилу, н-пропилу, изопропилу, н-бутилу, изобутилу, втор-бутилу или трет-бутилу).

Как применяют в настоящем изобретении, термин "циклоалкил" относится к насыщенному или ненасыщенному, неароматическому моноциклическому или полициклическому (например, бициклическому) углеводородному кольцу (например, моноциклическому, такому как циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклогексил, циклогептил, циклооктил или циклононил, или бициклическому, включая спиро, конденсированную или мостиковую циклическую систему (такую как бицикло[1.1.1]пентил, бицикло[2.2.1]гептил, бицикло[3.2.1]октил или бицикло[5.2.0]нонил, или декагидронафталин и т.д.)), которая необязательно замещена одним или более (например, 1-3) подходящими заместителями. Циклоалкил содержит 3-15 атомов углерода. Например, термин "C₃₋₆ циклоалкил" относится к насыщенному или ненасыщенному, неароматическому моноциклическому или полициклическому (например, бициклическому) углеводородному кольцу, содержащему 3-6 атомов углерода, образующих кольцо (например, циклопропил, циклобутил, циклопентил или циклогексил), которое необязательно замещено одним или более (например, 1-3) подходящими заместителями, например циклопропил, замещенный метилом.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "арил" относится к полностью углеродной моноциклической или конденсированной полициклической ароматической группе, содержащей сопряженную π электронную систему. Например, как применяют в настоящем изобретении, термин "C₆₋₁₄ арил" относится к ароматической группе, содержащей 6-14 атомов углерода, такой как фенил или нафтил. Арил необязательно замещен одним или более (такими как 1-3) подходящими заместителями (например, галогеном, -OH, -CN, -NO₂, C₁₋₆ алкилом и т.д.).

Термин "аралкил" предпочтительно обозначает алкил, замещенный арилом, где арил и алкил представляют собой, как определено в настоящем изобретении. Обычно, арильная группа может содержать 6-14 атомов углерода, и алкильная группа может содержать 1-6 атомов углерода. Примеры аралкильной группы включают, но не ограничиваются, бензил, фенилэтил, фенилпропил, фенилбутил.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "гетероарил" относится к моновалентной моноциклической, бициклической или трициклической ароматической кольцевой системе, содержащей 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 или 14 кольцевых атомов, в частности 1 или 2 или 3 или 4 или 5 или 6 или 9 или 10 атомов углерода, и содержащей по меньшей мере один гетероатом (такой как O, N, или S), который может быть одинаковым или отличным. Более того, в некоторых случаях, он может быть бензоконденсированным. В частности, гетероарил выбран из группы, состоящей из тиенила, фурила, пирролила, оксазолила, тиазолила, имидазолила, пиразолила, изоксазолила, изотиазолила, оксадиазолила, триазолила, тиадиазолила и т.д., и их бензопроизводных; или пиридинила, пиридазинила, пиримидинила, пиразинила, триазинила и т.д., и их бензопроизводных.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "галo" или "галоген" определяют включающим F, Cl, Br или I.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "алкилтиo" обозначает алкильную группу, как определено выше, соединенную с основным молекулярным фрагментом через атом серы. Типичные примеры C₁₋₆ алкилтиo включают, но не ограничиваются, метилтиo, этилтиo, трет-бутилтиo и гексилтиo.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "содержащая азот гетероциклическая система" относится к насыщенной или ненасыщенной моноциклической или бициклической группе, содержащей 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 или 13 атомов углерода и по меньшей мере один атом азота в кольце, которая может дополнительно необязательно содержать один или более (например, один, два, три или четыре) кольцевых члена, выбранных из группы, состоящей из N, O, C=O, S, S=O и S(=O)₂-. Содержащая азот гетероциклическая система присоединена к остатку молекулы через атом азота. В частности, 3-14-членная содержащая азот гетероциклическая система представляет собой группу, содержащую 3-14 атомов углерода и гетероатомы (где по меньшей мере один представляет собой азот) в кольце, включая, но не ограничиваясь, 3-членную содержащую азот гетероциклическую систему (такую как азиридинил), 4-членную содержащую азот гетероциклическую систему (такую как азетидинил), 5-членную содержащую азот гетероциклическую систему (такую как пирролил, пирролидинил, пирролинил, пирролидон, имидазол, имидазолидинил, имидазолинил, пиразолил, пиразолинил), 6-членную содержащую азот гетероциклическую систему (такую как пиперидинил, морфолинил, тиоморфолинил, пиперазинил), 7-членную содержащую азот гетероциклическую систему и подобные.

Термин "замещенный" обозначает то, что один или более (например, один, два, три или четыре) водорода при указанном атоме замещены выбранной группой при условии, что нормальная валентность указанного атома в существующих обстоятельствах не превышена и что замещение приводит в результате к стабильному соединению. Количество выбранных заместителей является допустимым только, если данные комбинации приводят в результате к стабильным соединениям.

Если заместитель описан как "необязательно замещенный", заместитель может быть или (1) незамещенным или (2) замещенным. Если углерод заместителя описывают как необязательно замещенный одним или более из списка заместителей, один или более из водородов при данном углероде можно отдельно и/или вместе заместить независимо выбранным необязательным заместителем. Если азот заместителя описывают как необязательно замещенный одним или более из списка заместителей, каждый один или более из водородов при данном азоте можно заместить независимо выбранным необязательным заместителем.

Если заместители описывают как "независимо выбранные", каждый заместитель может быть идентичным или отличным от другого заместителя (заместителей).

Как применяют в настоящем изобретении, термин "один или более" обозначает один или более чем один (например, 2, 3, 4, 5 или 10), как допустимо.

Как применяют в настоящем изобретении, если не указано, место присоединения заместителя может быть в любом подходящем положении заместителя.

Когда связь с заместителем показана пересекающей кольцо, и положение присоединения не указано, то данный заместитель может быть соединен с любым из образующих кольцо атомов в данном кольце, которые можно заместить.

Настоящее изобретение также включает все фармацевтически приемлемые изотопно меченые соединения, которые являются идентичными соединениям настоящего изобретения, за исключением того, что один или более атомов замещены атомом, имеющим то же атомное число, но атомную массу или массовое число, отличные от атомной массы или массового числа, которые преобладают в природе. Примеры изотопов, подходящих для включения в соединение настоящего изобретения, включают, но не ограничиваются, изотопы водорода, такие как дейтерий (д, ^2H), тритий (т, ^3H); углерода, такие как ^{11}C , ^{13}C и ^{14}C ; хлора, такие как ^{36}Cl ; фтора, такие как ^{18}F ; йода, такие как ^{123}I и ^{125}I ; азота, такие как ^{13}N и ^{15}N ; кислорода, такие как ^{15}O , ^{17}O и ^{18}O ; фосфора, такие как ^{32}P ; и серы, такие как ^{35}S . Некоторые изотопно меченые соединения настоящего изобретения являются пригодными в исследованиях распределения лекарственного средства и/или субстрата в тканях (например, анализах). Фармацевтически приемлемые сольваты согласно настоящему изобретению включают сольваты, в которых растворитель кристаллизации можно изотопно замещать, например, D_2O , ацетон- d_6 или DMSO-d_5 .

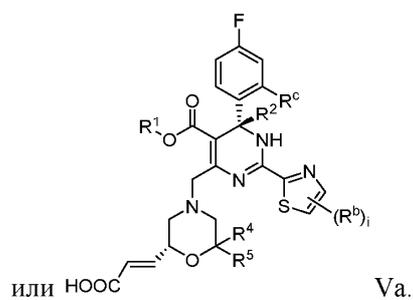
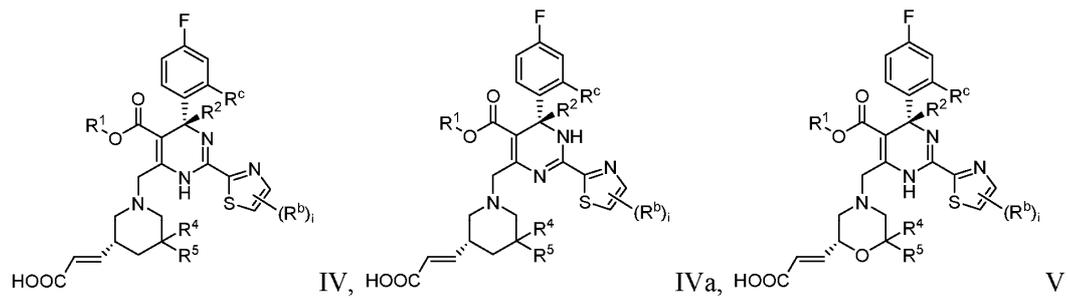
Термин "стереоизомер" относится к изомерам по меньшей мере с одним асимметрическим центром. Соединение, содержащее один или более (например, один, два, три или четыре) асимметрических центра, может давать рацемическую смесь, один энантиомер, диастереомерную смесь и отдельный диастереомер. Некоторые отдельные молекулы могут существовать в виде геометрических изомеров (цис/транс). Аналогично, соединение настоящего изобретения может существовать в виде смеси двух или более структурно отличных форм в быстром равновесии (обычно называют таутомером). Типичные примеры таутомера включают кето-енольный таутомер, фенол-кето таутомер, нитрозо-оксимный таутомер, имин-енаминовый таутомер и подобные. Например, дигидропиримидиновая группа может существовать в виде следующих таутомеров в равновесии в растворе:



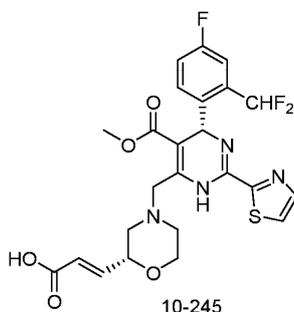
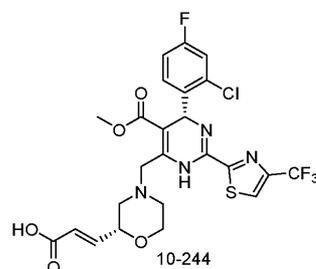
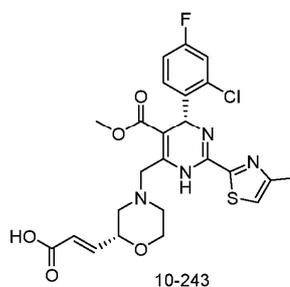
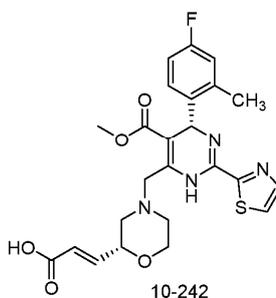
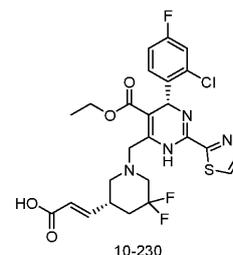
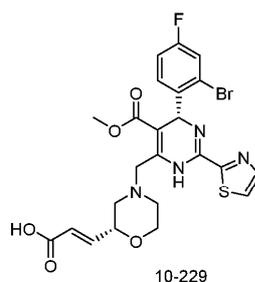
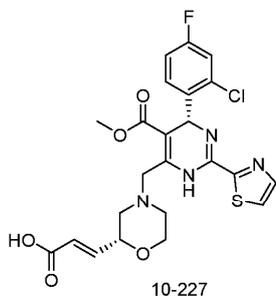
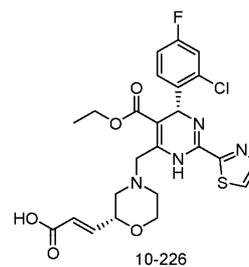
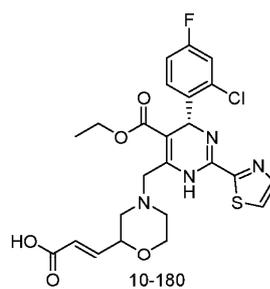
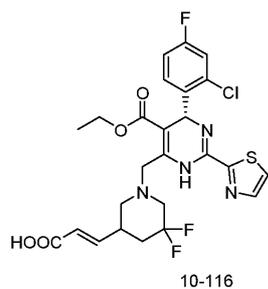
Ясно, что все данные изомеры и их смеси в любом соотношении (таком как 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98 и 99%) включены в объем настоящего изобретения.

Углерод-углеродные связи соединения настоящего изобретения можно изображать в настоящем изобретении, применяя сплошную линию (—), сплошной клин (▲), пунктирный клин (⋯) или волнистую линию (~~~~).

Предполагается, что применение сплошной линии для изображения связей с асимметрическими атомами углерода указывает на то, что включены все возможные стереоизомеры (например, конкретные энантиомеры, рацемические смеси и т.д.) при данном углероде. Предполагается, что применение волнистой линии для изображения связей с алкенильной группой указывает на то, что включены все возможные стереоизомеры (например, конкретный цис-транс изомер, смесь цис и транс-изомеров в любом соотношении, или рацемические смеси и т.д.) по данной химической связи. Применение или сплошного или пунктирного клина для изображения связей с асимметрическими атомами углерода указывает на то, что присутствует показанный стереоизомер. При наличии в рацемических соединениях, сплошные и пунктирные клинья применяют для определения относительной стереохимии, а не абсолютной стереохимии. Если не указано иначе, соединение настоящего изобретения может существовать в виде стереоизомеров,



В некоторых вариантах осуществления, настоящее изобретение относится к соединению или его стереоизомеру или таутомеру, где соединение выбрано из группы, состоящей из:



Фармацевтическая композиция и применение.

Настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, обладающей противовирусной активностью, содержащей профилактически или терапевтически эффективное количество соединения настоящего изобретения или его стереоизомера или таутомера и один или более фармацевтически приемлемых носителей или вспомогательных веществ.

Настоящее изобретение дополнительно относится к способу получения фармацевтической композиции, включающему смешение соединения настоящего изобретения или его стереоизомера или таутомера и одного или более фармацевтически приемлемых носителей или вспомогательных веществ.

Настоящее изобретение относится к применению соединения настоящего изобретения или его стереоизомера или таутомера, или фармацевтической композиции настоящего изобретения для получения лекарственного средства для предотвращения или лечения вирусного заболевания.

Соединение настоящего изобретения осуществляет свои противовирусные эффекты за счет ингибирования сборки белкового капсида. Как таковое, соединение настоящего изобретения можно применять для лечения любых вирусных заболеваний, включающих сборку белкового капсида, когда вирус заражает хозяина, включая, но не ограничиваясь, вирус гепатита типа А (ВГА), вирус гепатита типа В (ВГБ), вирус гепатита типа С (ВГС), вирус гриппа, вирус герпеса (ВПГ) и вирус иммунодефицита человека (ВИЧ).

Таким образом, вирусные заболевания, которые можно предотвращать и лечить соединением настоящего изобретения, включают, но не ограничиваются, вирусный гепатит типа А, вирусный гепатит типа В, вирусный гепатит типа С, грипп, герпес и синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД), а

также связанные с ними симптомы или заболевания, являющиеся результатом заболеваний выше (например, воспаления, фиброза печени, цирроза печени и рака печени и т.д.).

Термин "фармацевтически приемлемый носитель" в настоящем изобретении относится к разбавителю, вспомогательному материалу, вспомогательному веществу или среде, с которой вводят терапевтическое средство, и он является, с медицинской точки зрения, пригодным для контакта с тканями человеческих существ и животных без избыточной токсичности, раздражения, аллергической реакции, или другой проблемы или осложнения, в соответствии с приемлемым соотношением риск/польза.

Фармацевтически приемлемый носитель, который можно применять в фармацевтической композиции настоящего изобретения, включает, но не ограничивается, стерильные жидкости, такие как вода и масла, включая масла нефтяного, животного, растительного или синтетического происхождения, такие как арахисовое масло, соевое масло, минеральное масло, кунжутное масло и подобные. Вода представляет собой примерный носитель, когда фармацевтическую композицию вводят внутривенно. Физиологические соляные растворы, а также водные растворы декстрозы и глицерина, можно также применять в качестве жидких носителей, в частности для инъеклируемых растворов. Подходящие фармацевтические вспомогательные вещества включают крахмал, глюкозу, лактозу, сахарозу, желатин, мальтозу, мел, силикагель, стеарат натрия, моностеарат глицерина, тальк, хлорид натрия, сухое обезжиренное молоко, глицерин, пропиленгликоль, воду, этанол и подобные. Фармацевтическая композиция, при необходимости, может также содержать небольшие количества смачивающего агента или эмульгатора, или pH буферных агентов. Пероральные составы могут включать стандартные носители, такие как маннитол, лактоза, крахмал, стеарат магния, сахарин натрия, целлюлоза, карбонат магния фармацевтической степени чистоты и т.д. Примеры подходящих фармацевтических носителей описаны, например, в Remington's Pharmaceutical Sciences (1990).

Фармацевтическая композиция настоящего изобретения может действовать системно и/или местно. В этой связи, ее можно вводить подходящим путем, таким как инъекцией (внутривенной, внутриартериальной, подкожной, интраперитонеальной, внутримышечной инъекцией, включая вливание) или трансдермальным введением, или вводить перорально, буккально, назально, чресслизисто, местно, в виде офтальмического состава или ингаляцией. Для данных путей введения, введение можно осуществлять с подходящей лекарственной формой.

Данные лекарственные формы включают, но не ограничиваются, таблетки, капсулы, пастилки, леденцы, порошки, спреи, крема, мази, суппозитории, гели, пасты, лосьоны, мази, водные суспензии, инъеклируемые растворы, эликсиры и сиропы.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "эффективное количество" относится к вводимому количеству соединения, которое будет облегчать, в некоторой степени, один или более симптомов заболевания, которое лечат.

Режимы дозирования можно приспособлять для обеспечения оптимального требуемого ответа. Например, можно осуществлять единичное введение, несколько отдельных доз можно вводить с течением времени, или дозу можно пропорционально снижать или увеличивать в зависимости от терапевтической ситуации. Следует отметить, что величины доз могут изменяться в зависимости от типа и тяжести заболевания и могут включать единичные или множественные дозы. Кроме того, ясно, что для любого конкретного субъекта конкретные режимы дозирования следует приспособлять с течением времени в зависимости от индивидуальных нужд.

Вводимое количество соединения настоящего изобретения будет зависеть от субъекта, которого лечат, тяжести расстройства или заболевания, частоты введения, фармакокинетики соединения и усмотрения лечащего врача. Обычно, эффективная доза находится в диапазоне от приблизительно 0,0001 до приблизительно 50 мг на кг веса тела в день, например, от приблизительно 0,01 до приблизительно 10 мг/кг/день, в виде единичных или отдельных доз. Для человека с весом 70 кг это будет количество от приблизительно 0,007 мг до приблизительно 3500 мг/день, например от приблизительно 0,7 мг до приблизительно 700 мг/день. В некоторых случаях уровни доз ниже нижнего предела приведенного выше диапазона могут быть более чем достаточными, тогда как в других случаях, еще большие дозы можно применять, не вызывая любого вредного побочного эффекта, при условии, что данные большие дозы вначале делят на несколько меньших доз для введения в течение дня.

Количество или доза соединения настоящего изобретения в фармацевтической композиции составляет от приблизительно 0,01 мг до приблизительно 1000 мг, соответствующе 0,1-500 мг, предпочтительно 0,5-300 мг, более предпочтительно 1-150 мг, особенно предпочтительно 1-50 мг, например 1,5, 2, 4, 10, 25 мг и т.д.

Если не указано иначе, термин "лечение", как применяют в настоящем изобретении, обозначает обращение, облегчение, ингибирование процесса или предотвращение расстройства или заболевание, к которому данный термин применяют, или одного или более симптомов данного расстройства или заболевания.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "субъект" включает человека или животного, отличного от человека. Примеры человеческого субъекта включают человеческого субъекта, страдающего от заболевания (такого как заболевание, описанное в настоящем изобретении) (называют пациентом),

или нормального субъекта. Термин "животное, отличное от человека", как применяют в настоящем изобретении, включает всех позвоночных, таких как позвоночные, отличные от млекопитающих (например, птиц, амфибий, рептилий) и млекопитающих, таких как приматы, отличные от человека, домашний скот и/или одомашненные животные (такие как овцы, собаки, кошки, коровы, свиньи и подобные).

В других вариантах осуществления, фармацевтическая композиция настоящего изобретения может дополнительно содержать один или более дополнительных терапевтических агентов или профилактических агентов, которые представляют собой лекарственные средства для лечения вирусного гепатита типа В, включая, но не ограничиваясь, ламивудин, телбивудин, энтекавир, дипивоксил адефовира, тенофовир, фумарат дизопроксила тенофовира и фумарат алафенамида тенофовира.

Примеры

Изобретение дополнительно описано со ссылкой на следующие примеры, которые не приводятся ограничивающими объем настоящего изобретения любым способом. Любая подходящая комбинация условий является возможной.

Если не указано иначе, коммерческие безводные растворители и растворители степени чистоты для ВЭЖХ применяли без дополнительной очистки.

¹H ЯМР спектры регистрировали при комнатной температуре на приборе Bruker (400 МГц) с TMS в качестве внутреннего стандарта. Химические сдвиги (δ) приведены в ppm и константы связывания (J) приводят в герцах (Гц). Расщепляющую мультиплетность ¹H ЯМР спектров приводят, применяя следующие сокращения: с (синглет), д (дуплет), т (триплет), кв (квартет), м (мультиплет), уш (уширенный).

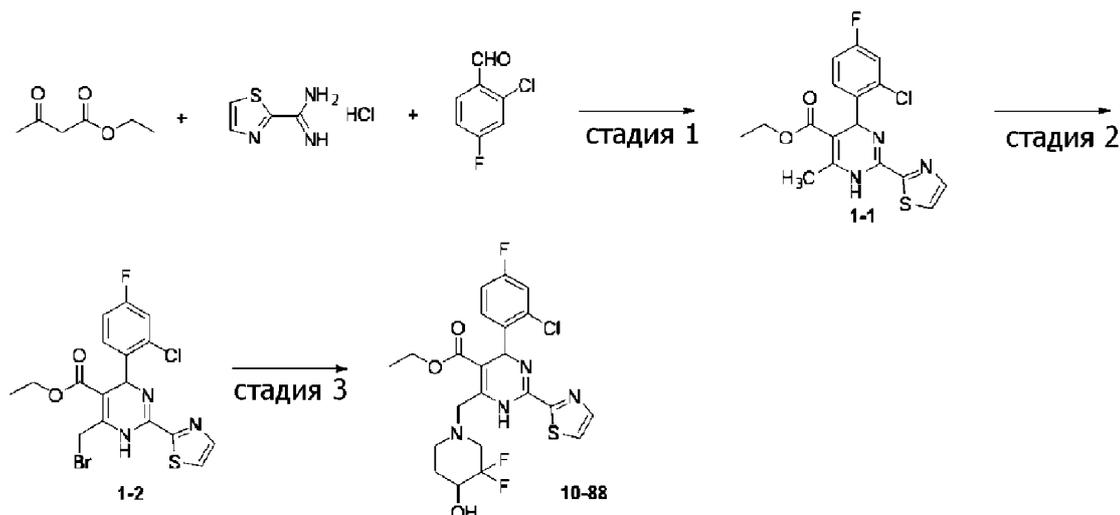
LC-MS проводили на Agilent 1200 жидкостном хроматографе, соединенным с Agilent 6120 квадрупольным масс-спектрометром, с детекцией при 214 и 254 нм. Препаративную жидкостную хроматографию проводили на SHIMADZU CBM-20A и Agilent 1260 препаративном жидкостном хроматографе, C18 OBD 19×150 мм 5 мкм препаративная колонка, детекция при 214 нм, где подвижная фаза А представляла собой воду, подвижная фаза В представляла собой ацетонитрил (с добавлением 0,5% муравьиной кислоты), и элюирование проводили с линейным градиентом следующим способом:

Время (мин)	А%	В%
0	90	10
15	40	60
30	10	90

Сокращения, как применяют в настоящем изобретении, имеют следующие значения:

Сокращение	Значение	Сокращение	Значение
DAST	Трифторид диэтиламиносеры	HOAc	уксусная кислота
DEA	диэтиламин	IPA	изопропанол
EA	этилацетат	MeOH	метанол
EtOH	этанол	PE	Петролейный эфир
HEX	гексан	ТСХ	Тонкослойная хроматография

Пример 1. Получение этил 4-(2-хлор-4-фторфенил)-6-((3,3-дифтор-4-гидроксипиперидин-1-ил)метил)-2-(триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилата (10-88)



Стадия 1: получение этил 4-(2-хлор-4-фторфенил)-6-метил-2-(триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилата (1-1).

При комнатной температуре этил ацетоацетат (4,7 г, 36,0 ммоль), гидрохлорид триазол-2-карбоксимидида (5,4 г, 36,0 ммоль), 2-хлор-4-фторбензальдегид (5,8 г, 36,0 ммоль) и ацетат калия (6,0 г, 60,0 ммоль) добавляли к 2,2,2-трифторэтанолу (100 мл), нагревали до кипения и реакцию проводили в течение 16 ч. Реакционный раствор охлаждали до комнатной температуры, растворитель отгоняли при пониженном давлении и заявленное в заголовке соединение (6,0 г) получали после обработки. ESI-MS (m/z): 380, 1 [M+H]⁺.

Стадия 2: получение этил 6-(бромметил)-4-(2-хлор-4-фторфенил)-2-(триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилата (1-2).

Соединение (1-1) (5,7 г, 15,0 ммоль) растворяли в тетрахлориде углерода (60 мл) и нагревали до 50°C, добавляли одной порцией N-бромсукцинимид (2,7 г, 15,0 ммоль) и реакцию проводили в течение 30 мин. Реакционный раствор охлаждали до комнатной температуры, фильтровали, удаляя нерастворимые вещества и концентрировали, получая неочищенный продукт, который очищали, получая заявленное в заголовке соединение (6,0 г). ESI-MS (m/z): 458,0 [M+H]⁺.

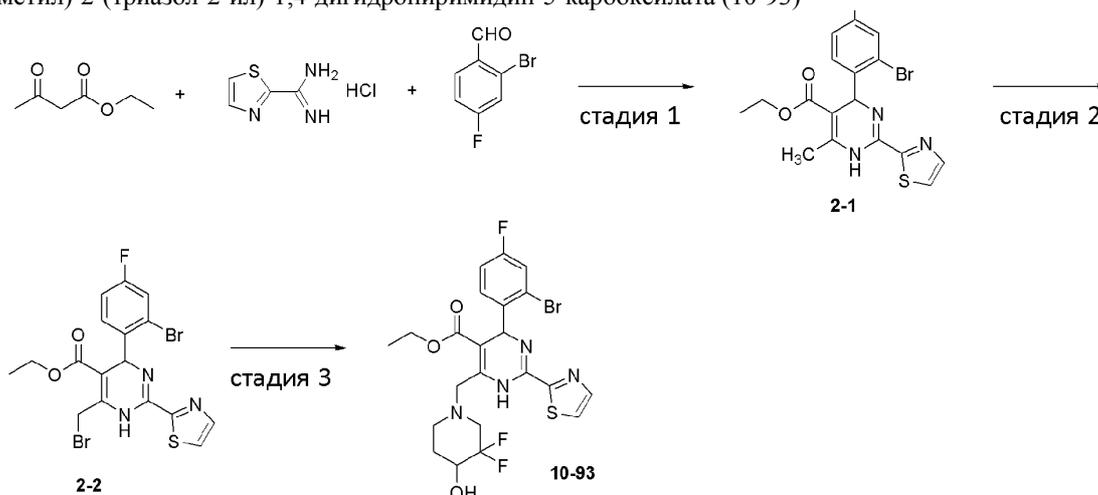
Стадия 3: получение этил 4-(2-хлор-4-фторфенил)-6-((3,3-дифтор-4-гидроксипиперидин-1-ил)метил)-2-(триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилата (10-88).

При комнатной температуре соединение (1-2) (68 мг, 0,14 ммоль) и гидрохлорид 3,3-дифторпиперидин-4-ола (34 мг, 0,2 ммоль) и N,N-диизопропилэтиламин (50 мг, 0,4 ммоль) добавляли к дихлорметану (3 мл) и реакцию проводили при комнатной температуре в течение ночи. Реакционный раствор концентрировали, получая неочищенный продукт, который очищали, получая заявленное в заголовке соединение (10-88) (27 мг).

Структуру характеризовали следующим способом:

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆): δ 9,54 (с, 1H), 7,99 (д, J=3,14 Гц, 1H), 7,94 (д, J=3,14 Гц, 1H), 7,44-7,40 (м, 2H), 7,19 (тд, J=8,44, 2,64 Гц, 1H), 6,05 (с, 1H), 5,62 (т, J=5,40 Гц, 1H), 4,00-3,92 (м, 4H), 3,76 (с, 1H), 3,06-2,67 (м, 4H), 1,86 (д, J=3,52 Гц, 1H), 1,74 (д, J=3,08 Гц, 1H), 1,04 (т, J=7,12 Гц, 3H). ESI-MS (m/z): 515,2 [M+H]⁺.

Пример 2. Получение этил 4-(2-бром-4-фторфенил)-6-((3,3-дифтор-4-гидроксипиперидин-1-ил)метил)-2-(триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилата (10-93)

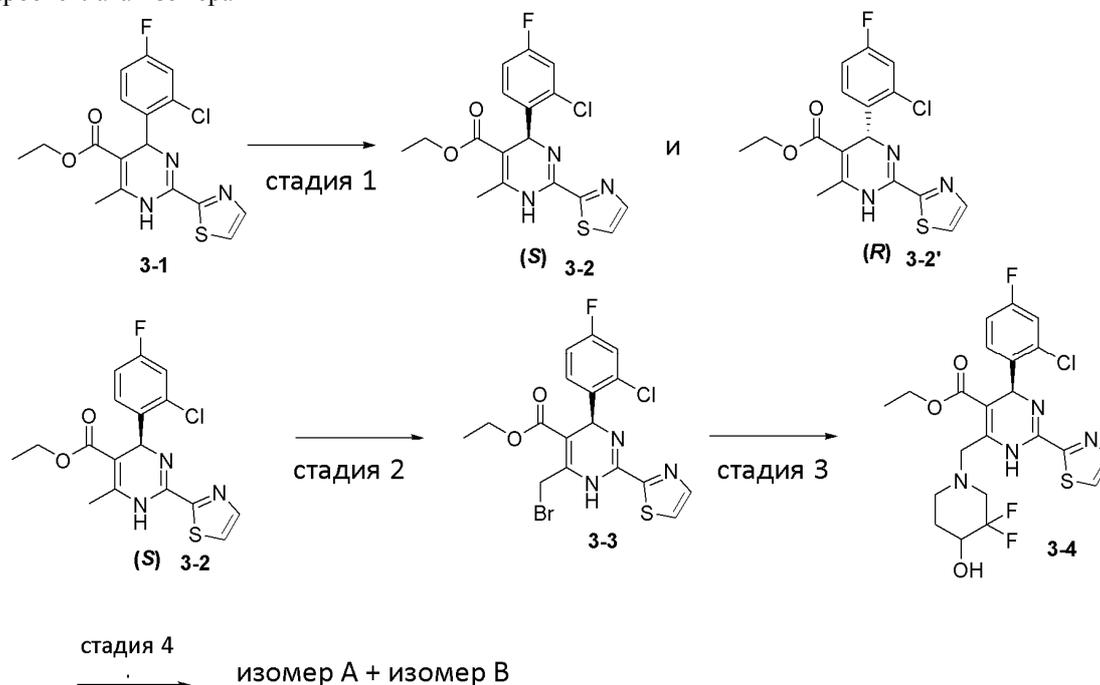


Согласно реакционной схеме выше, применяя способы, аналогичные способам в примере 1 (за исключением того, что 2-хлор-4-фторбензальдегид на стадии 1 заменяли на 2-бром-4-фторбензальдегид), получали заявленное в заголовке соединение (27 мг).

Структуру характеризовали следующим способом:

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6): δ 9,54 (с, 1H), 7,99 (д, $J=3,14$ Гц, 1H), 7,94 (д, $J=3,14$ Гц, 1H), 7,44-7,40 (м, 2H), 7,19 (тд, $J=8,44, 2,64$ Гц, 1H), 6,05 (с, 1H), 5,62 (т, $J=5,40$ Гц, 1H), 4,00-3,92 (м, 4H), 3,76 (с, 1H), 3,06-2,67 (м, 4H), 1,86 (д, $J=3,52$ Гц, 1H), 1,74 (д, $J=3,08$ Гц, 1H), 1,04 (т, $J=7,12$ Гц, 3H). ESI-MS (m/z): 559,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Пример 3. Получение (S)-этил 4-(2-хлор-4-фторфенил)-6-((3,3-дифтор-4-гидроксипиперидин-1-ил)метил)-2-(триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилата-изомера А и (S)-этил 4-(2-хлор-4-фторфенил)-6-((3,3-дифтор-4-гидроксипиперидин-1-ил)метил)-2-(триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилата-изомера В



Стадия 1: разделение этил 4-(2-хлор-4-фторфенил)-6-метил-2-(триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилата (3-1).

Соединение (3-1) (10 г) разделяли хиральной хроматографией, применяя следующие условия разделения: колонка для разделения CHIRALPAK IE 0,46 см В.Д.×15 см длина, подвижная фаза:

MeOH/DEA=10 0/0, 1 (об./об.), скорость потока: 1,0 мл/мин, длина волны: УФ 254 нм, температура: 35°C.

Разделение давало в результате (S)-этил 4-(2-хлор-4-фторфенил)-6-метил-2-(триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилат (3-2) 4,7 г, э.и.%=99,9%, $R_t=2,642$ мин. ESI-MS (m/z): 380,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$; и

(R)-этил 4-(2-хлор-4-фторфенил)-6-метил-2-(триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилат (3-2') 4,5 г, э.и.%=99,9%, $R_t=4,783$ мин. ESI-MS (m/z): 380,1 $[M+H]^+$.

Стадия 2-стадия 3.

(S)-Этил 4-(2-хлор-4-фторфенил)-6-((3,3-дифтор-4-гидроксиперидин-1-ил)метил)-2-(триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилат (3-4) получали, применяя соединение (3-2) в качестве исходного соединения и применяя способы, аналогичные способам на стадии 2 и стадии 3 примера 1. ESI-MS (m/z): 515,2 $[M+H]^+$.

Стадия 4. Разделение соединения (3-4).

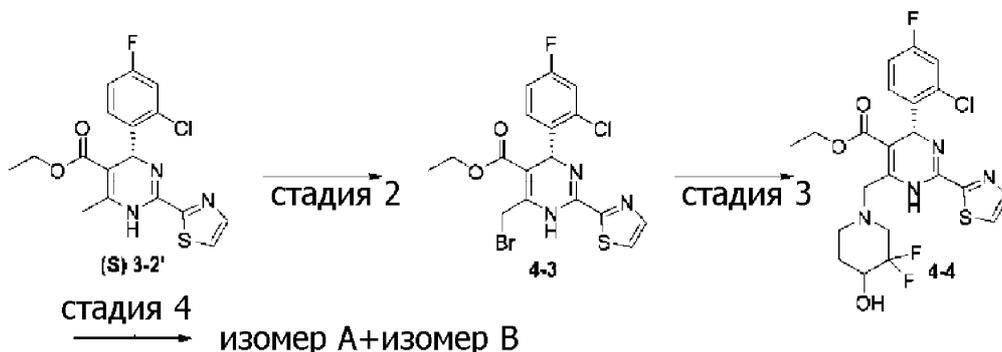
Соединение (3-4) (340 мг) разделяли хиральной хроматографией, применяя следующие условия разделения: колонка для разделения CHIRALPAK IE 0,46 см В.Д.×15 см длина, подвижная фаза: HEX:IPA=100/0,1 (об./об.), скорость потока: 1,0 мл/мин, длина волны: УФ 254 нм, температура: 35°C. Из них, продукт с $R_t=5,961$ мин представлял собой изомер А, э.и.%=99,3%, 122 мг, структуру характеризовали следующим способом:

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6): δ 9,54 (с, 1H), 7,99 (д, $J=3,14$ Гц, 1H), 7,94 (д, $J=3,14$ Гц, 1H), 7,44-7,40 (м, 2H), 7,19 (тд, $J=8,44, 2,64$ Гц, 1H), 6,05 (с, 1H), 5,62 (т, $J=5,40$ Гц, 1H), 4,00-3,92 (м, 4H), 3,76 (с, 1H), 3,06-2,67 (м, 4H), 1,86 (д, $J=3,52$ Гц, 1H), 1,74 (д, $J=3,08$ Гц, 1H), 1,04 (т, $J=7,12$ Гц, 3H). ESI-MS (m/z): 515,2 $[M+H]^+$; и

Из них продукт с $R_t=7,130$ мин представлял собой изомер В, э.и.%=99,5%, 131 мг, структуру характеризовали следующим способом:

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6): δ 9,54 (с, 1H), 7,99 (д, $J=3,14$ Гц, 1H), 7,94 (д, $J=3,14$ Гц, 1H), 7,44-7,40 (м, 2H), 7,19 (тд, $J=8,44, 2,64$ Гц, 1H), 6,05 (с, 1H), 5,62 (т, $J=5,40$ Гц, 1H), 4,00-3,92 (м, 4H), 3,76 (с, 1H), 3,06-2,67 (м, 4H), 1,86 (д, $J=3,52$ Гц, 1H), 1,74 (д, $J=3,08$ Гц, 1H), 1,04 (т, $J=7,12$ Гц, 3H). ESI-MS (m/z): 515,2 $[M+H]^+$.

Пример 4. Получение (R)-этил 4-(2-хлор-4-фторфенил)-6-((3,3-дифтор-4-гидроксиперидин-1-ил)метил)-2-(триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилата-изомера А и (R)-этил 4-(2-хлор-4-фторфенил)-6-((3,3-дифтор-4-гидроксиперидин-1-ил)метил)-2-(триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилата-изомера В



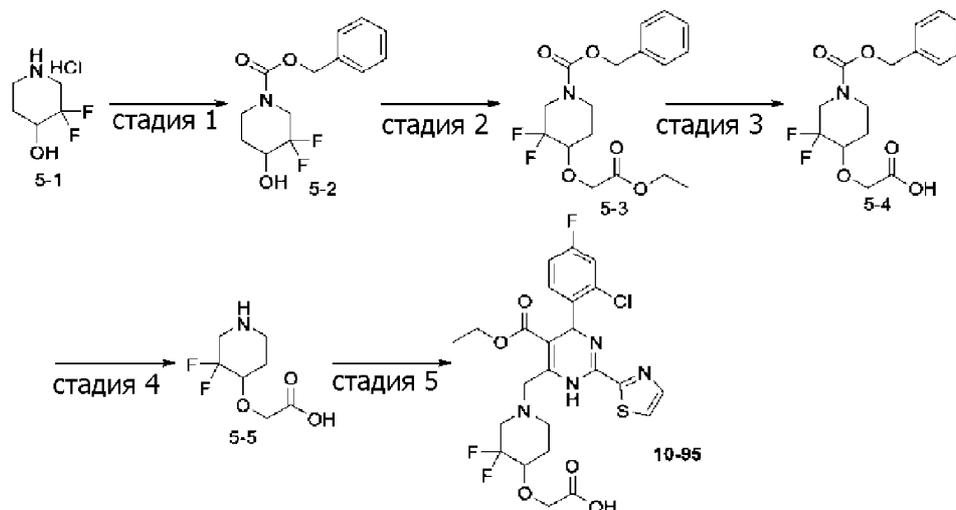
Целевой продукт получали, применяя соединение (3-2') в качестве исходного соединения и применяя способы, аналогичные способам в примере 3. Из них продукт с $R_t=8,171$ мин представлял собой изомер А, э.и.%=99,1%, 137 мг, структуру характеризовали следующим способом:

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6): δ 9,54 (с, 1H), 7,99 (д, $J=3,14$ Гц, 1H), 7,94 (д, $J=3,14$ Гц, 1H), 7,44-7,40 (м, 2H), 7,19 (тд, $J=8,44, 2,64$ Гц, 1H), 6,05 (с, 1H), 5,62 (т, $J=5,40$ Гц, 1H), 4,00-3,92 (м, 4H), 3,76 (с, 1H), 3,06-2,67 (м, 4H), 1,86 (д, $J=3,52$ Гц, 1H), 1,74 (д, $J=3,08$ Гц, 1H), 1,04 (т, $J=7,12$ Гц, 3H). ESI-MS (m/z): 515,2 $[M+H]^+$; и

из них продукт с $R_t=7,088$ мин представлял собой изомер В, э.и.%=99,4%, 128 мг, структуру характеризовали следующим способом:

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6): δ 9,54 (с, 1H), 7,99 (д, $J=3,14$ Гц, 1H), 7,94 (д, $J=3,14$ Гц, 1H), 7,44-7,40 (м, 2H), 7,19 (тд, $J=8,44, 2,64$ Гц, 1H), 6,05 (с, 1H), 5,62 (т, $J=5,40$ Гц, 1H), 4,00-3,92 (м, 4H), 3,76 (с, 1H), 3,06-2,67 (м, 4H), 1,86 (д, $J=3,52$ Гц, 1H), 1,74 (д, $J=3,08$ Гц, 1H), 1,04 (т, $J=7,12$ Гц, 3H). ESI-MS (m/z): 515,2 $[M+H]^+$.

Пример 5. Получение 2-((1-((6-(2-хлор-4-фторфенил)-5-(этоксикарбонил)-2-(триазол-2-ил)-3,6-дигидропиримидин-4-ил)метил)-3,3-дифторпиперидин-4-ил)окси)уксусной кислоты (10-95)



Стадия 1: получение бензил 3,3-дифтор-4-гидроксипиперидин-1-карбоксилата (5-2).

Гидрохлорид 3,3-дифторпиперидин-4-ола (5-1) (100 мг, 0,73 ммоль) растворяли в дихлорметане (2 мл), добавляли триэтиламин (147 мг, 1,46 ммоль), раствор N-(бензилоксикарбонил)оксисукцинимид (12 мг, 0,48 ммоль) в дихлорметане (2 мл) добавляли порциями при охлаждении в ледяной бане и реакцию нагревали до комнатной температуры и выдерживали в течение 1 ч. Заявленное в заголовке соединение 100 мг получали после обработки. ESI-MS (m/z): 272,2 [M+H]⁺.

Стадия 2: получение бензил 4-(2-этокси-2-оксоэтокси)-3,3-дифторпиперидин-1-карбоксилата (5-3).

Соединение (5-2) (100 мг, 0,37 ммоль) растворяли в тетрагидрофуране (2 мл), гидрид натрия (18 мг, 0,74 ммоль) добавляли при охлаждении в ледяной бане и реакцию нагревали до комнатной температуры и выдерживали в течение 1 ч. Затем, реакцию помещали в баню со льдом, добавляли порциями раствор этилбромацетата (94 мг, 0,56 ммоль) в тетрагидрофуране и реакцию нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение дополнительных 5 ч после завершения добавления порциями. Растворитель отгоняли при пониженном давлении, получая заявленное в заголовке соединение 150 мг. ESI-MS (m/z): 358,2 [M+H]⁺.

Стадия 3: получение 2-((1-((бензилокси)карбонил)-3,3-дифторпиперидин-4-ил)окси)уксусной кислоты (5-4).

При комнатной температуре, соединение (5-3) (132 мг, 0,37 ммоль) растворяли в тетрагидрофуране (1 мл), добавляли гидроксид натрия (89 мг, 2,22 ммоль в 0,3 мл H₂O) и реакцию проводили при комнатной температуре в течение ночи. Реакционную систему выливали в воду и заявленное в заголовке соединение 80 мг получали после обработки. ESI-MS (m/z): 328,2 [M-H].

Стадия 4: получение 2-((3,3-дифторпиперидин-4-ил)окси)уксусной кислоты (5-5).

При комнатной температуре, соединение (5-4) (80 мг, 0,24 ммоль) растворяли в метаноле (2 мл), добавляли палладий на угле (10%, 10 мг) и реакцию проводили в атмосфере водорода при комнатной температуре в течение 3 ч. Нерастворимый материал отфильтровывали и растворитель отгоняли при пониженном давлении, получая заявленное в заголовке соединение 40 мг. ESI-MS (m/z): 196,2 [M+H]⁺.

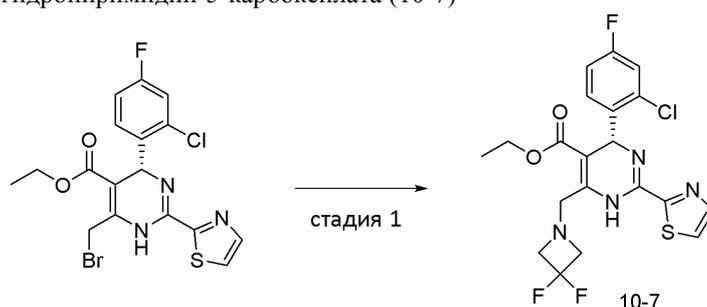
Стадия 5: получение 2-((1-((6-(2-хлор-4-фторфенил)-5-(этоксикарбонил)-2-(триазол-2-ил)-3,6-дигидропиримидин-4-ил)метил)-3,3-дифторпиперидин-4-ил)окси)уксусной кислоты (10-95).

Заявленное в заголовке соединение 10 мг получали способом, аналогичным способу, описанному на стадии 3 примера 1, за исключением того, что гидрохлорид 3,3-дифторпиперидин-4-ола заменяли соединением (5-5).

Структуру характеризовали следующим способом:

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 12,66 (с, 1H), 9,54 (д, J=2,4 Гц, 1H), 8,07-7,82 (м, 2H), 7,53-7,33 (м, 2H), 7,18 (тд, J=8,5, 2,7 Гц, 1H), 6,05 (с, 1H), 4,30-4,09 (м, 2H), 4,06-3,89 (м, 4H), 3,84 (с, 1H), 3,10-2,81 (м, 3H), 2,72 (с, 1H), 2,00 (с, 1H), 1,85 (с, 1H), 1,04 (т, J=7,0 Гц, 3H). ESI-MS (m/z): 573,2 [M+H]⁺.

Пример 6. Получение (R)-этил 4-(2-хлор-4-фторфенил)-6-((3,3-дифторазетидин-1-ил)метил)-2-(триazol-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилата (10-7)

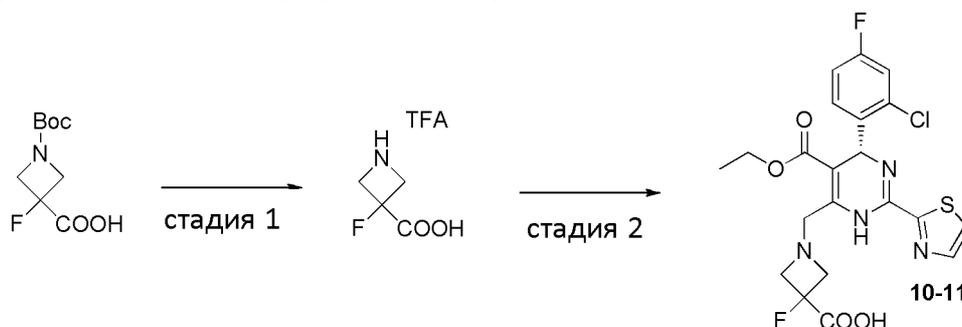


Заявленное в заголовке соединение 4 мг получали способом, аналогичным способу, описанному на стадии 3 примера 1 гидрохлорид (3,3-дифторпиперидин-4-ола заменяли гидрохлоридом 3,3-дифторазетидина).

Структуру характеризовали следующим способом:

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 9,46 (с, 1H), 8,06-7,99 (м, 1H), 7,95 (д, $J=3,1$ Гц, 1H), 7,46-7,36 (м, 2H), 7,19 (тд, $J=8,5, 2,6$ Гц, 1H), 6,03 (с, 1H), 4,15 (с, 2H), 3,97 (т, $J=7,1$ Гц, 2H), 3,85 (т, $J=12,6$ Гц, 4H), 1,05 (т, $J=7,1$ Гц, 3H). ESI-MS (m/z): 471,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Пример 7. Получение (R)-1-((6-(2-хлор-4-фторфенил)-5-этоксикарбонил)-2-(триazol-2-ил)-3,6-дигидропиримидин-4-ил)метил)-3-фторазетидин-3-карбоновой кислоты (10-11)



Стадия 1: получение 3-фторазетидин-3-карбоновой кислоты.

1-(трет-Бутоксикарбонил)-3-фторазетидин-3-карбоновую кислоту (30 мг, 0,14 ммоль) растворяли в дихлорметане (2 мл), добавляли трифторуксусную кислоту (0,5 мл) при комнатной температуре и реакцию проводили в течение 1 ч. Растворитель отгоняли при пониженном давлении и получали трифторацетатную соль заявленного в заголовке соединения 33 мг. ESI-MS (m/z): 120,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

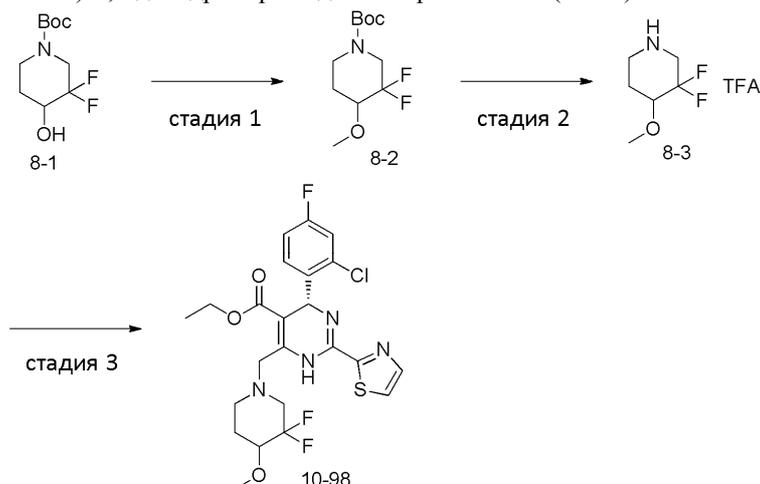
Стадия 2: получение (R)-1-((6-(2-хлор-4-фторфенил)-5-(этоксикарбонил)-2-(триazol-2-ил)-3,6-дигидропиримидин-4-ил)метил)-3-фторазетидин-3-карбоновой кислоты (10-11).

Заявленное в заголовке соединение 6 мг получали способом, аналогичным способу, описанному на стадии 3 примера 1 (гидрохлорид 3,3-дифторпиперидин-4-ола заменяли трифторацетатной солью 3-фторазетидин-3-карбоновой кислоты).

Структуру характеризовали следующим способом:

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 9,47 (с, 1H), 8,01 (д, $J=3,08$ Гц, 1H), 7,95 (д, $J=3,09$ Гц, 1H), 7,40 (дд, $J=15,82, 6, 61$ Гц, 2H), 7,21-7,15 (м, 1H), 6,02 (с, 1H), 4,12 (с, 2H), 3,96 (дд, $J=14,10, 7,12$ Гц, 2H), 3,91-3,81 (м, 2H), 3,71 (дд, $J=20,97, 9,47$ Гц, 2H), 1,05 (т, $J=7,06$ Гц, 3H). ESI-MS (m/z): 497,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Пример 8. Получение (4R)-этил 4-(2-хлор-4-фторфенил)-6-((3,3-дифтор-4-метоксипиперидин-1-ил)метил)-2-(триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилата (10-98)



Стадия 1: получение трет-бутил 3,3-дифтор-4-метоксипиперидин-1-карбоксилата (8-2).

трет-Бутил 3,3-дифтор-4-гидроксипиперидин-1-карбоксилат (8-1) (100 мг, 0,42 ммоль) и тетрагидрофуран (5 мл) добавляли в 25 мл колбу и охлаждали до 0°C при защите азотом, добавляли в нее гидрид натрия (20 мг, 0,5 ммоль) и реакцию проводили в течение 30 мин. Затем, добавляли в нее йодметан (120 мг, 0,84 ммоль) и реакцию проводили в течение 16 ч. Реакционный раствор медленно выливали в воду и неочищенный продукт заявленного в заголовке соединения 100 мг получали после обработки и применяли непосредственно в следующей реакции без очистки. ESI-MS (m/z): 252,2 [M+H]⁺.

Стадия 2: получение трифторацетатной соли 3,3-дифтор-4-метоксипиперидина (8-3).

Соединение (8-2) (100 мг, 0,4 ммоль) и дихлорметан (6 мл) добавляли в 25 мл колбу, реакцию охлаждали до 0°C, затем добавляли в нее трифторуксусную кислоту (2 мл) и реакцию проводили в течение 3 ч. Растворитель отгоняли при пониженном давлении, получая неочищенный продукт 120 мг. ESI-MS (m/z): 152,2 [M+H]⁺.

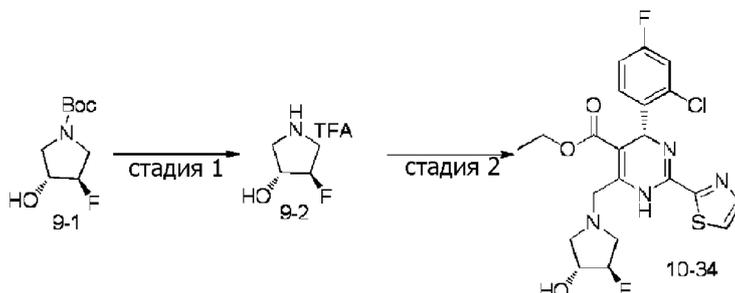
Стадия 3: получение (4R)-этил 4-(2-хлор-4-фторфенил)-6-((3,3-дифтор-4-метоксипиперидин-1-ил)метил)-2-(триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилата (10-98).

Заявленное в заголовке соединение 50 мг получали способом, аналогичным способу, описанному на стадии 3 примера 1 (гидрохлорид 3,3-дифторпиперидин-4-ола заменяли соединением (8-3)).

Структуру характеризовали следующим способом:

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 9,54 (с, 1H), 8,00 (дд, J=3,1, 1,7 Гц, 1H), 7,94 (д, J=3,1 Гц, 1H), 7,47-7,35 (м, 2H), 7,18 (тд, J=8,5, 2,6 Гц, 1H), 6,05 (с, 1H), 4,06-3,91 (м, 4H), 3,60 (д, J=5,0 Гц, 1H), 3,41 (д, J=1,6 Гц, 3H), 3,12-2,93 (м, 1H), 2,92-2,76 (м, 1H), 2,67 (с, 1H), 1,94 (с, 1H), 1,77 (с, 1H), 1,04 (т, J=7,1 Гц, 3H). ESI-MS (m/z): 529,2 [M+H]⁺.

Пример 9. Получение (R)-этил 4-(2-хлор-4-фторфенил)-6-(((3R,4R)-3-фтор-4-гидроксипирролидин-1-ил)метил)-2-(триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилата (10-34)



Стадия 1: получение (3R,4R)-4-фторпирролидин-3-ола (9-2).

При охлаждении в ледяной бане (3R,4R)-трет-бутил 3-гидрокси-4-фторпирролидин-1-карбоксилат (9-1) (60 мг, 0,3 ммоль) растворяли в дихлорметане (1 мл), добавляли трифторуксусную кислоту (0,3 мл) и реакцию проводили при комнатной температуре в течение 1,5 ч. Растворитель отгоняли при пониженном давлении, получая трифторацетатную соль заявленного в заголовке соединения 60 мг. ESI-MS (m/z): 106,1 [M+H]⁺.

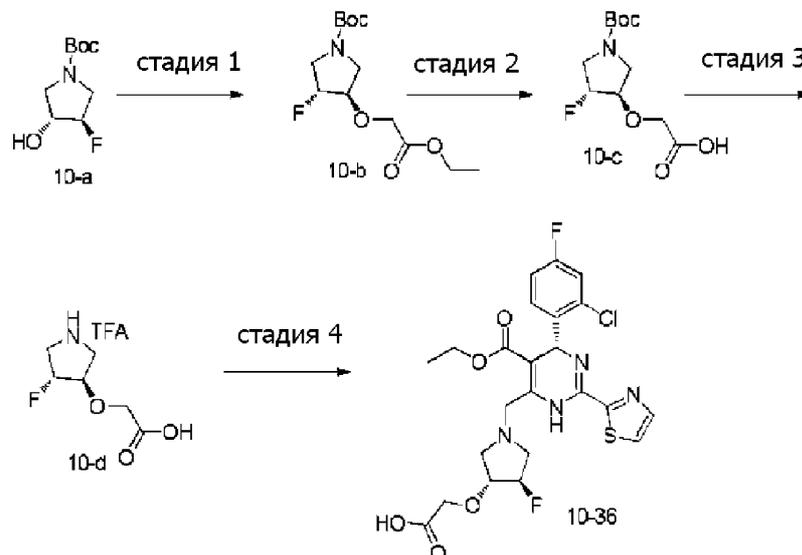
Стадия 2: получение (R)-этил 4-(2-хлор-4-фторфенил)-6-(((3R,4R)-3-фтор-4-гидроксипирролидин-1-ил)метил)-2-(триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилата (10-34).

Заявленное в заголовке соединение 30 мг получали способом, аналогичным способу, описанному на стадии 3 примера 1 (гидрохлорид 3,3-дифторпиперидин-4-ола заменяли соединением (9-2)).

Структуру характеризовали следующим способом:

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,86 (т, $J=2,6$ Гц, 1H), 7,59 (с, 2H), 7,49-7,33 (м, 1H), 7,16 (ддд, $J=8,3, 4,3, 2,6$ Гц, 1H), 7,02 (д, $J=9,0$ Гц, 1H), 6,18 (д, $J=2,3$ Гц, 1H), 5,19 (д, $J=50,5$ Гц, 1H), 4,93-4,26 (м, 4H), 4,06 (квд, $J=7,1, 1,7$ Гц, 2H), 3,53 (с, 2H), 1,10 (тд, $J=7,1, 4,5$ Гц, 3H). ESI-MS (m/z): 483,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Пример 10. Получение 2-(((3R,4R)-1-(((R)-6-(2-хлор-4-фторфенил)-5-(этоксикарбонил)-2-(триазол-2-ил)-3,6-дигидропиримидин-4-ил)метил)-4-фторпирролидин-3-ил)окси)уксусной кислоты (10-36)



Стадия 1: получение (3R,4R)-трет-бутил 3-(2-этокси-2-оксоэтокси)-4-фторпирролидин-1-карбоксилата (10-b).

трет-Бутил (3R,4R)-3-гидрокси-4-фторпирролидин-1-карбоксилат (10-a) (100 мг, 0,49 ммоль) растворяли в тетрагидрофуране (5 мл), добавляли при охлаждении в ледяной бане гидрид натрия (40 мг, 60% в масле, 0,98 ммоль) и реакцию нагревали до комнатной температуры и выдерживали в течение 2 ч. При охлаждении в ледяной бане добавляли этилбромацетат (124 мг, 0,74 ммоль) и реакцию проводили при комнатной температуре в течение ночи. Добавляли насыщенный хлорид аммония (3 мл), с последующим разбавлением дихлорметаном (15 мл), реакцию промывали насыщенным соляным раствором и сушили над безводным сульфатом натрия. Осушающий агент удаляли фильтрованием, растворитель отгоняли при пониженном давлении, получая заявленное в заголовке соединение 120 мг. ESI-MS (m/z): 292,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Стадия 2: получение 2-(((3R,4R)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-фторпирролидин-3-ил)окси)уксусной кислоты (10-c).

Соединение (10-b) (120 мг, 0,41 ммоль) растворяли в смешанном растворе тетрагидрофурана и воды (об.:об.=1:1, 3 мл), добавляли моногидрат гидроксида лития (104 мг, 2,47 ммоль) и реакцию проводили при комнатной температуре в течение 3,5 ч. pH регулировали до 5 водным раствором лимонной кислоты, добавляли дихлорметан (15 мл) и реакцию промывали насыщенным соляным раствором и сушили над безводным сульфатом натрия. Безводный сульфат натрия удаляли фильтрованием, растворитель отгоняли при пониженном давлении, получая заявленное в заголовке соединение 100 мг. ESI-MS (m/z): 263,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Стадия 3: получение 2-(((3R,4R)-4-фторпирролидин-3-ил)окси)уксусной кислоты (10-d).

При комнатной температуре соединение (10-c) (100 мг, 0,38 ммоль) растворяли в дихлорметане (1 мл), добавляли трифторуксусную кислоту (0,3 мл) и реакцию проводили при комнатной температуре в течение 1,5 ч. Растворитель отгоняли при пониженном давлении, получая трифторацетатную соль заявленного в заголовке соединения 60 мг. ESI-MS (m/z): 164,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

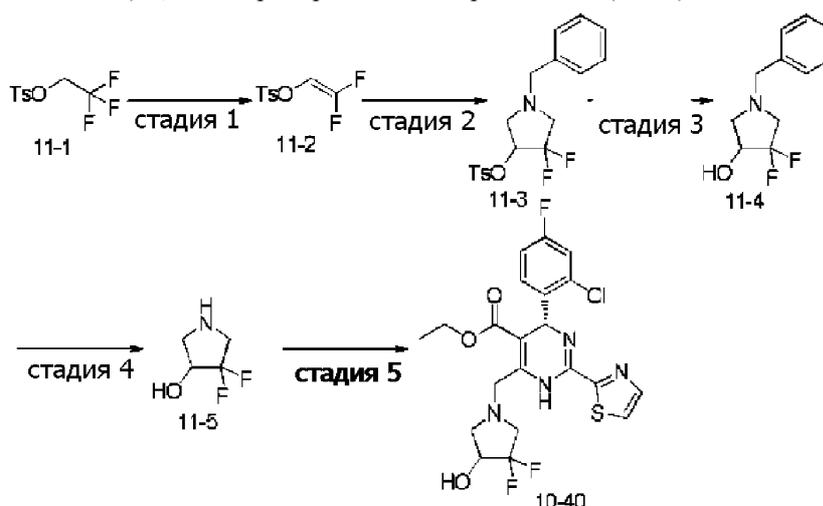
Стадия 4: получение 2-(((3R,4R)-1-(((R)-6-(2-хлор-4-фторфенил)-5-(этоксикарбонил)-2-(триазол-2-ил)-3,6-дигидропиримидин-4-ил)метил)-4-фторпирролидин-3-ил)окси)уксусной кислоты (10-36).

Заявленное в заголовке соединение 13 мг получали способом, аналогичным способу, описанному на стадии 3 примера 1 (гидрохлорид 3,3-дифторпиперидин-4-ола заменяли соединением (10-d)).

Структуру характеризовали следующим способом:

^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 12,66 (с, 1H), 9,47 (д, $J=12,6$ Гц, 1H), 7,98 (дд, $J=5,1, 3,2$ Гц, 1H), 7,93 (дд, $J=3,2, 1,9$ Гц, 1H), 7,41 (ддд, $J=9,5, 6,4, 3,0$ Гц, 2H), 7,19 (тт, $J=8,5, 2,0$ Гц, 1H), 6,04 (д, $J=1,4$ Гц, 1H), 5,15 (д, $J=51,7$ Гц, 1H), 4,40-3,77 (м, 9H), 3,12-2,87 (м, 2H), 1,04 (тд, $J=7,1, 2,1$ Гц, 3H). ESI-MS (m/z): 541,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Пример 11. Получение (4R)-этил 4-(2-хлор-4-фторфенил)-6-((3,3-дифтор-4-гидроксипирролидин-1-ил)метил)-2-(триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилата (10-40)



Стадия 1: получение 2,2-дифторвинил п-метилбензолсульфоната (11-2).

2,2,2-Трифторэтил п-метилбензолсульфонат (11-1) (2,57 г, 10,0 ммоль) растворяли в тетрагидрофуране (15 мл), реакционный раствор охлаждали до -78°C при защите азотом и медленно порциями добавляли н-бутиллитий (2,5М в гексане, 8 мл, 20 ммоль). Реакционный раствор перемешивали при -78°C в течение 40 мин и медленно добавляли порциями воду (4,5 г, 25 ммоль) и тетрагидрофуран (10 мл). Реакционный раствор медленно нагревали до комнатной температуры. К реакции добавляли воду (60 мл) и экстрагировали этилацетатом (30 мл \times 2). Органическую фазу собирали, промывали насыщенным раствором хлорида натрия (50 мл \times 2), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали, удаляя безводный сульфат натрия, концентрировали при пониженном давлении, с последующей очисткой колоночной хроматографией и получали целевое соединение 2,4 г. ESI-MS (m/z): 235,1 [M+H]⁺.

Стадия 2: получение 1-бензил-4,4-дифторпирролидин-3-ил п-метилбензолсульфоната (11-3).

Соединение (11-2) (2340 мг, 10,0 ммоль) и N-метоксиметил-N-триметилсилилбензиламин (9500 мг, 40,0 ммоль) перемешивали при 130°C в масляной бане в течение 5 мин и добавляли порциями трифторуксусную кислоту (110 мг, 1,1 ммоль). Реакцию перемешивали в течение дополнительного 1 ч, охлаждали до комнатной температуры, разбавляли этилацетатом и очищали, получая целевое соединение 3,0 г. ESI-MS (m/z): 368,1 [M+H]⁺.

Стадия 3: получение 1-бензил-4,4-дифторпирролидин-3-ола (11-4).

Соединение (11-3) (500 мг, 1,35 ммоль) растворяли в метаноле (5 мл), добавляли магниевую стружку (326 мг, 13,6 ммоль) и реакцию перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Добавляли ледяную воду (20 мл), добавляли порциями концентрированную хлористоводородную кислоту до растворения всех твердых веществ. Реакцию экстрагировали этилацетатом, водную фазу собирали, доводили до pH 7 насыщенным гидроксидом натрия и экстрагировали этилацетатом. Органическую фазу собирали, промывали насыщенным раствором хлорида натрия, сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали, удаляя безводный сульфат натрия, концентрировали при пониженном давлении и неочищенный продукт очищали препаративной хроматографией на силикагеле (петролейный эфир/этилацетат=3/2), получая целевое соединение 240 мг. ESI-MS (m/z): 214,2 [M+H]⁺.

Стадия 4: получение 4,4-дифторпирролидин-3-ола (11-5).

Соединение (11-4) (100 мг, 0,47 ммоль) растворяли в метаноле (2 мл), добавляли палладий на угле (8 мг, 10% Pd, 0,047 ммоль) и реакцию перемешивали в течение ночи при комнатной температуре в атмосфере водорода. Палладий на угле удаляли фильтрованием и реакцию концентрировали при пониженном давлении, получая целевое соединение 50 мг. ESI-MS (m/z): 124,1 [M+H]⁺.

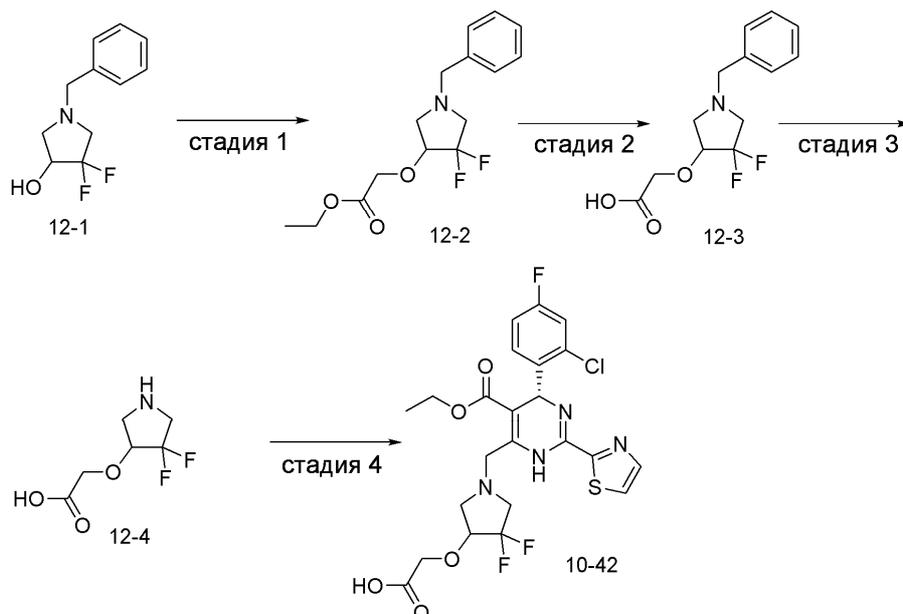
Стадия 5: получение (4R)-этил 4-(2-хлор-4-фторфенил)-6-((3,3-дифтор-4-гидроксипирролидин-1-ил)метил)-2-(триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилата (10-40).

Заявленное в заголовке соединение 33 мг получали способом, аналогичным способу, описанному на стадии 3 примера 1 (гидрохлорид 3,3-дифторпиперидин-4-ола заменяли соединением (11-5)).

Структуру характеризовали следующим способом:

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 9,36 (с, 1H), 7,84 (д, J=3,1 Гц, 1H), 7,48 (с, 1H), 7,31 (с, 1H), 7,14 (дт, J=8,5, 2,5 Гц, 1H), 6,94 (с, 1H), 6,20 (д, J=6,9 Гц, 1H), 4,45-3,87 (м, 6H), 3,20 (с, 2H), 2,85 (с, 1H), 1,13 (тд, J=7,1, 4,7 Гц, 3H). ESI-MS (m/z): 501, 0 [M+H]⁺.

Пример 12. Получение 2-((1-((R)-6-(2-хлор-4-фторфенил)-5-(этоксикарбонил)-2-(триазол-2-ил)-3,6-дигидропиримидин-4-ил)метил)-4,4-дифторпирролидин-3-ил)окси)уксусной кислоты (10-42)



Стадия 1: получение этил 2-((1-бензил-4,4-дифторпирролидин-3-ил)окси)ацетата (12-2).

1-Бензил-4,4-дифторпирролидин-3-ол (12-1) (100 мг, 0,47 ммоль) растворяли в тетрагидрофуране (5 мл), гидрид натрия (40 мг 60% в масле, 0,94 ммоль) добавляли при охлаждении в ледяной бане и реакцию нагревали до комнатной температуры и выдерживали в течение 2 ч. Этилбромоацетат (119 мг, 0,71 ммоль) добавляли при охлаждении в ледяной бане и реакцию проводили при комнатной температуре до завершения реакции. К реакции добавляли насыщенный хлорид аммония (3 мл), разбавляли дихлорметаном (15 мл), промывали насыщенным соляным раствором и сушили над безводным сульфатом натрия. Безводный сульфат натрия удаляли фильтрованием и растворитель отгоняли при пониженном давлении, получая заявленное в заголовке соединение 123 мг, которое применяли непосредственно в следующей реакции без очистки. ESI-MS (m/z): 300,1 $[M+H]^+$.

Стадия 2: получение 2-((1-бензил-4,4-дифторпирролидин-3-ил)окси)уксусной кислоты (12-3).

Соединение (12-2) (123 мг, 0,41 ммоль) растворяли в смешанном растворе тетрагидрофурана и воды (об.:об.=1:1, 3 мл), добавляли моногидрат гидроксида лития (104 мг, 2,47 ммоль) и реакцию проводили при комнатной температуре в течение 3,5 ч. Реакцию регулировали до pH 5 водным раствором лимонной кислоты, добавляли дихлорметан (15 мл), промывали насыщенным соляным раствором и сушили над безводным сульфатом натрия. Осушающий агент удаляли фильтрованием, растворитель отгоняли при пониженном давлении и неочищенный продукт очищали препаративной хроматографией, получая заявленное в заголовке соединение 50 мг. ESI-MS (m/z): 272,1 $[M+H]^+$.

Стадия 3: получение 2-((4,4-дифторпирролидин-3-ил)окси)уксусной кислоты (12-4).

Соединение (12-3) (50 мг, 0,18 ммоль) растворяли в метаноле (2 мл), добавляли палладий на угле (5 мг, 10% Pd, 0,018 ммоль) и реакцию перемешивали в течение ночи при комнатной температуре в атмосфере водорода. Реакцию фильтровали, удаляя палладий на угле и концентрировали при пониженном давлении, получая целевое соединение 30 мг. ESI-MS (m/z): 182,1 $[M+H]^+$.

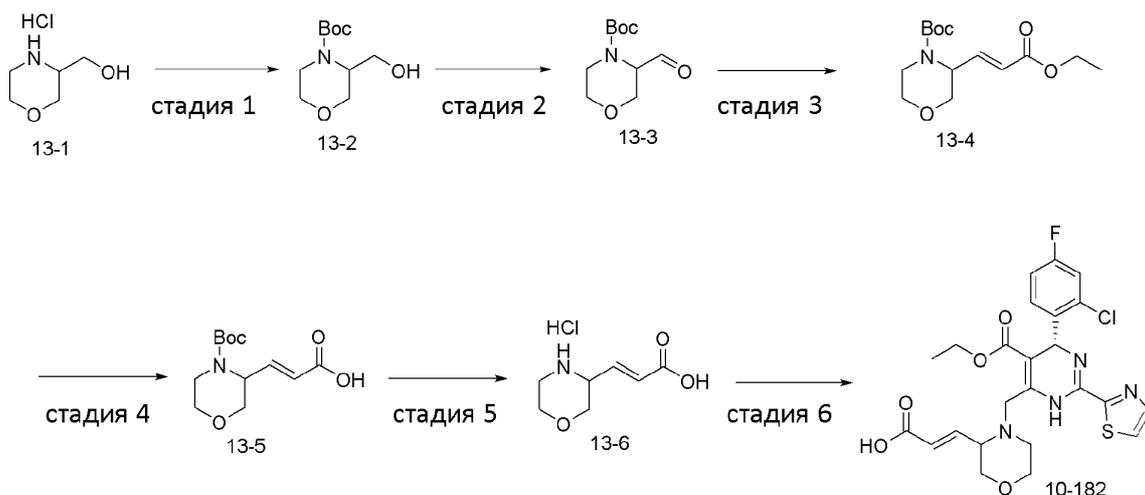
Стадия 4: получение 2-((1-((R)-6-(2-хлор-4-фторфенил)-5-(этоксикарбонил)-2-(триazol-2-ил)-3,6-дигидропиримидин-4-ил)метил)-4,4-дифторпирролидин-3-ил)окси)уксусной кислоты.

Заявленное в заголовке соединение 25 мг получали способом, аналогичным способу, описанному на стадии 3 примера 1 (гидрохлорид 3,3-дифторпиперидин-4-ола заменяли соединением (12-4)).

Структуру характеризовали следующим способом:

1H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ 7,87 (дд, $J=3,1, 1,3$ Гц, 1H), 7,49 (с, 1H), 7,33 (т, $J=7,4$ Гц, 1H), 7,14 (дд, $J=8,5, 2,6$ Гц, 1H), 6,96 (т, $J=8,3$ Гц, 1H), 6,19 (д, $J=2,3$ Гц, 1H), 4,44 (д, $J=16,3$ Гц, 1H), 4,26 (дд, $J=16,3, 2,3$ Гц, 4H), 4,08-4,01 (м, 2H), 3,43 (с, 4H), 1,12 (т, $J=7,1$ Гц, 3H). ESI-MS (m/z): 559,2 $[M+H]^+$.

Пример 13. Получение (E)-3-(4-(((R)-6-(2-хлор-4-фторфенил)-5-(этоксикарбонил)-2-(триазол-2-ил)-3,6-дигидропиримидин-4-ил)метил)морфолин-3-ил)акриловой кислоты (10-182)



Стадия 1: получение трет-бутил 3-(гидроксиметил)морфолин-4-карбоксилата (13-2).

Гидрохлорид морфолин-3-илметанола (1,0 г, 6,5 ммоль), триэтиламин (1,64 г, 16 ммоль) и дихлорметан (10 мл) добавляли в 50 мл трехгорлую колбу, перемешивали при защите азотом и охлаждали до 0°C, с последующим добавлением ди-трет-бутил дикарбоната (2,1 г, 10 ммоль). После добавления реакцию нагревали до комнатной температуры и выдерживали в течение 3 ч. Реакционный раствор медленно выливали в воду и экстрагировали дихлорметаном. Органическую фазу собирали, промывали насыщенным соляным раствором и сушили над безводным сульфатом натрия. Безводный сульфат натрия удаляли фильтрованием, растворитель отгоняли при пониженном давлении и целевое соединение 1,32 г получали после очистки. ESI-MS (m/z): 162,0 [M+H]⁺.

Стадия 2: получение трет-бутил 3-формилморфолин-4-карбоксилата (13-3).

Соединение (13-2) (500 мг, 2,3 ммоль) и дихлорметан (10 мл) добавляли в 50 мл трехгорлую колбу, добавляли в нее реагент Десс-Мартина (1,3 г, 3,0 ммоль) при комнатной температуре и реакцию перемешивали в течение 3 ч. Реакционный раствор медленно выливали в водный бикарбонат натрия и экстрагировали дихлорметаном. Органическую фазу собирали, промывали насыщенным соляным раствором, сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали, удаляя безводный сульфат натрия и растворитель отгоняли при пониженном давлении, получая неочищенный продукт 520 мг. ESI-MS (m/z): 160,0 [M+H]⁺.

Стадия 3: получение (E)-трет-бутил 3-(3-этокси-3-оксопроп-1-ен-1-ил)морфолин-4-карбоксилата (13-4).

Триэтилфосфоноацетат (600 мг, 3,3 ммоль) и тетрагидрофуран (10 мл) добавляли в 50 мл трехгорлую колбу, перемешивали при защите азотом и охлаждали до 0°C, с последующим добавлением гидроксида натрия (320 мг, 6,6 ммоль). После добавления реакцию проводили в течение 10 мин и затем добавляли порциями раствор соединения (13-3) (520 мг, 3,3 ммоль) в тетрагидрофуране (5 мл). После добавления порциями реакцию нагревали до комнатной температуры и выдерживали в течение 16 ч. Реакционный раствор медленно выливали в воду и экстрагировали этилацетатом. Органическую фазу собирали, промывали насыщенным соляным раствором и сушили над безводным сульфатом натрия. Осушающий агент удаляли фильтрованием и растворитель отгоняли при пониженном давлении, получая неочищенный продукт 620 мг. ESI-MS (m/z): 186,0 [M+H]⁺.

Стадия 4: получение (E)-3-(4-(трет-бутоксикарбонил)морфолин-3-ил)акриловой кислоты (13-5).

При комнатной температуре, соединение (13-4) (620 мг, 2,2 ммоль), безводный этанол (10 мл) и воду (10 мл) добавляли в 50 мл колбу, перемешивали, с последующим добавлением гидроксида натрия (260 мг, 6,6 ммоль) и реакцию проводили при комнатной температуре в течение 4 ч. Затем, реакцию прекращали добавлением к ней воды (20 мл), подвергали роторному упариванию, удаляя этанол и экстрагировали метил трет-бутиловым эфиром. Водную фазу регулировали до pH 2-3 1N водной хлористоводородной кислотой и затем экстрагировали этилацетатом. Органическую фазу собирали, промывали насыщенным соляным раствором и сушили над безводным сульфатом натрия. Безводный сульфат натрия удаляли фильтрованием и растворитель отгоняли при пониженном давлении, получая неочищенный продукт 460 мг, который применяли непосредственно в следующей реакции без очистки. ESI-MS (m/z): 158,0 [M+H]⁺.

Стадия 5: получение (E)-3-(морфолин-3-ил)акриловой кислоты (13-6).

Раствор 4N хлористоводородной кислоты в диоксане (5 мл) добавляли в 25 мл колбу, охлаждали до 0°C с последующим добавлением порциями раствора соединения (13-5) (460 мг, 1,8 ммоль) в этилацетате (5 мл) и реакцию проводили при комнатной температуре в течение 2 ч. Растворитель отгоняли при пониженном давлении, получая гидрохлоридную соль заявленного в заголовке соединения 300 мг. ESI-MS

(m/z): 158,0 [M+H]⁺.

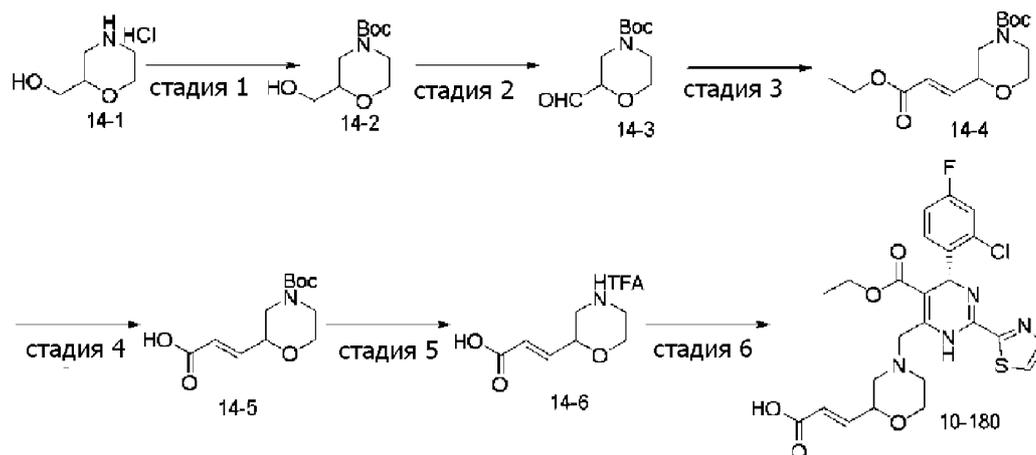
Стадия 6: получение (E)-3-(4-(((R)-6-(2-хлор-4-фторфенил)-5-(этоксикарбонил)-2-(триазол-2-ил)-3,6-дигидропиримидин-4-ил)метил)мофолин-3-ил)акриловой кислоты (10-182).

Заявленное в заголовке соединение 47 мг получали способом, аналогичным способу, описанному на стадии 3 примера 1 (гидрохлорид 3,3-дифторпиперидин-4-ола заменяли соединением (13-6)).

Структуру характеризовали следующим способом:

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 12,47 (с, 1H), 9,69 (д, J=28,7 Гц, 1H), 8,11-7,91 (м, 2H), 7,53-7,27 (м, 2H), 7,23-7,10 (м, 1H), 6,66 (дд, J=35,0, 15,8, 8,8 Гц, 1H), 6,11 (дд, J=28,6, 15,7 Гц, 1H), 6,03 (д, J=14,0 Гц, 1H), 4,02-3,85 (м, 4H), 3,84-3,70 (м, 2H), 3,70-3,57 (м, 1H), 3,46-3,35 (м, 2H), 2,84 (дд, J=38,9, 12,6 Гц, 1H), 2,48-2,41 (м, 1H), 1,03 (т, J=7,1 Гц, 3H). ESI-MS (m/z): 535,1 [M+H]⁺.

Пример 14. Получение (E)-3-(4-(((R)-6-(2-хлор-4-фторфенил)-5-(этоксикарбонил)-2-(триазол-2-ил)-3,6-дигидропиримидин-4-ил)метил)мофолин-2-ил)акриловой кислоты (10-180)

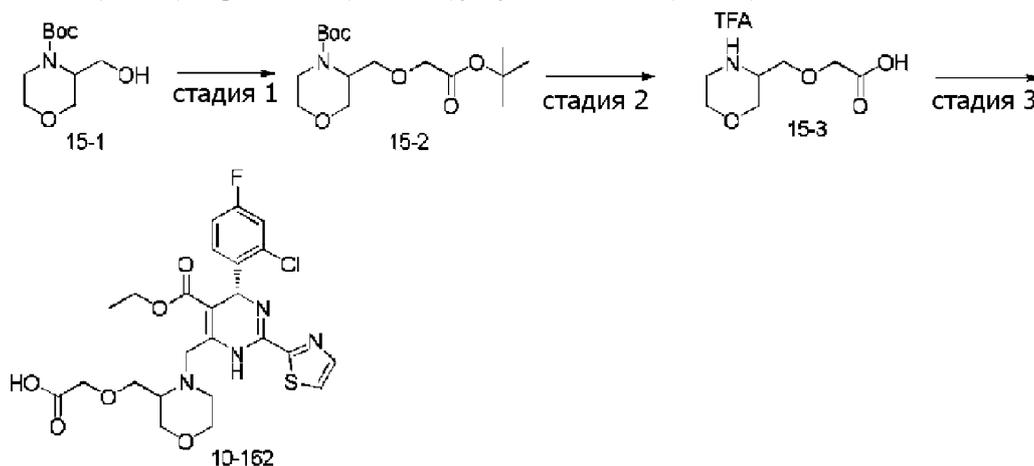


Согласно реакционной схеме выше, применяя способы, аналогичные способам в примере 13 и применяя гидрохлорид мофолин-2-илметанола в качестве исходного соединения, получали заявленное в заголовке соединение (22 мг).

Структуру характеризовали следующим способом:

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 12,40 (с, 1H), 9,64 (д, J=2,4 Гц, 1H), 8,02 (д, J=2,92 Гц, 2H), 7,95 (д, J=3,12 Гц, 2H), 7,21-7,16 (м, 1H), 6,83-6,72 (м, 1H), 6,05 (д, 1H), 6,00-5,91 (м, 1H), 4,27-4,22 (м, 1H), 4,00-3,85 (м, 5H), 3,70-3,61 (м, 1H), 3,07-2,94 (м, 1H), 2,84-2,66 (м, 1H), 2,42-2,67 (м, 1H), 2,17-2,04 (м, 1H), 1,04 (т, J=7,0 Гц, 3H). ESI-MS (m/z): 535,1 [M+H]⁺.

Пример 15. 2-((4-(((R)-6-(2-хлор-4-фторфенил)-5-(этоксикарбонил)-2-(триазол-2-ил)-3,6-дигидропиримидин-4-ил)метил)мофолин-3-ил)метокси)уксусная кислота (10-162)



Стадия 1: получение трет-бутил 3-((2-(трет-бутоксид)-2-оксоэтоксид)метил)морфолин-4-карбоксилата (15-2)

трет-Бутил 3-(гидроксиметил)морфолин-4-карбоксилат (200 мг, 0,99 ммоль) и тетрагидрофуран (6 мл) добавляли в 50 мл трехгорлую колбу, добавляли в нее гидрид натрия (47,3 мг, 1,2 ммоль) при комнатной температуре, перемешивали в течение 30 мин, с последующим добавлением трет-бутил бромацетата (192 мг, 0,99 ммоль) и реакцию проводили при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционный раствор медленно выливали в 10 мл воды, доводили до pH 2-3 1N водной хлористоводородной кислотой и экстрагировали этилацетатом. Органическую фазу собирали, промывали насыщенным соляным рас-

твором, сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали, удаляя безводный сульфат натрия и растворитель отгоняли при пониженном давлении, получая неочищенный продукт 300 мг. ESI-MS (m/z): 232,0 [M+H]⁺.

Стадия 2: получение трифторацетатной соли 2-(мофолин-3-илметокси)уксусной кислоты (15-3).

Соединение (15-2) (300 мг, 0,9 ммоль) и дихлорметан (6 мл) добавляли в 25 мл колбу, охлаждали до 0°C, затем добавляли в нее трифторуксусную кислоту (2 мл) и реакцию проводили при комнатной температуре в течение 3 часов. Растворитель отгоняли при пониженном давлении, получая неочищенный продукт 250 мг. ESI-MS (m/z): 176,0 [M+H]⁺.

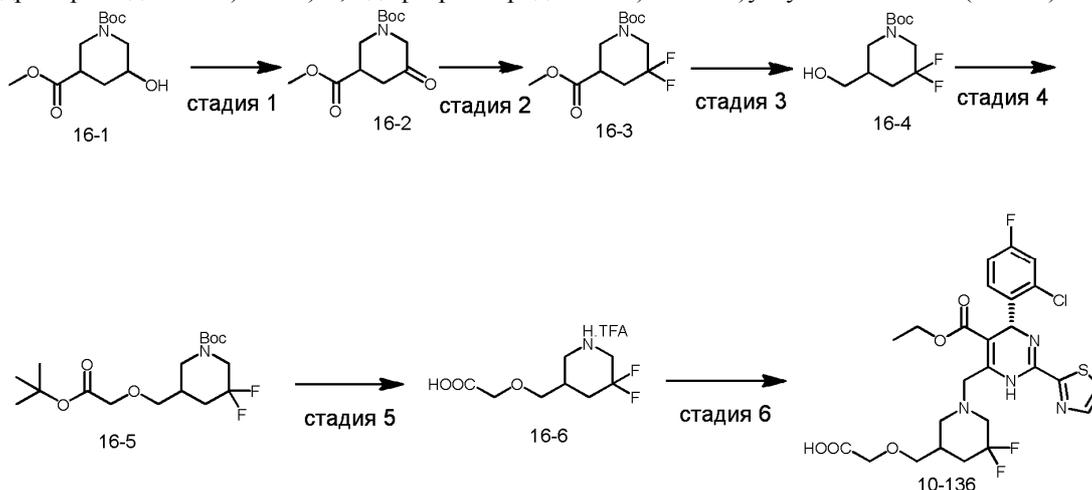
Стадия 3: получение 2-((4-(((R)-6-(2-хлор-4-фторфенил)-5-(этоксикарбонил)-2-(триазол-2-ил)-3,6-дигидропиримидин-4-ил)метил)мофолин-3-ил)метокси)уксусной кислоты (10-162).

Заявленное в заголовке соединение 73 мг получали способом, аналогичным способу, описанному на стадии 3 примера 1 (гидрохлорид 3,3-дифторпиперидин-4-ола заменяли соединением (15-3)).

Структуру характеризовали следующим способом:

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 12,70 (с, 1H), 9,79 (д, J=22,9 Гц, 1H), 8,01 (т, J=2,8 Гц, 1H), 7,93 (т, J=3,0 Гц, 1H), 7,50-7,37 (м, 2H), 7,18 (квд, J=8,3, 2,6 Гц, 1H), 6,04 (д, J=1,4 Гц, 1H), 4,32 (дд, J=20,0, 17,6 Гц, 1H), 4,09-3,91 (м, 4H), 3,87-3,63 (м, 3H), 3,62-3,50 (м, 3H), 3,46 (дд, J=11,2, 8,2 Гц, 1H), 2,87-2,66 (м, 2H), 2,48-2,39 (м, 1H), 1,05 (тд, J=7,0, 1,5 Гц, 3H). ESI-MS (m/z): 553,1 [M+H]⁺.

Пример 16. Получение 2-((1-(((R)-6-(2-хлор-4-фторфенил)-5-(этоксикарбонил)-2-(триазол-2-ил)-3,6-дигидропиримидин-4-ил)метил)-5,5-дифторпиперидин-3-ил)метокси)уксусной кислоты (10-136)



Стадия 1: получение 1-трет-бутил 3-метил 5-оксопиперидин-1,3-дикарбоксилата (16-2).

При комнатной температуре, 1-трет-бутил 3-метил 5-гидроксипиперидин-1,3-дикарбоксилат (16-1) (1,0 г, 3,86 ммоль) растворяли в дихлорметане (20 мл), реакцию охлаждали до 0°C после завершения растворения, добавляли реагент Десс-Мартина (3,27 г, 7,71 ммоль) при перемешивании и реакцию перемешивали в течение ночи при комнатной температуре после добавления. Большое количество белого твердого остатка выпадало в реакционный раствор, который фильтровали и фильтрат промывали последовательно водой (50 мл) и насыщенным водным карбонатом натрия (50 мл). Органическую фазу сушили над безводным сульфатом натрия и растворитель отгоняли при пониженном давлении, получая заявленное в заголовке соединение 1,0 г. ESI-MS (m/z): 202,1 [M+H-56]⁺.

Стадия 2: получение 1-трет-бутил 3-метил 5,5-дифторпиперидин-1,3-дикарбоксилата (16-3).

Соединение (16-2) (1,0 г, 3,89 ммоль) растворяли в дихлорметане (20 мл), реакцию охлаждали до -70°C после растворения при перемешивании, медленно добавляли порциями DAST (1,9 г, 11,67 ммоль) и реакцию нагревали до комнатной температуры и выдерживали в течение 4,5 ч после добавления порциями. После полной реакции исходного соединения, контролируемой LC-MS, реакционный раствор гасили насыщенным водным бикарбонатом натрия (20 мл), экстрагировали дихлорметаном, сушили и очищали, получая заявленное в заголовке соединение 550 мг. ESI-MS (m/z): 224,1 [M+H-56]⁺.

Стадия 3: получение трет-бутил 3,3-дифтор-5-(гидроксиметил)пиперидин-1-карбоксилата (16-4).

При комнатной температуре, соединение (16-3) (500 мг, 1,79 ммоль) добавляли к метанолу (8 мл), реакцию охлаждали до 0°C и медленно добавляли порциями боргидрид натрия (272 мг, 7,16 ммоль). После добавления, реакцию проводили при комнатной температуре в течение ночи, неполную реакцию исходного соединения контролировали LC-MS, добавляли боргидрид натрия (136 мг, 3,58 ммоль) и реакцию продолжали в течение ночи до полной реакции исходного соединения. Реакцию гасили добавлением воды (20 мл) и экстрагировали этилацетатом. Органическую фазу объединяли, промывали водой, сушили над безводным сульфатом натрия и растворитель отгоняли при пониженном давлении, получая заявленное в заголовке соединение 500 мг. ESI-MS (m/z): 196,1 [M+H-56]⁺.

Стадия 4: получение трет-бутил 5-((2-(трет-бутокси)-2-оксоэтокси)метил)-3,3-дифторпиперидин-1-

карбоксилата (16-5).

При комнатной температуре соединение (16-4) (150 мг, 0,60 ммоль) добавляли к тетрагидрофурану (4 мл), реакцию охлаждали до 0°C и медленно добавляли гидрид натрия (48 мг, 1,2 ммоль). После добавления, реакцию перемешивали при 0°C в течение 30 мин и затем добавляли раствор трет-бутил бромацетата (140 мг, 0,72 ммоль) в тетрагидрофуране (1,0 мл). Реакцию проводили при комнатной температуре в течение ночи, неполную реакцию исходного соединения контролировали LC-MS, добавляли трет-бутил бромацетат (35 мг, 0,18 ммоль) и реакцию продолжали в течение ночи до полной реакции исходного соединения. Реакционный раствор гасили добавлением насыщенного водного раствора хлорида аммония (5 мл), разбавляли водой (20 мл) и экстрагировали этилацетатом. Органическую фазу объединяли, промывали водой, сушили и очищали, получая заявленное в заголовке соединения 120 мг. ESI-MS (m/z): 254,1 [M+H]⁺.

Стадия 5: получение 2-((5,5-дифторпиперидин-3-ил)метокси)уксусной кислоты (16-6).

При комнатной температуре соединения (16-5) (60 мг, 0,16 ммоль) добавляли к дихлорметану (3 мл), реакцию охлаждали до 0°C и добавляли трифторуксусную кислоту (1,0 мл). После добавления реакцию проводили при комнатной температуре в течение 1 ч, неполную реакцию исходного соединения контролировали LC-MS, затем реакцию продолжали в течение ночи до полной реакции исходного соединения. Растворитель отгоняли при пониженном давлении, получая трифторацетатную соль заявленного в заголовке соединения 60 мг. ESI-MS (m/z): 210,1 [M+H]⁺.

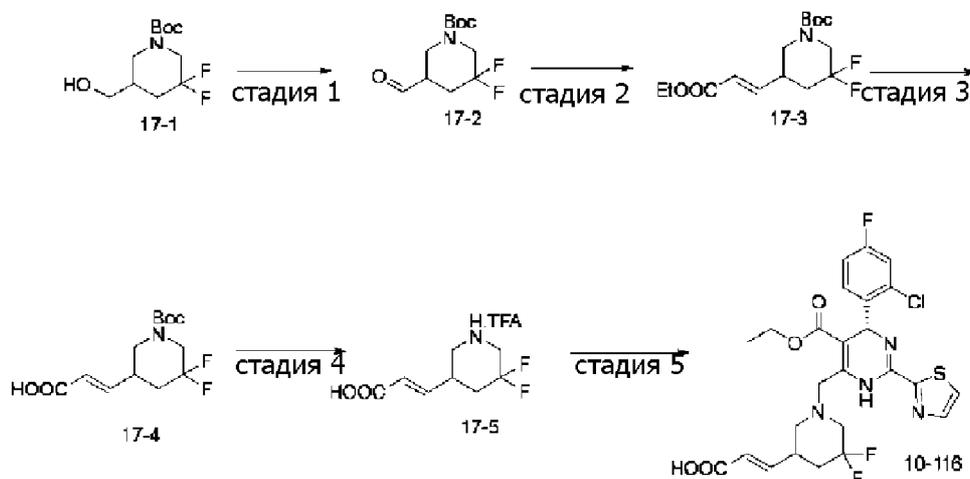
Стадия 6: получение 2-((1-(((R)-6-(2-хлор-4-фторфенил)-5-(этоксикарбонил)-2-(триазол-2-ил)-3,6-дигидропиримидин-4-ил)метил)-5,5-дифторпиперидин-3-ил)метокси)уксусной кислоты (10-136).

Заявленное в заголовке соединения 19 мг получали способом, аналогичным способу, описанному на стадии 3 примера 1 (гидрохлорид 3,3-дифторпиперидин-4-ола заменяли соединением (16-5)).

Структуру характеризовали следующим способом:

¹H ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ 7,93 (дд, J=9,67, 3,06 Гц, 1H), 7,54 (с, 1H), 7,46-7,31 (м, 1H), 7,13 (ддд, J=8,55, 2,63, 1,35 Гц, 1H), 6,96 (д, J=8,50 Гц, 1H), 6,24 (д, J=3,93 Гц, 1H), 4,28 (д, J=16,74 Гц, 1H), 4,14 (д, J=16,81 Гц, 1H), 3,94 (т, J=16,64 Гц, 2H), 3,80 (т, J=8,68 Гц, 1H), 3,65 (т, J=8,64 Гц, 1H), 3,56-3,43 (м, 1H), 2,94 (д, J=53,06 Гц, 4H), 2,65 (с, 1H), 2,45 (с, 1H), 2,13 (дд, J=26,84, 13,90 Гц, 1H), 1,92 (д, J=9,36 Гц, 1H), 1,13 (тд, J=7,10, 3,76 Гц, 3H). ESI-MS (m/z): 587,2 [M+H]⁺.

Пример 17. Получение (E)-3-(1-(((R)-6-(2-хлор-4-фторфенил)-5-(этоксикарбонил)-2-(триазол-2-ил)-3,6-дигидропиримидин-4-ил)метил)-5,5-дифторпиперидин-3-ил)акриловой кислоты (10-116)



Стадия 1: получение трет-бутил 3,3-дифтор-5-формилпиперидин-1-карбоксилата (17-2)

При комнатной температуре трет-бутил 3,3-дифтор-5-(гидроксиметил)пиперидин-1-карбоксилат (17-1) (50 мг, 0,2 ммоль) растворяли в дихлорметане (2,0 мл), реакцию охлаждали до 0°C после полного растворения, добавляли реагент Десс-Мартина (102 мг, 0,24 ммоль) при перемешивании и реакцию проводили при комнатной температуре в течение 3 ч после добавления. Большое количество белого осадка выпадало в реакционный раствор, который фильтровали и фильтрат упаривали при пониженном давлении и получали заявленное в заголовке соединения 50 мг.

Стадия 2: получение (E)-трет-бутил 5-(3-этокси-3-оксипроп-1-ен-1-ил)-3,3-дифторпиперидин-1-карбоксилата (17-3).

При комнатной температуре соединения (17-2) (50 мг, 0,2 ммоль) растворяли в дихлорметане (2,0 мл), добавляли (карбэтоксиметил)трифенилфосфоран (70 мг, 0,2 ммоль) при перемешивании после полного растворения и реакцию проводили при комнатной температуре в течение ночи после добавления. Реакционный раствор очищали, получая заявленное в заголовке соединения 30 мг. ESI-MS (m/z): 264,1 [M+H]⁺.

Стадия 3 : получение (E)-3-[1-(трет-бутоксикарбонил)-5,5-дифторпиперидин-3-ил)акриловой кисло-

ты (17-4).

При комнатной температуре соединение (17-3) (30 мг, 0,1 ммоль) растворяли в тетрагидрофуране (4,0 мл) и воде (2 мл), добавляли гидроксид лития (19 мг, 0,47 ммоль) при перемешивании после полного растворения и реакцию проводили при комнатной температуре в течение 4 ч после добавления. Реакционный раствор разбавляли водой, доводили до pH 3-4 1N хлористоводородной кислотой и экстрагировали этилацетатом. Органическую фазу объединяли, промывали водой и сушили, получая заявленное в заголовке соединение 30 мг.

Стадия 4: получение трифторацетатной соли (E)-3-(5,5-дифторпиперидин-3-ил)акриловой кислоты (17-5).

При комнатной температуре соединение (17-4) (30 мг, 0,1 ммоль) добавляли к дихлорметану (1,5 мл), охлаждали до 0°C, с последующим добавлением трифторуксусной кислоты (0,5 мл). После добавления, реакцию проводили при комнатной температуре в течение 1,5 ч. Растворитель в реакционном растворе отгоняли при пониженном давлении, получая заявленное в заголовке соединение 30 мг. ESI-MS (m/z): 192,1 [M+H]⁺.

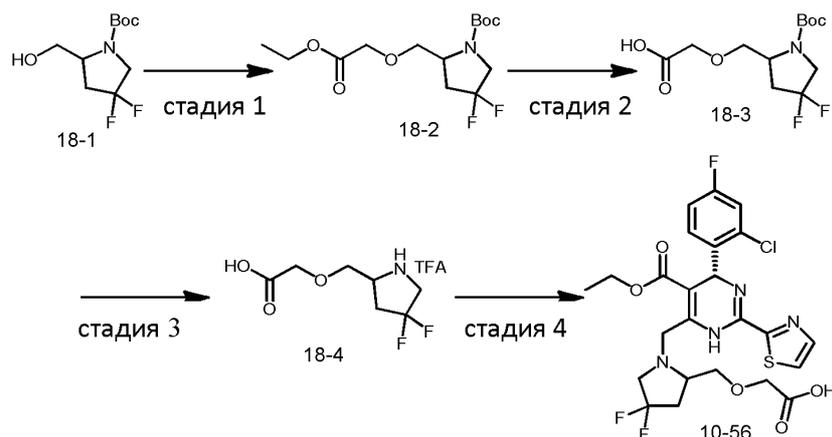
Стадия 5: получение (E)-3-(1-(((R)-6-(2-хлор-4-фторфенил)-5-(этоксикарбонил)-2-(триазол-2-ил)-3,6-дигидропиримидин-4-ил)метил)-5,5-дифторпиперидин-3-ил)акриловой кислоты (10-116).

Заявленное в заголовке соединение 10 мг получали способом, аналогичным способу, описанному на стадии 3 примера 1 (гидрохлорид 3,3-дифторпиперидин-4-ола заменяли соединением (17-5)).

Структуру характеризовали следующим способом:

¹H ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ 7,90 (с, 1H), 7,36 (с, 1H), 7,14 (дт, J=8,53, 2,80 Гц, 1H), 7,02-6,86 (м, 2H), 6,25 (д, J=8,50 Гц, 1H), 5,90 (дд, J=23,97, 15,72 Гц, 1H), 4,20 (д, J=15,93 Гц, 1H), 4,04 (кв, J=5,70, 5,05 Гц, 3H), 3,11 (д, J=62,19 Гц, 3H), 2,71 (с, 2H), 2,36 (с, 2H), 1,14 (тд, J=7,06, 5,31 Гц, 3H). ESI-MS (m/z): 569,2 [M+H]⁺.

Пример 18. Получение 2-((1-(((R)-6-(2-хлор-4-фторфенил)-5-(этоксикарбонил)-2-(триазол-2-ил)-3,6-дигидропиримидин-4-ил)метил)-4,4-дифторпирролидин-2-ил)метокси)уксусной кислоты (10-56)



Стадия 1: получение трет-бутил 2-((2-этокси-2-оксоэтокси)метил)-4,4-дифторпирролидин-1-карбоксилата (18-2).

Трет-Бутил 4,4-дифтор-2-(гидроксиметил)пирролидин-1-карбоксилат (18-1) (80 мг, 0,34 ммоль) растворяли в тетрагидрофуране (5 мл), добавляли гидрид натрия (27 мг 60% в масле, 0,68 ммоль) при охлаждении в ледяной бане и реакцию нагревали до комнатной температуры и выдерживали в течение 2 ч. При охлаждении в ледяной бане, добавляли этилбромацетат (85 мг, 0,51 ммоль) и реакцию проводили при комнатной температуре в течение 4 ч. К реакции добавляли насыщенный хлорид аммония (3 мл), разбавляли дихлорметаном (15 мл), промывали насыщенным соляным раствором и сушили над безводным сульфатом натрия. Заявленное в заголовке соединение 100 мг получали после обработки и применяли непосредственно в следующей реакции без очистки.

Стадия 2: получение 2-((1-(трет-бутоксикарбонил)-4,4-дифторпирролидин-2-ил)метокси)уксусной кислоты (18-3).

Соединение (18-2) (100 мг, 0,31 ммоль) растворяли в смешанном растворе тетрагидрофурана и воды (об.:об.=1:1, 3 мл), добавляли моногидрат гидроксида лития (45 мг, 1,86 ммоль) и реакцию проводили при комнатной температуре в течение 3,5 ч. Реакцию регулировали до pH 5 водным раствором лимонной кислоты, добавляли дихлорметан (15 мл), промывали насыщенным соляным раствором и сушили над безводным сульфатом натрия и заявленное в заголовке соединение 80 мг получали после обработки.

Стадия 3: получение 2-((4,4-дифторпирролидин-2-ил)метокси)уксусной кислоты (18-4).

При комнатной температуре соединение (18-3) (80 мг, 0,27 ммоль) растворяли в дихлорметане (1 мл), добавляли трифторуксусную кислоту (0,3 мл) и реакцию проводили при комнатной температуре в течение 1,5 ч. Растворитель отгоняли при пониженном давлении, получая трифторацетатную соль заяв-

ленного в заголовке соединения 60 мг.

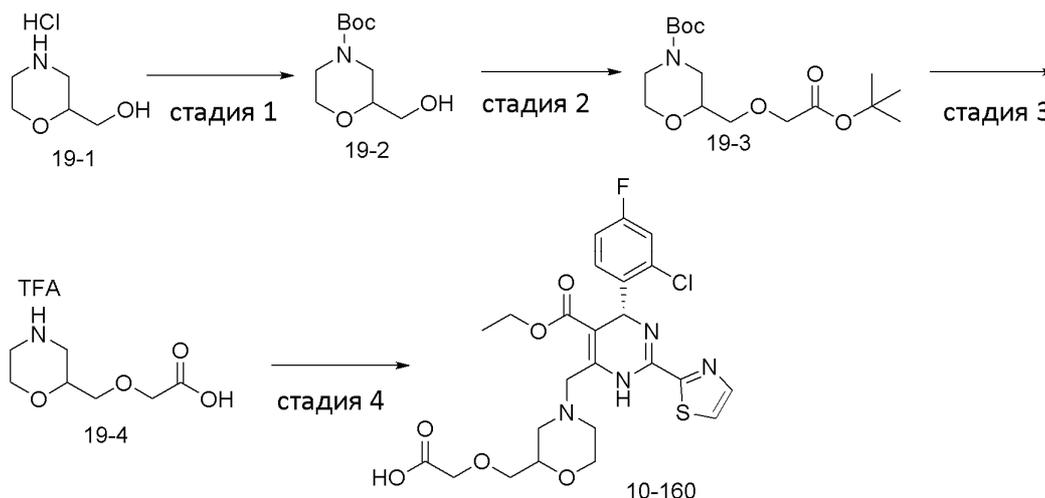
Стадия 4: получение 2-((1-(((R)-6-(2-хлор-4-фторфенил)-5-(этоксикарбонил)-2-(триазол-2-ил)-3,6-дигидропиримидин-4-ил)метил)-4,4-дифторпирролидин-2-ил)метокси)уксусной кислоты (10-56).

Заявленное в заголовке соединение 25 мг получали способом, аналогичным способу, описанному на стадии 3 примера 1 (гидрохлорид 3,3-дифторпиперидин-4-ола заменяли соединением (18-4)).

Структуру характеризовали следующим способом:

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 12,52 (с, 1H), 9,54 (с, 1H), 7,96 (дд, $J=27,4, 3,2$ Гц, 2H), 7,51-7,27 (м, 2H), 7,19 (тд, $J=8,5, 2,8$ Гц, 1H), 6,01 (д, $J=12,5$ Гц, 1H), 4,21 (д, $J=2,7$ Гц, 1H), 4,01-3,84 (м, 3H), 3,66-3,44 (м, 3H), 3,34-3,26 (м, 4H), 3,14-2,96 (м, 1H), 2,33-2,07 (м, 1H), 1,08-0,98 (м, 3H). ESI-MS (m/z): 573,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Пример 19. Получение 2-((4-(((R)-6-(2-хлор-4-фторфенил)-5-(этоксикарбонил)-2-(триазол-2-ил)-3,6-дигидропиримидин-4-ил)метил)мофолин-2-ил)метокси)уксусной кислоты (10-160)



Стадия 1: получение трет-бутил 2-(гидроксиметил)морфолин-4-карбоксилата (19-2).

Гидрохлорид мофолин-2-илметанола (19-1) (500 мг, 3,3 ммоль), триэтиламин (0,82 г, 8 ммоль) и дихлорметан (10 мл) добавляли в 50 мл трехгорлую колбу, перемешивали при защите азотом, охлаждали до 0°C и затем добавляли ди-трет-бутил дикарбонат (1,1 г, 5 ммоль). После добавления реакцию проводили при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционный раствор медленно выливали в воду и экстрагировали дихлорметаном (30 мл×3). Органическую фазу собирали, промывали насыщенным соляным раствором и сушили над безводным сульфатом натрия. Безводный сульфат натрия удаляли фильтрованием, растворитель отгоняли при пониженном давлении и заявленное в заголовке соединение 0,6 г получали после очистки. ESI-MS (m/z): 162,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

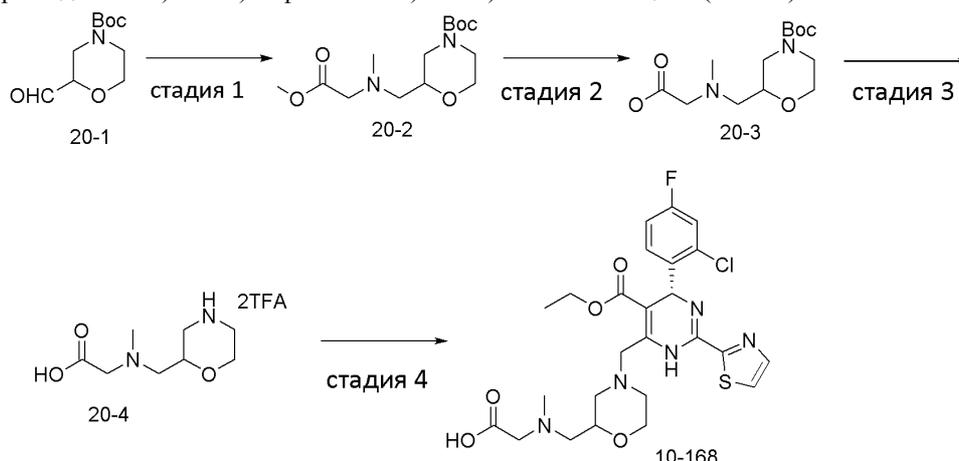
Стадия 2-стадия 4.

Заявленное в заголовке соединение 70 мг получали из соединения (19-2), применяя способы, аналогичные способам на стадии 1-стадии 3 примера 15.

Структуру характеризовали следующим способом:

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 12,60 (с, 1H), 9,66 (д, $J=2,7$ Гц, 1H), 8,07-7,90 (м, 2H), 7,49-7,35 (м, 2H), 7,18 (тд, $J=8,5, 2,5$ Гц, 1H), 6,05 (с, 1H), 4,04 (с, 1H), 4,01-3,80 (м, 6H), 3,68 (с, 1H), 3,63-3,43 (м, 3H), 2,78 (ддд, $J=56,5, 46,6, 11,4$ Гц, 2H), 2,41-2,25 (м, 1H), 2,15 (дт, $J=31,9, 10,6$ Гц, 1H), 1,05 (т, $J=7,0$ Гц, 3H). ESI-MS (m/z): 553,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Пример 20. Получение N-((4-(((R)-6-(2-хлор-4-фторфенил)-5-(этоксикарбонил)-2-(триазол-2-ил)-3,6-дигидропиримидин-4-ил)метил)мофолин-2-ил)метил)-N-метилглицина (10-168)



Стадия 1: получение трет-бутил 2-(((2-метокси-2-оксоэтил)(метил)амино)метил)морфолин-4-карбоксилата (20-2).

трет-Бутил 2-формилморфолин-4-карбоксилат (20-1) (117 мг, 0,5 ммоль) и гидрохлорид метилового эфира саркозина (84 мг, 0,6 ммоль) растворяли в метаноле (3 мл), добавляли ледяную уксусную кислоту (0,2 мл) при охлаждении в ледяной бане, затем добавляли порциями цианоборгидрид натрия (76 мг, 1,2 ммоль) и реакцию нагревали до комнатной температуры и выдерживали в течение 2 ч. К реакции добавляли этилацетат (20 мл), перемешивали в течение 10 мин, фильтровали, удаляя нерастворимые вещества и фильтрат концентрировали, получая заявленное в заголовке соединение 98 мг. ESI-MS (m/z): 303,2 [M+H]⁺.

Стадия 2: получение N-((4-(трет-бутоксикарбонил)мофолин-2-ил)метил)-N-метилглицина (20-3).

Соединение (20-2) (98 мг, 0,3 ммоль) растворяли в смешанном растворителе метанола и воды (об.:об.=1:1, 4 мл), добавляли моногидрат гидроксида лития (84 мг, 2 ммоль) и реакцию перемешивали в течение ночи. pH регулировали до 2 1N раствором хлористоводородной кислоты и растворитель отгоняли при пониженном давлении, получая заявленное в заголовке соединение 80 мг, которое применяли непосредственно в следующей реакции без очистки. ESI-MS (m/z): 289,2 [M+H]⁺.

Стадия 3: получение N-метил-N-((мофолин-2-ил)метил)глицина (20-4).

При комнатной температуре соединение (20-3) (80 мг, 0,28 ммоль) растворяли в дихлорметане (3 мл), добавляли трифторуксусную кислоту (1 мл) и реакцию проводили при комнатной температуре в течение 3 ч. Растворитель отгоняли при пониженном давлении, получая трифторацетатную соль заявленного в заголовке соединения 94 мг. ESI-MS (m/z): 189,2 [M+H]⁺.

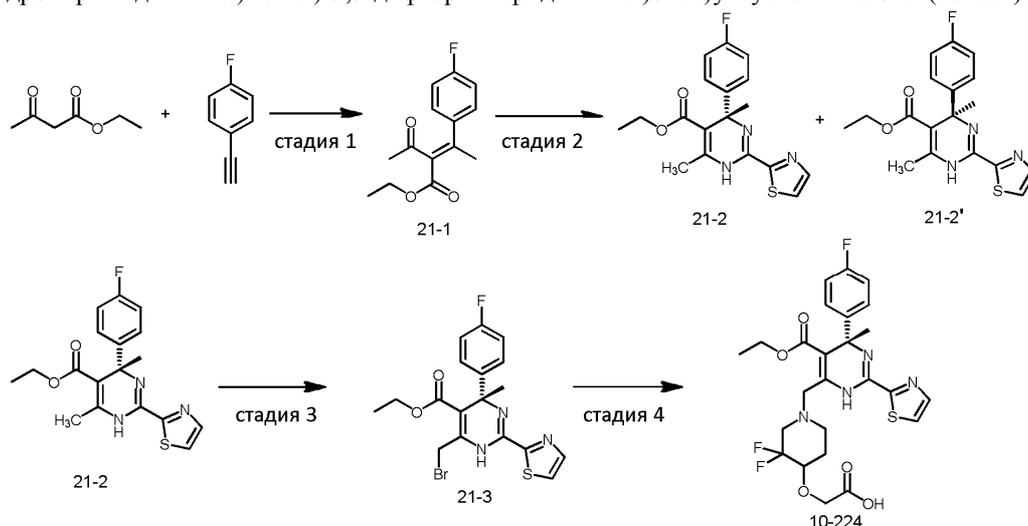
Стадия 4: получение N-((4-(((R)-6-(2-хлор-4-фторфенил)-5-этоксикарбонил)-2-(триазол-2-ил)-3,6-дигидропиримидин-4-ил)метил)мофолин-2-ил)метил)-N-метилглицина (10-168).

Заявленное в заголовке соединение 9 мг получали способом, аналогичным способу, описанному на стадии 3 примера 1 (гидрохлорид 3,3-дифторпиперидин-4-ола заменяли соединением (20-4)).

Структуру характеризовали следующим способом:

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 9,66 (д, 1H), 8,03-8,01 (м, 1H), 7,95-7,94 (м, 1H), 7,44-7,39 (м, 2H), 7,22-7,17 (м, 1H), 6,05 (д, 1H), 3,99-3,82 (м, 5H), 3,70-3,68 (м, 1H), 3,63-3,54 (м, 1H), 3,25 (д, 1H), 3,16 (д, 1H), 2,92-2,56 (м, 4H), 2,34 (д, 3H), 2,35-2,24 (м, 1H), 2,14-1,98 (м, 1H), 1,04 (т, J=7,1 Гц, 3H). ESI-MS (m/z): 566,1 [M+H]⁺.

Пример 21. Получение 2-((1-(((S)-5-(этоксикарбонил)-6-(4-фторфенил)-6-метил-2-(триазол-2-ил)-3,6-дигидропиримидин-4-ил)метил)-3,3-дифторпиперидин-4-ил)окси)уксусной кислоты (10-224)



Стадия 1: получение (E) -этил 2-ацетил-3-(4-фторфенил)бут-2-еноата.

При комнатной температуре этилацетоацетат (3,12 г, 24,0 ммоль), 4-фторфенилэтинил (2,88 г, 24,0 ммоль) и трифлат индия (216 мг, 0,384 ммоль) добавляли к о-ксилолу (15 мл), реакцию нагревали до 120°C и выдерживали при данной температуре в течение 2 ч, LC-MS показала завершение реакции. Реакцию охлаждали до комнатной температуры и растворитель отгоняли при пониженном давлении, получая неочищенный продукт 6,0 г. ESI-MS (m/z): 251,1 [M+H]⁺.

Стадия 2: получение этил 4-(4-фторфенил)-4,6-диметил-2-(триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилата.

Гидрохлорид триазол-2-карбоксимидамида (3,03 г, 18,5 ммоль), бикарбонат натрия (3,15 г, 37,5 ммоль) добавляли к N-метилпирролидону (40 мл), реакцию нагревали до 120°C, порциями добавляли соединение (21-1) (3,12 г, 12,5 ммоль) и выдерживали в течение 1 ч, LC-MS показала завершение реакции. Реакцию охлаждали до комнатной температуры, добавляли этилацетат (60 мл), промывали водой и насыщенным соляным раствором и сушили над безводным сульфатом натрия. Безводный сульфат натрия удаляли фильтрованием и растворитель отгоняли при пониженном давлении, получая неочищенный продукт. Неочищенный продукт очищали колоночной флэш-хроматографией на силикагеле (петролейный эфир:этилацетат=10:1), получая заявленное в заголовке соединение в виде желтого твердого остатка (2,11 г). Продукт выше 350 мг разделяли хиральной хроматографией, применяя следующие условия разделения: колонка для разделения: CHIRALPAK 1C 0,46 см В.Д.×15 см длина, подвижная фаза: гексан/IPA/DEA=90/10/0, 1 (об./об.) скорость потока: 1,0 мл/мин, длина волны: УФ 254 нм, температура: 35°C.

Следующие продукты получали разделением: (S)-этил 4-(4-фторфенил)-4,6-диметил-2-(триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилат (21-2) 172 мг, э.и.=99,3%, R_t=3,555 мин. ESI-MS (m/z): 360, 1 [M+H]⁺; и (R)-этил 4-(4-фторфенил)-4,6-диметил-2-(триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилат (21-2') 171 мг, э.и.=98,1%, R_t=4,873 мин. ESI-MS (m/z): 360,1 [M+H]⁺.

Стадия 3-стадия 4: 2-((1-(((S)-5-(этоксикарбонил)-6-(4-фторфенил)-6-метил-2-(триазол-2-ил)-3,6-дигидропиримидин-4-ил)метил)-3,3-дифторпиперидин-4-ил)окси)уксусная кислота (10-224).

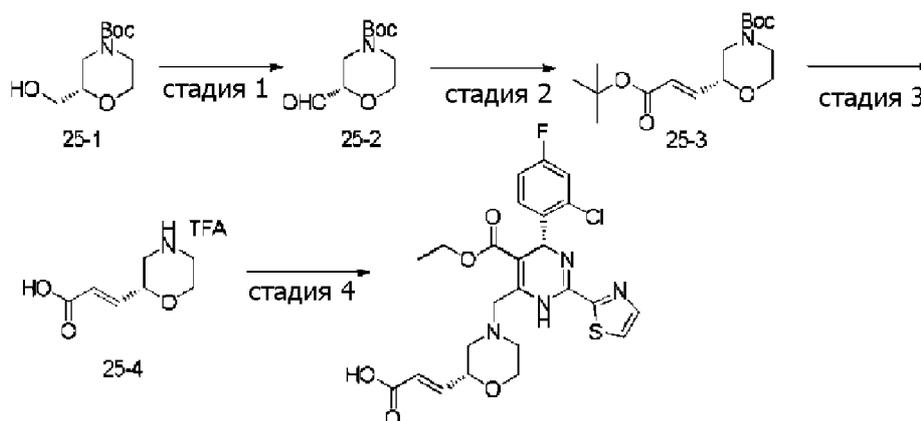
Применяя способы, аналогичные способам, описанным на стадии 2 и стадии 3 примера 1, заявленное в заголовке соединение 15 мг получали реакцией соединения (21-2), после реакции бромирования, с 2-((3,3-дифторпиперидин-4-ил)окси)уксусной кислотой (соединение 5-5 в примере 5).

Структуру характеризовали следующим способом:

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 9,35 (с, 1H), 8,01 (д, J=3,2 Гц, 1H), 7,92 (д, J=3,2 Гц, 1H), 7,41 (дд, J=8,8, 5,5 Гц, 2H), 7,11 (т, J=8,8 Гц, 2H), 4,18-4,06 (м, 2H), 3,89-3,53 (м, 6H), 3,04-2,60 (м, 4H), 2,44 (с, 1H), 1,97 (с, 1H), 1,80 (с, 3H), 0,92 (тд, J=7,1, 1,4 Гц, 3H). ESI-MS (m/z): 553,2 [M+H]⁺.

Пример 22. Получение 2-((1-(((R)-5-(этоксикарбонил)-6-(4-фторфенил)-6-метил-2-(триазол-2-ил)-3,6-дигидропиримидин-4-ил)метил)-3,3-дифторпиперидин-4-ил)окси)уксусной кислоты (10-225)

ил)-3,6-дигидропиримидин-4-ил)метил)мофолин-2-ил)акриловой кислоты (10-226)



Стадия 1: получение (S)-трет-бутил 2-формилморфолин-4-карбоксилата (25-2).

При охлаждении в ледяной бане, (S)-трет-бутил 2-(гидроксиметил)морфолин-4-карбоксилат (25-1) (1,0 г, 4,6 ммоль) растворяли в дихлорметане (10 мл), добавляли порциями реагент Десс-Мартина (2,9 г, 6,9 ммоль) и реакцию перемешивали при 15°C в течение 4 ч. Большое количество осадка выпадало в реакционный раствор, который фильтровали, остаток на фильтре выбрасывали, к фильтрату добавляли насыщенный раствор тиосульфата натрия, перемешивали в течение 30 мин и слои позволяли разделиться и отделяли друг от друга. Органический слой промывали насыщенным раствором бикарбоната натрия и соляным раствором, сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении, получая неочищенный продукт 980 мг. Неочищенный продукт применяли в следующей реакции без очистки.

Стадия 2: получение (R,E)-трет-бутил 2-(3-(трет-бутокс)-3-оксопроп-1-ен-1-ил)морфолин-4-карбоксилата (25-3).

При комнатной температуре NaH (60%, 182 мг, 4,55 ммоль) диспергировали в сухом тетрагидрофуране (7 мл), перемешивали в течение 5 мин, затем медленно добавляли порциями раствор трет-бутил диэтилфосфоацетата (1,21 г, 4,78 ммоль) в сухом тетрагидрофуране (3 мл) и реакцию перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Затем, реакционный раствор добавляли к раствору соединения (25-2) (980 мг, 4,55 ммоль) в сухом тетрагидрофуране (5 мл) и реакцию перемешивали в течение ночи при комнатной температуре после добавления порциями. Растворитель отгоняли при пониженном давлении и остаток очищали колоночной хроматографией, получая бесцветное масло (520 мг), которое осаждалось при комнатной температуре, давая твердый остаток, детекция с помощью ВЭЖХ показала Z/E<1/35, величина э.и. (энантиомерный избыток) составляла 94%. ESI-MS (m/z): 214,1 [M+100]⁺.

Стадия 3: получение трифторацетатной соли (R,E)-3-(мофолин-2-ил)акриловой кислоты (25-4).

При комнатной температуре соединение (25-3) (520 мг, 1,66 ммоль) растворяли в дихлорметане (10 мл), добавляли трифторуксусную кислоту (5 мл) и реакцию проводили при комнатной температуре в течение 3 ч. Нерастворимые вещества отфильтровывали и фильтрат концентрировали, получая неочищенный продукт заявленного в заголовке соединения 423 мг, который применяли непосредственно в следующей реакции без очистки. ESI-MS (m/z): 158, 1 [M+H]⁺.

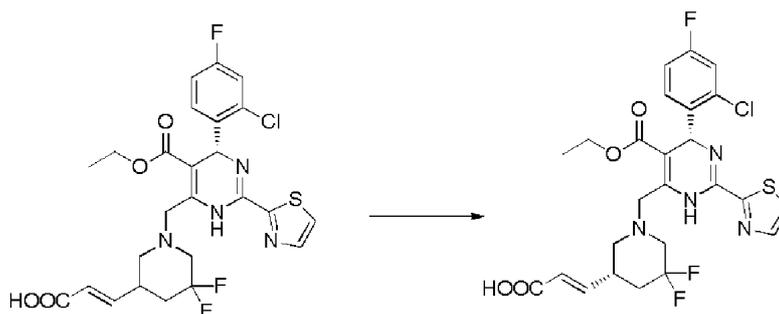
Стадия 4: получение (E)-3-((R)-4-(((R)-6-(2-хлор-4-фторфенил)-5-(этоксикарбонил)-2-(триазол-2-ил)-3,6-дигидропиримидин-4-ил)метил)мофолин-2-ил)акриловой кислоты (10-226).

При комнатной температуре (R)-этил 6-(бромметил)-4-(2-хлор-4-фторфенил)-2-(триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилат (400 мг, 0,87 ммоль), соединение (25-4) (423 мг, 1,66 ммоль) и N,N-диизопропилэтиламин (451 мг, 3,49 ммоль) добавляли к дихлорметану (10 мл) и реакцию проводили при комнатной температуре в течение ночи. Реакционный раствор концентрировали, получая неочищенный продукт, который очищали препаративной жидкостной хроматографией, получая заявленное в заголовке соединение 200 мг. Z/E<1/35, величина э.и. составляет 95,5%.

Структуру характеризовали следующим способом:

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 12,50 (с, 1H), 9,63 (с, 1H), 8,02 (д, J=3,12 Гц, 1H), 7,95 (д, J=3,16 Гц, 1H), 7,44-7,40 (м, 2H), 7,18 (тд, J=8,48, 2,64 Гц, 1H), 6,73 (дд, J=15,80, 4,08 Гц, 1H), 6,05 (с, 1H), 5,93 (дд, J=15,80, 1,76 Гц, 1H), 4,24-4,21 (м, 1H), 3,98-3,92(м, 5H), 3,68 (тд, J=10,92, 1,72 Гц, 1H), 2,95 (д, J=11,12 Гц, 1H), 2,83 (д, J=10,92 Гц, 1H), 2,40(тд, J=11,16, 2,68 Гц, 1H), 2,07 (т, J=10,64 Гц, 1H), 1,04 (т, J=7,08 Гц, 3H). ESI-MS (m/z): 535,2 [M+H]⁺.

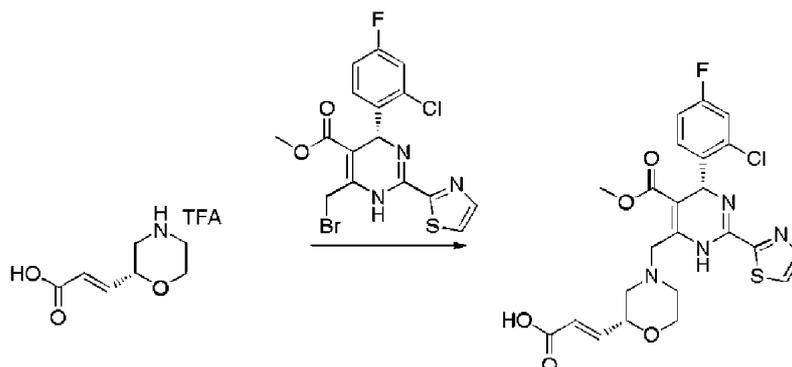
Пример 26. Получение (E)-3-((R)-1-(((R)-6-(2-хлор-4-фторфенил)-5-(этоксикарбонил)-2-(триазол-2-ил)-3,6-дигидропиримидин-4-ил)метил)-5,5-дифторпиперидин-3-ил)акриловой кислоты (10-230)



Соединение примера 17 (608 мг) разделяли хиральной хроматографией, применяя следующие условия разделения: колонка для разделения: CHIRALPAK IG 0,46 см В.Д.×15 см длина, подвижная фаза: гексан/ЕtОН/НОAc=75/25/0,1 (об./об./об.), скорость потока: 1,0 мл/мин, длина волны: УФ 254 нм, температура: 35°C. Заявленное в заголовке соединение 277 мг получали разделением, э.и.%=99,5%, $R_t=15,656$ мин и данные структурных характеристик были следующими:

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 12,32 (brs, 1H), 9,55 (с, 1H), 8,00 (д, $J=3,12$ Гц, 1H), 7,94 (д, $J=3,12$ Гц, 1H), 7,45-7,41 (м, 2H), 7,19 (тд, $J=8,48$ Гц, 2,68 Гц, 1H), 6,76 (дд, $J=15,85$ Гц, 6,64 Гц, 1H), 6,06 (с, 1H), 5,82 (дд, $J=15,85$ Гц, 1,16 Гц, 1H), 4,08 (д, $J=16,53$ Гц, 1H), 4,01 (д, $J=16,53$ Гц, 1H), 3,98-3,92 (м, 2H), 3,26-3,13 (м, 1H), 2,90 (уш д, $J=11,08$ Гц, 1H), 2,79-2,69 (м, 2H), 2,29 (т, $J=10,80$ Гц, 2H), 1,94-1,77 (м, 1H), 1,04 (т, $J=7,12$ Гц, 3H). ESI-MS (m/z): 569,2 [$M+H$] $^+$.

Пример 27. Получение (E)-3-((R)-4-(((R)-6-(2-хлор-4-фторфенил)-5-(метоксикарбонил)-2-(триазол-2-ил)-3,6-дигидропиримидин-4-ил)метил)мофолин-2-ил)акриловой кислоты (10-227)

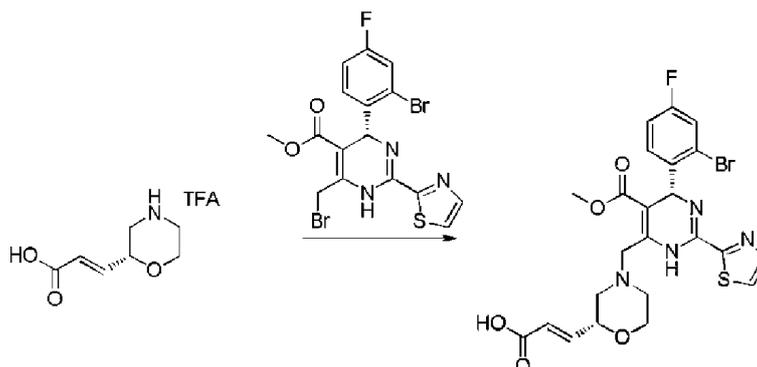


При комнатной температуре (R)-метил 6-(бромметил)-4-(2-хлор-4-фторфенил)-2-(триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилат (400 мг, 0,90 ммоль) и соединение (25-4) (488 мг, 1,80 ммоль) в примере 25 растворяли в дихлорметане (10 мл), добавляли N,N-диизопропилэтиламин (696 мг, 5,40 ммоль) и реакцию проводили при комнатной температуре в течение ночи. Реакционный раствор концентрировали, получая неочищенный продукт, который очищали препаративной жидкостной хроматографией, получая заявленное в заголовке соединение 205 мг.

Структуру характеризовали следующим способом:

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 12,44 (с, 1H), 9,68 (с, 1H), 7,98 (дд, $J=27,6, 3,1$ Гц, 2H), 7,48-7,36 (м, 2H), 7,18 (тд, $J=8,5, 2,6$ Гц, 1H), 6,73 (дд, $J=15,8, 4,1$ Гц, 1H), 6,04 (с, 1H), 5,93 (дд, $J=15,8, 1,6$ Гц, 1H), 4,23 (д, $J=9,3$ Гц, 1H), 4,01-3,90 (м, 3H), 3,68 (т, $J=10,2$ Гц, 1H), 3,52 (с, 3H), 2,94 (д, $J=11,0$ Гц, 1H), 2,82 (д, $J=11,1$ Гц, 1H), 2,41 (дд, $J=11,0, 8,6$ Гц, 1H), 2,08 (т, $J=10,7$ Гц, 1H). ESI-MS (m/z): 521,1 [$M+H$] $^+$.

Пример 28. Получение (E)-3-((R)-4-(((R)-6-(2-бром-4-фторфенил)-5-(метоксикарбонил)-2-(триазол-2-ил)-3,6-дигидропиримидин-4-ил)метил)мофолин-2-ил)акриловой кислоты (10-229)

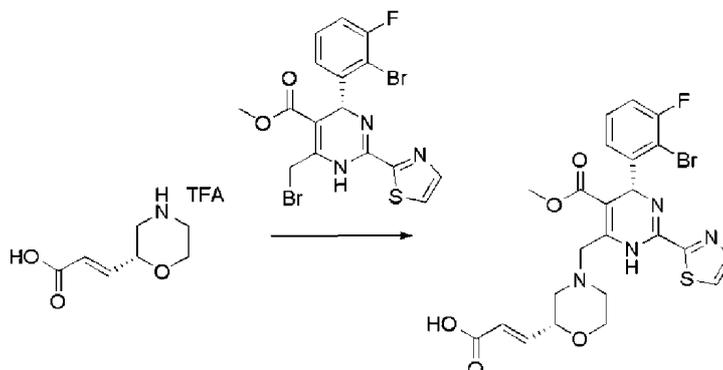


При комнатной температуре (R)-метил 6-(бромметил)-4-(2-бром-4-фторфенил)-2-(триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилат (400 мг, 0,82 ммоль) и соединение (25-4) (443 мг, 1,63 ммоль) в примере 25 растворяли в дихлорметане (10 мл), затем добавляли N,N-диизопропилэтиламин (635 мг, 4,92 ммоль) и реакцию проводили при комнатной температуре в течение ночи. Реакционный раствор концентрировали, получая неочищенный продукт, который очищали препаративной жидкостной хроматографией, получая заявленное в заголовке соединение 200 мг.

Структуру характеризовали следующим способом:

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 12,49 (с, 1H), 9,68 (с, 1H), 8,01 (д, J=3,1 Гц, 1H), 7,95 (д, J=3,1 Гц, 1H), 7,57 (дд, J=8,6, 2,6 Гц, 1H), 7,38 (дд, J=8,7, 6,2 Гц, 1H), 7,22 (тд, J=8,5, 2,6 Гц, 1H), 6,73 (дд, J=15,8, 4,1 Гц, 1H), 6,02 (с, 1H), 5,93 (дд, J=15,8, 1,7 Гц, 1H), 4,27-4,19 (м, 1H), 4,01-3,89 (м, 3H), 3,68 (т, J=10,2 Гц, 1H), 3,52 (с, 3H), 2,94 (д, J=11,0 Гц, 1H), 2,83 (д, J=11,3 Гц, 1H), 2,41 (дд, J=11,1, 8,4 Гц, 1H), 2,08 (т, J=10,6 Гц, 1H). ESI-MS (m/z): 567,1 [M+H] $^+$.

Пример 29. Получение (E)-3-((R)-4-(((R)-6-(2-бром-3-фторфенил)-5-(метоксикарбонил)-2-(триазол-2-ил)-3,6-дигидропиримидин-4-ил)метил)мофолин-2-ил)акриловой кислоты (10-236)

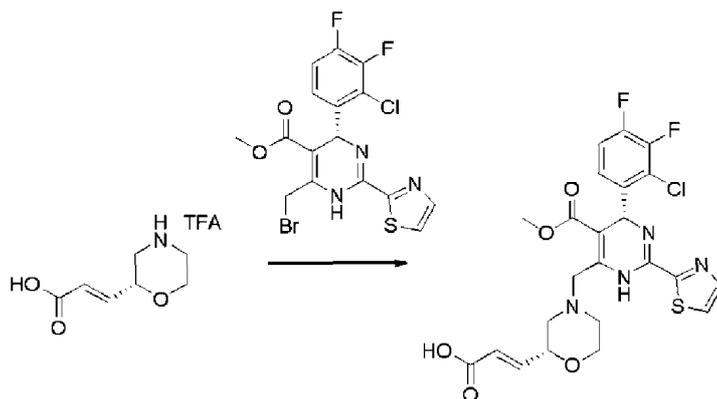


Заявленное в заголовке соединение 25 мг получали, применяя способы, аналогичные способам, описанным в примере 27 и заменяя (R)-метил 6-(бромметил)-4-(2-хлор-4-фторфенил)-2-(триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилат на (R)-метил 4-(2-бром-3-фторфенил)-6-(бромметил)-2-(триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилат.

Структуру характеризовали следующим способом:

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 9,70 (с, 1H), 8,02 (д, J=3,2 Гц, 1H), 7,95 (д, J=3,2 Гц, 1H), 7,39 (м, J=7,9, 5,5 Гц, 1H), 7,31-7,17 (м, 2H), 6,74 (дд, J=15,8, 4,1 Гц, 1H), 6,09 (с, 1H), 5,93 (д, J=15,9 Гц, 1H), 4,27-4,19 (м, 1H), 4,02 (м, J=16,8, 9,4 Гц, 1H), 3,95 (д, J=7,7 Гц, 2H), 3,68 (тд, J=11,4, 2,5 Гц, 1H), 3,51 (с, 3H), 2,99-2,92 (м, 1H), 2,83 (д, J=11,4 Гц, 1H), 2,42 (тд, J=11,4, 3,3 Гц, 1H), 2,09 (т, J=10,6 Гц, 1H), 1,41 (с, 1H). ESI-MS (m/z): 567,0 [M+H] $^+$.

Пример 30. Получение (E)-3-((R)-4-(((R)-6-(2-хлор-3,4-дифторфенил)-5-(метоксикарбонил)-2-(триазол-2-ил)-3,6-дигидропиримидин-4-ил)метил)мофолин-2-ил)акриловой кислоты (10-237)

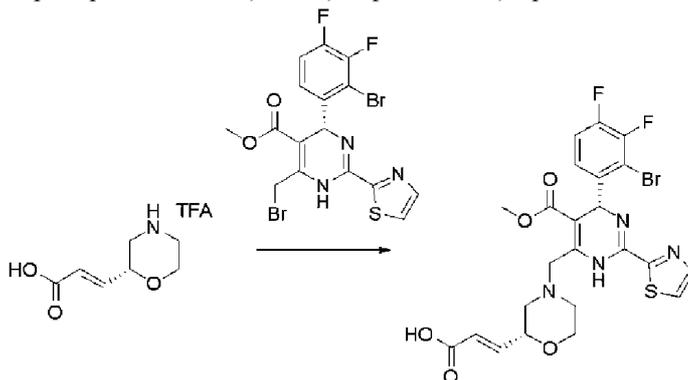


Заявленное в заголовке соединение 25 мг получали, применяя способы, аналогичные способам, описанным в примере 27 и заменяя (R)-метил 6-(бромметил)-4-(2-хлор-4-фторфенил)-2-(триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилат на (R)-метил 6-(бромметил)-4-(2-хлор-3,4-дифторфенил)-2-(триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилат.

Структуру характеризовали следующим способом:

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,79 (д, $J=3,1$ Гц, 1H), 7,45 (д, $J=3,1$ Гц, 1H), 7,12-6,94 (м, 2H), 6,78 (дд, $J=15,7, 4,0$ Гц, 1H), 6,11 (с, 1H), 6,06 (д, $J=15,6$ Гц, 1H), 4,53 (с, 1H), 4,31 (д, $J=15,8$ Гц, 1H), 4,13 (д, $J=15,3$ Гц, 1H), 4,01 (с, 2H), 3,54 (с, 3H), 3,27 (д, $J=70,2$ Гц, 2H), 2,76 (с, 1H). ESI-MS (m/z): 539,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Пример 31. Получение (E)-3-((R)-4-(((R)-6-(2-бром-3,4-дифторфенил)-5-(метоксикарбонил)-2-(триазол-2-ил)-3,6-дигидропиримидин-4-ил)метил)мофолин-2-ил)акриловой кислоты (10-238)

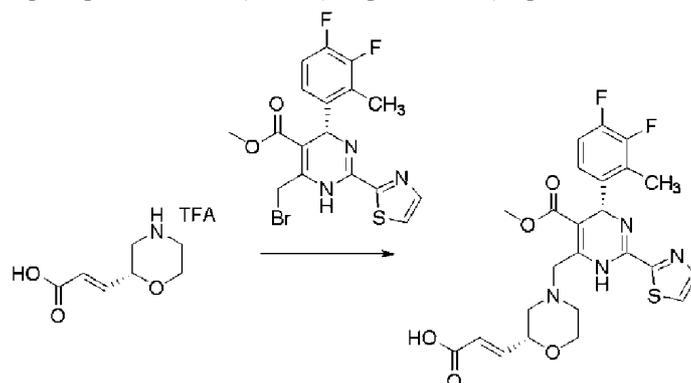


Заявленное в заголовке соединении 70 мг получали, применяя способы, аналогичные способам, описанным в примере 27 и заменяя (R)-метил 6-(бромметил)-4-(2-хлор-4-фторфенил)-2-(триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилат на (R)-метил 4-(2-бром-3,4-дифторфенил)-6-(бромметил)-2-(триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилат.

Структуру характеризовали следующим способом:

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 9,66 (с, 1H), 7,85 (д, $J=3,1$ Гц, 1H), 7,47 (д, $J=3,1$ Гц, 1H), 7,12-7,01 (м, 2H), 6,92-6,87 (м, 1H), 6,19 (с, 1H), 6,13-6,09 (м, 1H), 4,50-4,35 (м, 1H), 4,20-4,05 (м, 3H), 4,00-3,80 (м, 2H), 3,62 (с, 3H), 3,05-2,75 (м, 2H), 2,71-2,55 (м, 1H), 2,30-2,15 (м, 1H). ESI-MS (m/z): 584,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Пример 32. Получение (E)-3-((R)-4-(((S)-6-(3,4-дифтор-2-метилфенил)-5-(метоксикарбонил)-2-(триазол-2-ил)-3,6-дигидропиримидин-4-ил)метил)мофолин-2-ил)акриловой кислоты (10-239)

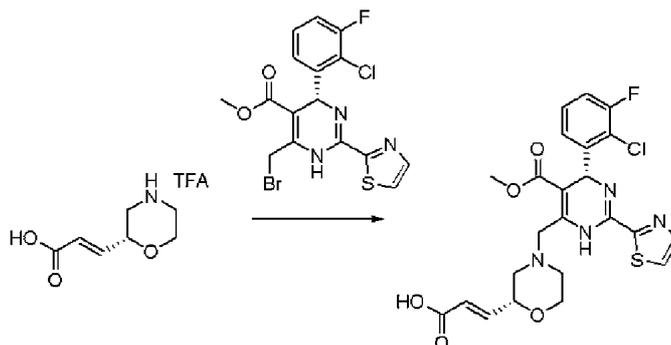


Заявленное в заголовке соединение 22 мг получали, применяя способы, аналогичные способам, описанным в примере 27 и заменяя (R)-метил 6-(бромметил)-4-(2-хлор-4-фторфенил)-2-(триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилат на (S)-метил 6-(бромметил)-4-(3,4-дифтор-2-метилфенил)-2-(триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилат.

Структуру характеризовали следующим способом:

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,93 (дд, $J=3,2, 1,5$ Гц, 1H), 7,72 (т, $J=2,7$ Гц, 1H), 7,02 (м, $J=7,2, 3,3$ Гц, 2H), 6,82 (м, $J=15,8, 4,2$ Гц, 1H), 6,16-5,96 (м, 1H), 5,91 (с, 1H), 4,37 (д, $J=9, 8$ Гц, 1H), 4,20-3,75 (м, 4H), 3,60 (с, 3H), 3,14-2,64 (м, 2H), 2,55 (д, $J=2,4$ Гц, 3H), 2,60-2,41 (м, $J=11,7, 5,8$ Гц, 1H), 2,29-2,20 (м, $J=10,6$ Гц, 1H). ESI-MS (m/z): 519,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Пример 33. Получение (E)-3-((R)-4-(((R)-6-(2-хлор-3-фторфенил)-5-(метоксикарбонил)-2-(триазол-2-ил)-3,6-дигидропиримидин-4-ил)метил)мофолин-2-ил)акриловой кислоты (10-240)

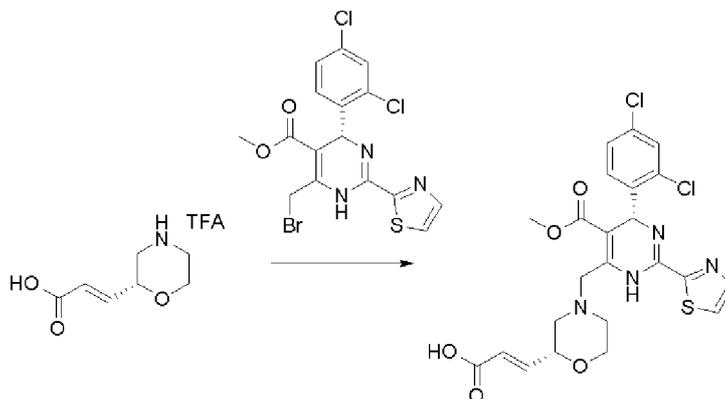


Заявленное в заголовке соединение 36 мг получали, применяя способы, аналогичные способам, описанным в примере 27 и заменяя (R)-метил 6-(бромметил)-4-(2-хлор-4-фторфенил)-2-(триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилат на (R)-метил 6-(бромметил)-4-(2-хлор-3-фторфенил)-2-(триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилат.

Структуру характеризовали следующим способом:

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,84 (д, $J=3,1$ Гц, 1H), 7,48 (с, 1H), 7,22-7,16 (м, $J=16,5$ Гц, 2H), 7,06 (с, 1H), 6,89 (д, $J=15,7$ Гц, 1H), 6,25 (с, 1H), 6,11 (д, $J=15,7$ Гц, 1H), 4,50 (с, 1H), 4,22 (д, $J=15,6$ Гц, 1H), 4,03 (дд, $J=31,8, 9,3$ Гц, 3H), 3,60 (с, 3H), 3,04 (с, 2H), 2,70 (с, 1H), 2,35 (с, 1H). ESI-MS (m/z): 521,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Пример 34. Получение (E)-3-((R)-4-(((R)-6-(2,4-дихлорфенил)-5-(метоксикарбонил)-2-(триазол-2-ил)-3,6-дигидропиримидин-4-ил)метил)мофолин-2-ил)акриловой кислоты (10-241)

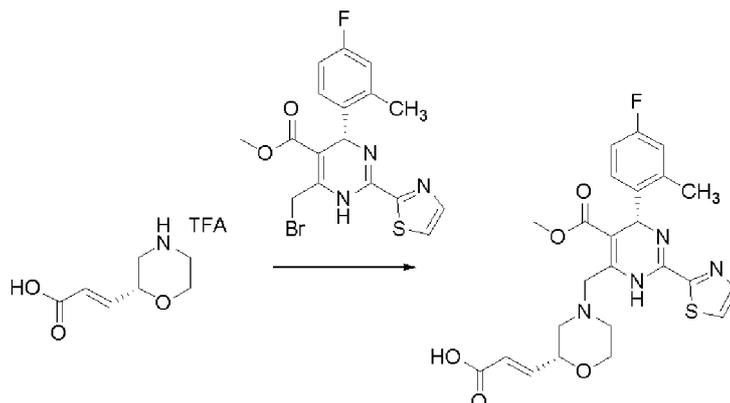


Заявленное в заголовке соединение 400 мг получали применяя способы, аналогичные способам, описанным в примере 27 и заменяя (R)-метил 6-(бромметил)-4-(2-хлор-4-фторфенил)-2-(триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилат на (R)-метил 6-(бромметил)-4-(2,4-дихлорфенил)-2-(триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилат.

Структуру характеризовали следующим способом:

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 9,64 (с, 1H), 7,86 (д, $J=3,1$ Гц, 1H), 7,47 (д, $J=3,1$ Гц, 1H), 7,42 (д, $J=2,1$ Гц, 1H), 7,28 (д, $J=6,5$ Гц, 1H), 7,19 (дд, $J=8,4, 2,1$ Гц, 1H), 6,93 (дд, $J=15,7, 4,1$ Гц, 1H), 6,22 (с, 1H), 6,12 (дд, $J=15,7, 1,8$ Гц, 1H), 4,40 (д, $J=9,9$ Гц, 1H), 4,12-4,01 (м, 2H), 3,96-3,85 (м, 2H), 3,62 (с, 3H), 2,89-2,75 (м, 2H), 2,60 (тд, $J=10,9, 2,8$ Гц, 1H), 2,23 (т, $J=10,7$ Гц, 1H). ESI-MS (m/z): 537,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Пример 35. Получение (E)-3-((R)-4-(((S)-6-(4-фтор-2-метилфенил)-5-(метоксикарбонил)-2-(триазол-2-ил)-3,6-дигидропиримидин-4-ил)метил)мофолин-2-ил)акриловой кислоты (10-242)

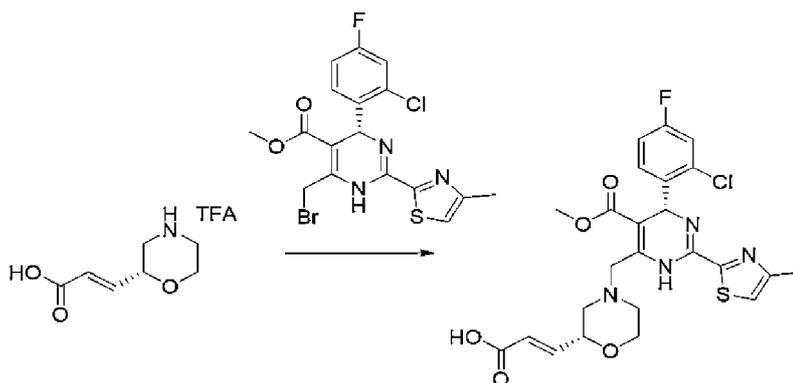


Заявленное в заголовке соединение 80 мг получали, применяя способы, аналогичные способам, описанным в примере 27 и заменяя (R)-метил 6-(бромметил)-4-(2-хлор-4-фторфенил)-2-(триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилат на (S)-метил 6-(бромметил)-4-(4-фтор-2-метилфенил)-2-(триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилат.

Структуру характеризовали следующим способом:

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 9,59 (с, 1H), 7,82 (д, $J=3,1$ Гц, 1H), 7,44 (с, 1H), 7,13 (т, $J=7,1$ Гц, 1H), 6,90 (т, $J=4,1$ Гц, 2H), 6,80 (т, $J=3,6$ Гц, 1H), 6,12 (дд, $J=15,7, 1,2$ Гц, 1H), 5,96 (с, 1H), 4,40 (с, 1H), 4,05 (д, $J=11,3$ Гц, 2H), 3,93 (д, $J=16,0$ Гц, 2H), 3,61 (с, 3H), 2,81 (с, 2H), 2,63 (с, 3H), 2,57 (с, 1H), 2,20 (с, 1H). ESI-MS (m/z): 501,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Пример 36. Получение (E)-3-((R)-4-(((R)-6-(2-хлор-4-фторфенил)-5-(метоксикарбонил)-2-(4-метилтриазол-2-ил)-3,6-дигидропиримидин-4-ил)метил)мофолин-2-ил)акриловой кислоты (10-243)

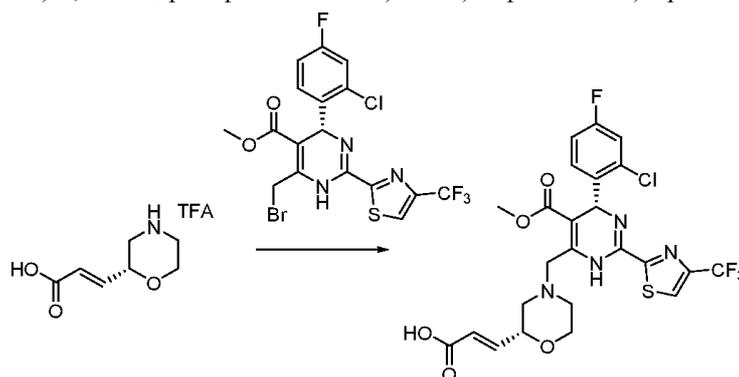


Заявленное в заголовке соединение 400 мг получали применяя способы, аналогичные способам, описанным в примере 27 и заменяя (R)-метил 6-(бромметил)-4-(2-хлор-4-фторфенил)-2-(триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилат на (R)-метил 6-(бромметил)-4-(2-метил-4-фторфенил)-2-(4-метилтриазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилат.

Структуру характеризовали следующим способом:

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 9,65 (с, 1H), 7,29-7,25 (м, 1H), 7,13 (дд, $J=8,6, 2,6$ Гц, 1H), 7,01 (с, 1H), 6,93-6,88 (м, 2H), 6,19 (с, 1H), 6,10 (д, $J=15,7$ Гц, 1H), 4,38 (с, 1H), 4,06 (д, $J=12,5$ Гц, 2H), 3,90-3,86 (м, 2H), 3,60 (с, 3H), 2,81 (с, 2H), 2,60 (с, 1H), 2,45 (с, 3H), 2,20 (с, 1H). ESI-MS (m/z): 535,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Пример 37. Получение (E)-3-((R)-4-(((R)-6-(2-хлор-4-фторфенил)-5-(метоксикарбонил)-2-(4-(трифторметил)триазол-2-ил)-3,6-дигидропиримидин-4-ил)метил)мофолин-2-ил)акриловой кислоты (10-244)

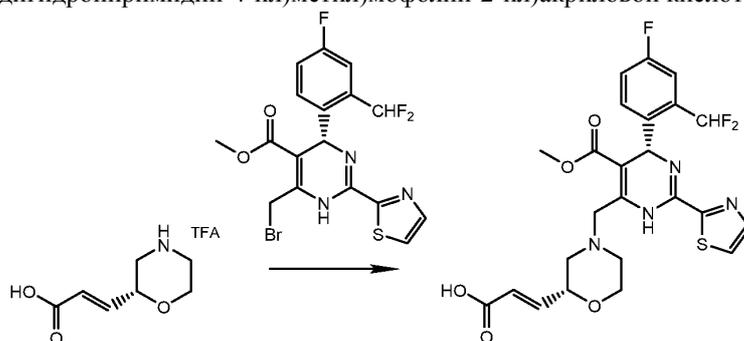


Заявленное в заголовке соединение 80 мг получали применяя способы, аналогичные способам, описанным в примере 27 и заменяя (R)-метил 6-(бромметил)-4-(2-хлор-4-фторфенил)-2-(триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилат на (R)-метил 6-(бромметил)-4-(2-хлор-4-фторфенил)-2-(4-(трифторметил)триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилат.

Структуру характеризовали следующим способом:

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 9,70 (с, 1H), 7,86 (с, 1H), 7,27 (с, 1H), 7,17 (дд, $J=8,6, 2,6$ Гц, 1H), 6,96 (дд, $J=11,3, 10,6, 3,4$ Гц, 2H), 6,24 (с, 1H), 6,18 (д, $J=15,4$ Гц, 1H), 4,38 (д, $J=10,4$ Гц, 1H), 4,19-4,10 (м, 1H), 4,02 (д, $J=11,1$ Гц, 1H), 3,83 (дд, $J=13,3, 9,8$ Гц, 2H), 3,63 (с, 3H), 2,95 (д, $J=10,8$ Гц, 1H), 2,66 (д, $J=11,6$ Гц, 1H), 2,51-2,33 (м, 2H). ESI-MS (m/z): 589,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Пример 38. Получение (E)-3-((R)-4-(((S)-6-(2-(дифторметил)-4-фторфенил)-5-(метоксикарбонил)-2-(триазол-2-ил)-3,6-дигидропиримидин-4-ил)метил)морфолин-2-ил)акриловой кислоты (10-245)

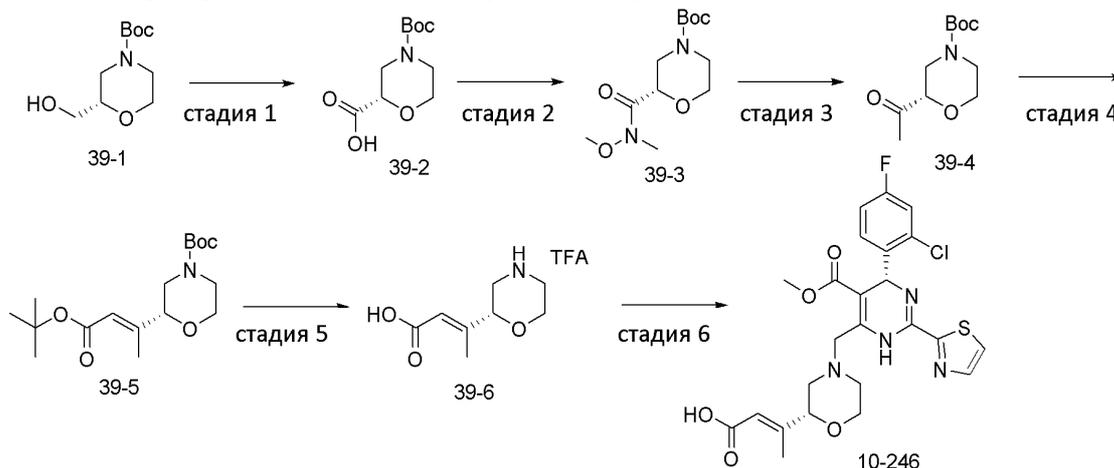


Заявленное в заголовке соединение 70 мг получали, применяя способы, аналогичные способам, описанным в примере 27 и заменяя (R)-метил 6-(бромметил)-4-(2-хлор-4-фторфенил)-2-(триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилат на (S)-метил 6-(бромметил)-4-(2-(дифторметил)-4-фторфенил)-2-(триазол-2-ил)-1,4-дигидропиримидин-5-карбоксилат.

Структуру характеризовали следующим способом:

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 9,68 (с, 1H), 7,83 (д, $J=3,1$ Гц, 1H), 7,69-7,55 (м, 1H), 7,46 (д, $J=2,9$ Гц, 1H), 7,40 (д, $J=7,5$ Гц, 1H), 7,20 (с, 1H), 7,08 (т, $J=7,5$ Гц, 1H), 6,96 (дд, $J=15,7, 3,9$ Гц, 1H), 6,15 (дд, $J=15,7, 1,5$ Гц, 1H), 6,08 (с, 1H), 4,40 (д, $J=5,0$ Гц, 1H), 4,16 (д, $J=17,6$ Гц, 1H), 4,00 (д, $J=11,4$ Гц, 1H), 3,93-3,80 (м, 2H), 3,62 (с, 3H), 2,93 (д, $J=9,2$ Гц, 1H), 2,65 (д, $J=9,7$ Гц, 1H), 2,46 (т, $J=11,1$ Гц, 1H), 2,36 (д, $J=9, 6$ Гц, 1H). ESI-MS (m/z): 537,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Пример 39. Получение (E)-3-((R)-4-(((R)-6-(2-хлор-4-фторфенил)-5-(метоксикарбонил)-2-(триазол-2-ил)-3,6-дигидропиримидин-4-ил)метил)морфолин-2-ил)бут-2-еновой кислоты (10-246)



Стадия 1: получение (S)-4-(трет-бутоксикарбонил)морфолин-2-карбоновой кислоты (39-2).

При комнатной температуре (S)-трет-бутил 2-(гидроксиэтил)морфолин-4-карбоксилат (39-1) (5 г, 23,01 ммоль) растворяли в ацетоне (250 мл) и добавляли насыщенный раствор бикарбоната натрия (75 мл). Реакцию охлаждали до 0°C в бане со льдом, добавляли бромид натрия (474 мг, 4,6 ммоль) и тетраметилпиперидинокси (65 мг, 0,46 ммоль), с последующим медленным добавлением трихлоризоциануровой кислоты (10,7 г, 46,03 ммоль) и реакцию проводили при комнатной температуре в течение ночи. К реакции добавляли изопропанол (15 мл), перемешивали в течение 30 мин, фильтровали отсасыванием и осадок на фильтре выбрасывали. Фильтрат концентрировали, добавляли насыщенный раствор карбоната натрия (75 мл), экстрагировали этилацетатом (50 мл \times 2) и органическую фазу выбрасывали. Водную фазу нейтрализовали 6N хлористоводородной кислотой и экстрагировали этилацетатом (50 мл \times 3). Органиче-

скую фазу объединяли, сушили над безводным сульфатом натрия, осушающий агент отфильтровывали и фильтрат концентрировали, получая заявленное в заголовке соединение 3 г, которое применяли непосредственно в следующей реакции без очистки. ESI-MS (m/z): 176,1 [M+1-56]⁺.

Стадия 2: получение (S)-трет-бутил 2-(метокси(метил)карбамоил)морфолин-4-карбоксилата (39-3).

При комнатной температуре соединение (39-2) (2 г, 8,65 ммоль) растворяли в дихлорметане (20 мл), добавляли гексафторфосфат 2-(7-азабензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилурония (3,95 г, 10,38 ммоль) и реакцию проводили при комнатной температуре в течение 30 мин. Добавляли N,N-диизопропилэтиламин (2,57 г, 19,89 ммоль) и гидрохлорид N,O-диметилгидроксиламина (1,01 г, 10,38 ммоль) и реакцию проводили в течение ночи. К реакции добавляли воду (20 мл) и экстрагировали дихлорметаном (20 мл×3). Органическую фазу объединяли, которую последовательно промывали 0,05N хлористоводородной кислотой (20 мл), насыщенным раствором бикарбоната натрия, водой и насыщенным раствором хлорида натрия и сушили над безводным сульфатом натрия, осушающий агент отфильтровывали и фильтрат концентрировали, получая заявленное в заголовке соединение (2 г), которое применяли непосредственно в следующей реакции без очистки. ESI-MS (m/z): 219,1 [M+1-56]⁺.

Стадия 3: получение (S)-трет-бутил 2-ацетилморфолин-4-карбоксилата (39-4).

При комнатной температуре соединения (39-3) (2 г, 7,29 ммоль) растворяли в безводном тетрагидрофуране (40 мл), охлаждали до -20°C при защите азотом, добавляли порциями метилмагнийбромид (3M, 7,29 мл, 21,87 ммоль) и реакцию проводили при -20°C в течение 4 ч. К реакции добавляли насыщенный хлорид аммония (20 мл) и экстрагировали этилацетатом (20 мл×3). Органическую фазу объединяли, последовательно промывали 0,05N хлористоводородной кислотой (20 мл), насыщенным раствором бикарбоната натрия, водой и насыщенным раствором хлорида натрия и сушили над безводным сульфатом натрия, осушающий агент отфильтровывали и фильтрат концентрировали, получая заявленное в заголовке соединение (1,5 г), которое применяли непосредственно в следующей реакции без очистки. ESI-MS (m/z): 174,1 [M+1-56]⁺.

Стадия 4: получение (R,E)-трет-бутил 2-(4-(трет-бутоксид)-4-оксобут-2-ен-2-ил)морфолин-4-карбоксилата (39-5).

Заявленное в заголовке соединение (1,1 г) получали, применяя способы, аналогичные способам, описанным на стадии 2 примера 25 и заменяя (S)-трет-бутил 2-формилморфолин-4-карбоксилат на соединение (39-4). ESI-MS (m/z): 172,1 [M+1-100-56]⁺.

Стадия 5: получение трифторацетатной соли (R,E)-3-(мофолин-2-ил)бут-2-еновой кислоты (39-6).

Заявленное в заголовке соединение (491 мг) получали, применяя способы, аналогичные способам, описанным на стадии 3 примера 25 и заменяя (R,E)-трет-бутил 2-(3-(трет-бутоксид)-3-оксопроп-1-ен-1-ил)морфолин-4-карбоксилат на соединение (39-5). ESI-MS (m/z): 172,1 [M+H]⁺.

Стадия 6: получение (E)-3-((R)-4-(((R)-6-(2-хлор-4-фторфенил)-5-(метоксикарбонил)-2-(триазол-2-ил)-3,6-дигидропиримидин-4-ил)метил)мофолин-2-ил)бут-2-еновой кислоты (10-246).

Заявленное в заголовке соединение (180 мг) получали, применяя способы, аналогичные способам, описанным в примере 27 и заменяя трифторацетатную соль (R,E)-3-(мофолин-2-ил)акриловой кислоты на соединение (39-6).

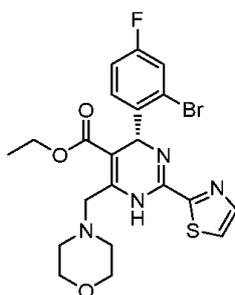
Структуру характеризовали следующим способом:

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,85 (д, J=3,1 Гц, 1H), 7,51 (д, J=3,0 Гц, 1H), 7,33 (дд, J=8,6, 2,0 Гц, 1H), 7,14 (дд, J=8,5, 2,6 Гц, 1H), 6,95 (тд, J=8,3, 2,6 Гц, 1H), 6,18 (с, 1H), 6,04 (с, 1H), 4,37-4,22 (м, 2H), 4,10-4,07 (м, 2H), 3,62 (с, 3H), 3,27 (с, 1H), 2,83 (с, 1H), 2,43 (с, 1H), 2,08 (с, 3H). ESI-MS (m/z): 535, 1 [M+H]⁺.

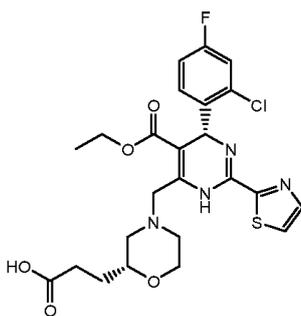
Дополнительные соединения можно получить способами, аналогичными способам в примерах выше.

В следующих фармакологических испытаниях, проводили сравнение соединения настоящего изобретения и соединения GLS4 (контрольное соединение 1), соединения примера 9 в WO 2015144093 (контрольное соединение 2) и соединения примера 5 в WO 2014037480 (контрольное соединение 3), приведенных в параграфе "уровень техники настоящего изобретения" настоящей заявки, для того чтобы адекватно проиллюстрировать преимущества примеров настоящего изобретения.

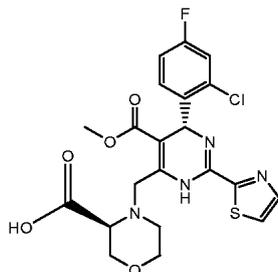
Структура контрольного соединения 1 представляет собой



структура контрольного соединения 2 представляет собой



и структура контрольного соединения 3 представляет собой



Экспериментальный пример 1: тест на биологическую активность.

Испытывали ингибирующий эффект соединений настоящего изобретения на вирус гепатита типа В (ВГБ). Цитотоксичность и эффекты на уровень репликации нуклеиновой кислоты (ДНК) вируса (ВГБ) соединений настоящего изобретения испытывали на уровне вирус-клетка.

Способ испытания.

НерG2.2.15 клетки в фазе логарифмического роста высевали в 96-луночный планшет при концентрации клеток 40 клеток на мкл. Клетки выдерживали в 5% CO₂ инкубаторе при 37°C в течение 3 дней; и культуральную среду заменяли новой культуральной средой (200 мкл/лунка) перед добавлением соединений. Концентрация исходного раствора каждого примерного соединения составляет 200 мкМ. С 200 мкМ в качестве наибольшей концентрации, раствор разбавляли до различных концентраций DMSO и 1 мкл испытуемого соединения добавляли в соответствующую лунку с культуральной средой и конечные испытуемые концентрации соединения составляли 0,06, 0,24, 0,98, 3,9, 15,6, 62,5, 250, 1000 нМ (применяемые для расчета полуэффективной концентрации (EC₅₀)). Результаты испытаний показаны в табл. 1-1 и табл. 1-2.

Таблица 1-1

Соединение No.	EC ₅₀ (нМ)
10-7 примера 6	102,3
10-34 примера 9	13,2
10-36 примера 10	98,1
10-40 примера 11	6,2
10-42 примера 12	164,5
10-88 примера 1	24,7
Изомер В примера 4	34,7
Изомер А примера 4	35,1
10-95 примера 5	314,4
10-136 примера 16	110,4
10-162 примера 15	213,1
10-180 примера 14	23,5
10-182 примера 13	61,8

Как показано в табл. 1-1, испытуемые соединения обладают эффективной ингибирующей активностью на вирус гепатита типа В (ВГБ).

Таблица 1-2

Соединение No.	EC ₅₀ (нМ)
Контрольное соединение 2	89
10-226 примера 25	9,2
10-227 примера 27	10,0
10-229 примера 28	8,3
10-230 примера 26	11,2
10-237 примера 30	10,9
10-238 примера 31	10,2
10-239 примера 32	28,9
10-240 примера 33	21,1

Как показано в табл. 1-2, анти-ВГБ активность соединений, имеющих одну конфигурацию настоящего изобретения, является приблизительно 10 кратной активности контрольного соединения 2, указывая на то, что соединения настоящего изобретения обладают более мощной ингибирующей активностью на вирус гепатита типа В (ВГБ).

Оставшиеся соединения настоящего изобретения обладают ингибирующей активностью, аналогичной выше.

Экспериментальный пример 2: определение цитотоксичности.

Испытуемые соединения разбавляли до 30 мМ DMSO, с 30 мМ в качестве наибольшей концентрации, соединения подвергали трехкратному последовательному разбавлению до различных концентраций. 0,2 мкл соединений при различных концентрациях добавляли в 384-луночный планшет, HepG2.2.15 клетки, имеющие концентрацию 2000 клеток на 50 мкл, добавляли к каждой лунке и наибольшая концентрация испытуемых соединений составляла 150 мкМ. 1 мкл DMSO добавляли к соответствующим лункам для контроля. Планшет выдерживали в 5% CO₂ инкубаторе при 37°C в течение 4 дней; и 50 мкл CellTiter-Glo добавляли к каждой лунке через 4 дня. Планшеты считывали для детекции и рассчитывали полумитотоксическую концентрацию (CC₅₀). Результаты испытаний представляют собой, как показано в табл. 2.

Таблица 2

Соединение No.	CC ₅₀ (мкМ)
10-7 примера 6	129,5
10-34 примера 9	79,6
10-36 примера 10	>150,0
10-40 примера 11	73,5
10-42 примера 12	>150,0
10-88 примера 1	61,1
Изомер В примера 4	51,3
Изомер А примера 4	43,9
10-95 примера 5	131,3
10-136 примера 16	122,3
10-162 примера 15	>150,0
10-180 примера 14	>150,0
10-182 примера 13	>150,0
10-226 примера 25	>150,0
10-230 примера 26	137,0
10-227 примера 27	>150,0
10-229 примера 28	>150,0
10-237 примера 30	>150,0
10-238 примера 31	>150,0
10-239 примера 32	>150,0
10-240 примера 33	>150,0

Испытуемые соединения настоящего изобретения обладают относительно низкой цитотоксичностью и относительно высокой безопасностью. Оставшиеся соединения настоящего изобретения обладают аналогичными характеристиками безопасности.

Экспериментальный пример 3: испытание на hERG ингибирующий эффект.

В клетках сердечной мышцы hERG (ген специфических калиевых каналов сердца человека) кодируемый калиевый канал опосредует замедленное выпрямление калиевого тока (IKr). Ингибирование IKr представляет собой самый важный механизм удлинения QT интервала, вызванного лекарственным средством. В hERG испытании критерий оценки является следующим: если IC₅₀ соединения является большим чем 10 мкМ, то соединение определяют как не обладающее любым ингибирующим эффектом на hERG.

Применяя Predictor™ hERG анализ флуоресцентной поляризации, определяли эффект соединений на hERG калиевый ионный канал. Результаты испытаний представляют собой, как показано в табл. 3 ниже.

Таблица 3

Соединение No.	IC ₅₀ величина (мкМ)
Контрольное соединение 1	2,85
Контрольное соединение 2	1~10
10-36 примера 10	>10
10-40 примера 11	>10
10-42 примера 12	>10
10-88 примера 1	>10
Изомер В примера 4	>10
Изомер А примера 4	>10
10-93 примера 2	>10
10-95 примера 5	>10
10-226 примера 25	>10
10-227 примера 27	>10
10-230 примера 26	>10

Согласно данным выше, контрольное соединение 1 и контрольное соединение 2 обладают кардиотоксичностью в различной степени (обладая значительным ингибирующим эффектом на hERG калиевый ионный канал в клетках сердечной мышцы) и, таким образом, обладают потенциальным риском вызывания аритмии; тогда как испытуемые соединения настоящего изобретения не обладают ингибирующим эффектом на hERG калиевый ионный канал и, таким образом, не обладают значительной кардиотоксичностью, посредством этого обеспечивая большую безопасность. Оставшиеся соединения настоящего изобретения обладают аналогичной безопасностью.

Экспериментальный пример 4: *in vivo* исследование фармакокинетических параметров (PK) на крысах.

Испытуемые соединения вводили мужским особям SD крыс внутривенно (iv) и через желудочный зонд (po), соответственно, дозы iv и po введения составляли, соответственно, 1 и 2 мг/кг, система растворителей для iv введения представляла собой 5% DMSO: 5% соллютол: 90% физиологический раствор и система растворителей для po введения представляла собой 0,5% МС. Кровь отбирали в различные моменты времени после iv введения и po введения для PK исследований. Образцы плазмы и образцы ткани печени подвергали белковому осаждению, с последующим LC-MS/MS анализом. Масс-спектрометр представлял собой API 5500 и жидкостной хроматограф представлял собой Waters ACQUITY I CLASS систему; хроматографическая колонка представляла собой Agela ASB C₁₈ колонку (2,1 мм×50 мм, 1,9 мкм); подвижная фаза А представляла собой воду+0,1% муравьиную кислоту и фаза В представляла собой ацетонитрил; скорость потока составляла 0,4 мл/мин и температура колонки составляла 40°C. Источник ионов представлял собой ESI источник в режиме положительных ионов и способ сканирования представлял собой селективную регистрацию избранных реакций распада нескольких ионов (MRM). Результаты испытаний показаны в следующей таблице.

Таблица 4

Соединение No.	Путь введения	дозирование	AUC _{INF}	C _{max}
		мг/кг	ч*нг/мл	нг/мл
Контрольное соединение 2	iv	1,00	2150	2470
10-226 примера 25	iv	1,00	2400	2890

Согласно данным в табл. 4 по сравнению с контрольным соединением 2 соединение настоящего изобретения (например, 10-226 примера 25), введенное внутривенно при 1,00 мг/кг, обладает лучшим воздействием лекарственного средства (AUC_{INF}) и более высокой концентрацией лекарственного сред-

ва в крови (C_{\max} in vivo и, таким образом, обладает лучшими фармакокинетическими параметрами.

Таблица 5. Фармакокинетические параметры в плазме

Соединение No.	Путь введения	доза	AUC _{INF}	C _{max}
		мг/кг	ч*нг/мл	нг/мл
Контрольное соединение 2	po	2,00	897	1250
10-226 примера 25	po	2,00	2290	2180

Согласно данным в табл. 5, по сравнению с контрольным соединением 2, соединение настоящего изобретения (например, 10-226 примера 25), введенное через желудочный зонд при 2,00 мг/кг, обладает лучшим воздействием лекарственного средства (AUC_{INF}) и большей концентрацией лекарственного средства в крови (C_{\max}) in vivo и, таким образом, обладает лучшими параметрами абсорбции.

Таблица 6. Фармакокинетические параметры в печени

Соединение No.	Путь введения	доза	AUC _{INF}	C _{max}
		мг/кг	ч*нг/мл	нг/мл
Контрольное соединение 2	po	2,00	1490	547
10-226 примера 25	po	2,00	3030	1690

Согласно данным в табл. 6, по сравнению с контрольным соединением 2, соединение настоящего изобретения (например, 10-226 примера 25), введенное через желудочный зонд при 2,00 мг/кг, обладает лучшим воздействием лекарственного средства (AUC_{INF}) и более высокой концентрацией лекарственного средства в крови (C_{\max}) in vivo, что дополнительно указывает на то, что соединение настоящего изобретения (например, 10-226 примера 25) обладает лучшими параметрами абсорбции. Кроме того, биодоступность (F) соединения настоящего изобретения (например, 10-226 примера 25), введенного через желудочный зонд при 2,00 мг/кг, составляет 47,6%, что является значительно большим, чем биодоступность (20,9%) контрольного соединения 2.

Таблица 7

Соединение No.	Путь введения	образец	доза	AUC _{INF}	C _{max}
			мг/к г	ч*нг/м л	нг/м л
Контрольное соединение 2	po	плазма	2,00	897	1250
		печень	2,00	1490	547
10-230 примера 26	po	плазма	2,00	236	179
		печень	2,00	2340	1520

Как показано в табл. 7, степень воздействия соединения настоящего изобретения (например, 10-230 примера 26) в печени in vivo является в 10 раз большей степени воздействия в плазме и концентрация лекарственного средства в печени in vivo является в 10 раз большей концентрации в плазме; тогда как степень воздействия контрольного соединения 2 в печени in vivo является в 1,5 раза большей степени воздействия в плазме и концентрация лекарственного средства в печени in vivo составляет 0,5 концентрации в плазме. Приведенное выше указывает на то, что соединение настоящего изобретения обладает превосходным воздействием лекарственного средства (AUC_{INF}) и концентрацией лекарственного средства (C_{\max}) в печени in vivo и, таким образом, обладает направленными на печень свойствами.

Экспериментальный пример 5. In vivo исследование фармакокинетических параметров (PK) на собаках породы бигль.

Испытуемые соединения вводили мужским особям собак породы бигль внутривенно (iv) и через желудочный зонд (po), соответственно, дозы iv и po введения составляли, соответственно, 0,5 мг/кг и 2,5 мг/кг, система растворителей для iv введения представляла собой 5% DMSO: 5% солютол: 90% физиологический раствор и система растворителей для po введения представляла собой 0,5% МС. Кровь отбирали в различные моменты времени после iv введения и po введения для PK исследований. Образцы плазмы и образцы ткани печени подвергали белковому осаждению, с последующим LC-MS/MS анализом. Масс-спектрометр представлял собой API 5500 и жидкостной хроматограф представлял собой Waters

ACQUITY I CLASS систему; хроматографическая колонка представляла собой Agela ASB C₁₈ колонку (2,1 мм×50 мм, 1,9 мкм); подвижная фаза А представляла собой воду+0,1% муравьиную кислоту и фаза В представляла собой ацетонитрил; скорость потока составляла 0,4 мл/мин и температура колонки составляла 40°C. Источник ионов представлял собой ESI источник в режиме положительных ионов и способ сканирования представлял собой селективную регистрацию избранных реакций распада нескольких ионов (MRM). Результаты испытаний показаны в следующей таблице.

Таблица 8

Соединение No.	Путь введения	Доза	AUC _{INF}	AUC _{last}	C _{max}
		мг/кг	ч*нг/м	ч*нг/м	нг/м
		г	л	л	л
Контрольное	iv	0,50	1130	1120	2130
соединение 3					
10-227 примера 27	iv	0,50	8750	8690	2310

Согласно данным в табл. 8, по сравнению с контрольным соединением 3, соединение настоящего изобретения (например, 10-227 примера 27), введенное внутривенно при 0,50 мг/кг, обладает лучшим воздействием лекарственного средства (AUC_{INF}) и большей концентрацией лекарственного средства в крови (C_{max}) in vivo и, таким образом, обладает лучшими фармакокинетическими параметрами.

Таблица 9

Соединение No.	Путь введения	Доза	AUC _{INF}	AUC _{last}	C _{max}
		мг/кг	ч*нг/м	ч*нг/м	нг/м
		г	л	л	л
Контрольное	po	2,50	2360	2330	1210
соединение 3					
10-227 примера 27	po	2,50	33200	32900	7200

Как показано в табл. 9, степень воздействия в плазме соединения настоящего изобретения (например, 10-227 примера 27), введенного через желудочный зонд при 2,50 мг/кг, является приблизительно в 14 раз большей степени воздействия контрольного соединения 3 и концентрация лекарственного средства в крови является приблизительно в 6 раз большей концентрации контрольного соединения 3, что дополнительно указывает на то, что соединения настоящего изобретения (например, 10-227 примера 27) обладают лучшими свойствами абсорбции. Кроме того, биодоступность (F) соединения настоящего изобретения (например, 10-227 примера 27), введенного через желудочный зонд при 2,50 мг/кг, составляла 75,9%, что является значительно большим, чем биодоступность (41,7%) контрольного соединения 3.

Экспериментальный пример 6. In vivo исследование фармакокинетических параметров (PK) на макаках-крабоедах.

Испытуемые соединения вводили мужским особям макак-крабоедов внутривенно (iv) и через желудочный зонд (po), соответственно, дозы iv и po введения составляли, соответственно, 0,5 и 2,5 мг/кг, система растворителей для iv введения представляла собой 5% DMSO: 5% солютол: 90% физиологический раствор и система растворителей для po введения представляла собой 0,5% MC. Кровь отбирали в различные моменты времени после iv введения и po введения для PK исследований. Образцы плазмы и образцы ткани печени подвергали белковому осаждению, с последующим LC-MS/MS анализом. Масс-спектрометр представлял собой API 5500 и жидкостной хроматограф представлял собой Waters ACQUITY I CLASS систему; хроматографическая колонка представляла собой Agela ASB C₁₈ колонку (2,1 мм×50 мм, 1,9 мкм); подвижная фаза А представляла собой воду+0,1% муравьиную кислоту и фаза В представляла собой ацетонитрил; скорость потока составляла 0,4 мл/мин и температура колонки составляла 40°C. Источник ионов представлял собой ESI источник в режиме положительных ионов и способ сканирования представлял собой селективную регистрацию избранных реакций распада нескольких ионов (MRM). Результаты испытаний показаны в следующей таблице.

Таблица 10

Соединение No.	Путь введения	Доза	AUC _{INF}	AUC _{last}	C _{max}
		мг/кг	ч*нг/мл	ч*нг/мл	нг/мл
Контрольное соединение 3	iv	0,50	623	623	1607
10-227 примера 27	iv	0,50	2463	2441	1673

Согласно данным в табл. 10, в исследовании РК на макаках-крабоедах, по сравнению с контрольным соединением 3, соединение настоящего изобретения (например, 10-227 примера 27), введенное внутривенно при 0,50 мг/кг, обладает лучшим воздействием лекарственного средства (AUC_{INF}) и большей концентрацией лекарственного средства в крови (C_{max}) in vivo и, таким образом, обладает лучшими фармакокинетическими параметрами.

Таблица 11

Соединение No.	Путь введения	Доза	AUC _{INF}	AUC _{last}	C _{max}
		мг/к	ч*нг/м	ч*нг/м	нг/м
		г	л	л	л
Контрольное соединение 3	po	2,50	211	208	32
10-227 примера 27	po	2,50	4566	4417	1069

Как показано в табл. 11, в исследовании РК на макаках-крабоедах, степень воздействия в плазме соединения настоящего изобретения (например, 10-227 примера 27), введенного через желудочный зонд при 2,50 мг/кг, является приблизительно в 21 раз большей степени воздействия контрольного соединения 3 и концентрация лекарственного средства в крови является приблизительно в 33 большей концентрации контрольного соединения 3, что дополнительно указывает на то, что соединение настоящего изобретения (например, 10-227 примера 27) обладает лучшими свойствами абсорбции. Кроме того, биодоступность (F) соединения настоящего изобретения (например, 10-227 примера 27), введенного через желудочный зонд при 2,50 мг/кг, составляет 37,2%, что является значительно большим, чем биодоступность (6,77%) контрольного соединения 3.

Экспериментальный пример 7: исследование индукции CYP450 фермента.

Извлечение клеток.

Пробирку HerG2 C3A/pCYP3A4-Luc, C8 клеток извлекали из резервуара с жидким азотом, клетки извлекали в бане со стерильной водой при 37°C; и пробирку аккуратно встряхивали до того, как лед полностью расплавится. Извлеченные клетки переносили в 15 мл стерильную пробирку для центрифугирования и добавляли 5-10 мл предварительно натреты культуральной среды для базальных клеток при 37°C; клетки самопроизвольно осаждались в течение 2 мин и их центрифугировали (1000 об/мин) в течение 8 мин. Надосадочную жидкость выбрасывали и клетки суспендировали в 10 мл предварительно натреты культуральной среды для клеток. Клеточную суспензию переносили в 10 см чашку для культур клеток и выдерживали в 5% CO₂ инкубаторе при 37°C. Исходную культуральную среду для клеток заменяли селективной культуральной средой для клеток через 24 ч.

Пролиферация клеток.

Клетки извлекали после выращивания до 80-90% чашки для культур и затем переносили в 15 мл стерильную пробирку для центрифугирования. Центрифугирование проводили при 1000 об/мин в течение 8 мин и клетки собирали. Надосадочную жидкость выбрасывали и клетки суспендировали с 3 мл предварительно натреты полной среды. Клеточную суспензию пересевали в соотношении 1:3 или 1:5.

Испытание на индукцию CYP3A4.

Планшет для клеток получали в первый день. 5 мкл 1×Matrigel добавляли в 384-луночный белый планшет для клеток и центрифугирование проводили при 600 об/мин в течение 1 мин. Чашку для культур выгружали, культуральную среду выбрасывали, клетки промывали 1 мл PBS, который затем отсасывали, добавляли 2 мл 0,25% панкреатина и клетки выдерживали в инкубаторе в течение 2-3 мин. 5 мл культуральной среды для клеток добавляли для терминирования после полного трипсинолиза клеток и затем переносили в пробирку для центрифугирования. Центрифугирование проводили при 1000 об/мин в течение 8 мин. Надосадочную жидкость выбрасывали, клетки суспендировали и считали и суспензию разбавляли до 4×10⁵ клеток на мл. Клеточную суспензию помещали в 384-луночный белый планшет для

клеток при 25 мкл на лунку. Планшет для клеток центрифугировали при 300 об/мин в течение 1 мин и выдерживали в 5% CO₂ инкубаторе при 37°C в течение 24 ч. На второй день 300 нл 100X соединений переносили в планшет для клеток из планшета для соединений. Планшет для клеток центрифугировали при 300 об/мин в течение 1 мин и выдерживали в 5% CO₂ инкубаторе при 37°C в течение 72 ч. На пятый день, планшет для клеток и Bright-Glo люциферазный реагент извлекали и уравнивали до комнатной температуры. Bright-Glo люциферазный реагент добавляли в клеточный планшет (30 мкл на лунку). Планшет для клеток центрифугировали при 1000 об/мин в течение 1 мин и выдерживали при комнатной температуре в течение 2 мин. Флуоресцентный сигнал измеряли на планшетном ридере.

Обработка данных.

Концентрационную кривую испытуемых соединений строили, применяя программное обеспечение Prism 5 и рассчитывали величины EC₅₀.

Таблица 12

Соединение No.	10-227 примера 27	Контрольное соединение 3	рифампицин
EC ₅₀ (мкМ)	122,8	5,641	1,828

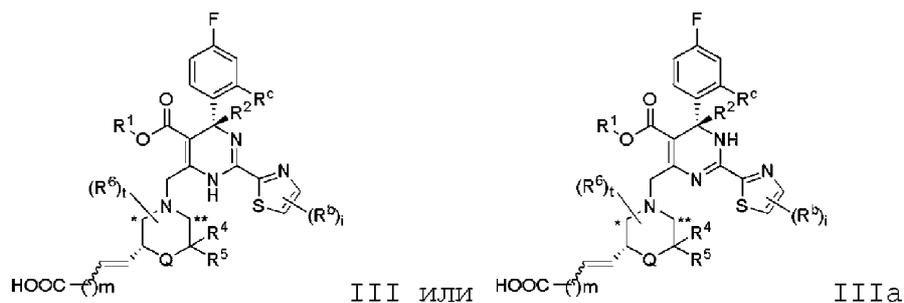
Как показано в табл. 12, по сравнению с контрольным соединением 3 и рифампицином, соединение настоящего изобретения (например, 10-227 примера 27) обладает меньшим индуктивным эффектом на СYP450 изоформу 3A4 и, таким образом, обладает лучшей безопасностью.

Как показано на фигуре, при концентрации 10 мкМ, по сравнению с контрольным соединением 3 и рифампицином, соединение настоящего изобретения (например, 10-227 примера 27) обладает меньшим индуктивным эффектом на СYP450 изоформу 3A4, который составляет приблизительно 29% индуктивного эффекта рифампицина; тогда как индуктивный эффект контрольного соединения 3 на СYP450 изоформу 3A4 при той же концентрации является сравнимым с индуктивным эффектом рифампицина. Данные выше указывают на то, что соединение настоящего изобретения (например, 10-227 примера 27) обладает лучшей безопасностью.

В дополнение к тому, что описано в изобретении, согласно описанию выше, различные модификации изобретения будут очевидны специалисту в данной области техники. Предполагается, что данные модификации попадают в объем прилагаемой формулы изобретения. Каждая ссылка, приводимая в настоящем изобретении (включая все патенты, патентные заявки, журнальные статьи, книги и любые другие описания), включены в настоящее изобретение с помощью ссылки во всей своей полноте.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

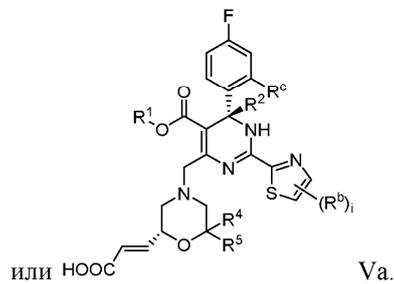
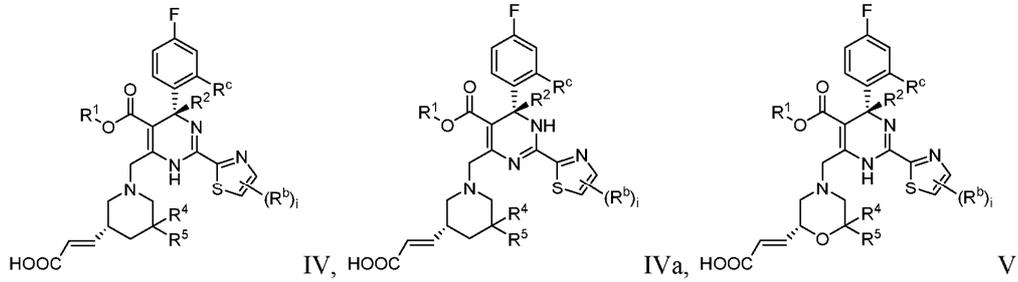
1. Соединение или его стереоизомер или таутомер, где соединение имеет следующую структуру:



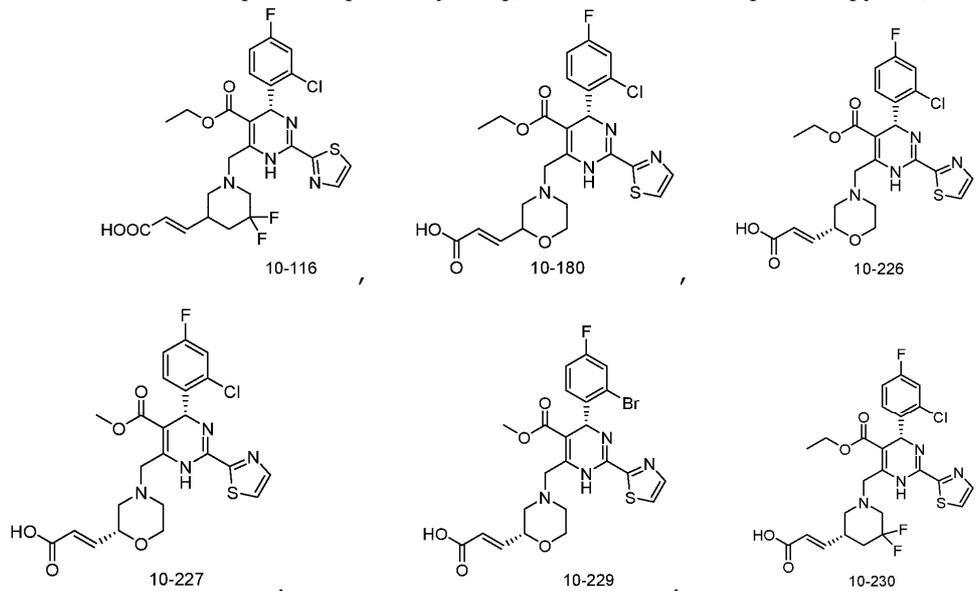
- где R¹ представляет собой C₁₋₆ алкил;
 R² представляет собой H;
 Q представляет собой -(CR^aR^{a'})_g- или -O-;
 каждый R^a и R^{a'} представляют собой H;
 R⁴ и R⁵ представляют собой H или галоген;
 R⁶ представляют собой H;
 каждый R^b при каждом появлении независимо выбран из группы, состоящей из H, C₁₋₆ галогеналкила и C₁₋₆ алкила;
 каждый R^c при каждом появлении независимо выбран из группы, состоящей из Cl, Br, C₁₋₆ галогеналкила и C₁₋₆ алкила;
 R⁶ присоединен к кольцевому атому (атомам) углерода, обозначенному * или **, в общей формуле;
 g равен 1;
 i равен 1;
 m равен 0; и
 t равен 1.

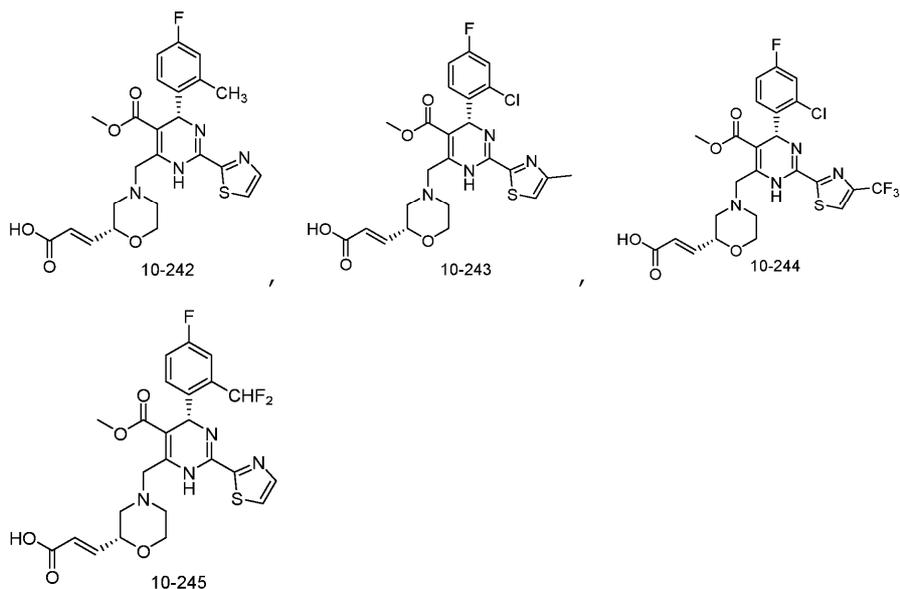
2. Соединение по п.1 или его стереоизомер или таутомер, где каждый R^b при каждом появлении независимо выбран из группы, состоящей из H и C_{1-6} алкила; каждый R^c при каждом появлении независимо выбран из группы, состоящей из Cl, Br и C_{1-6} алкила.

3. Соединение по п.1 или 2 или его стереоизомер или таутомер, где соединение имеет следующую структуру:



4. Соединение или его стереоизомер или таутомер, где соединение выбрано из группы, состоящей из





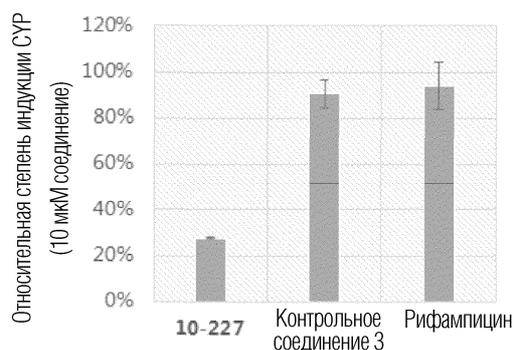
5. Фармацевтическая композиция, обладающая противовирусной активностью, содержащая профилактически или терапевтически эффективное количество соединения по любому из пп.1-4 или его стереоизомера или таутомера и один или более фармацевтически приемлемых носителей и фармацевтическая композиция представляет собой твердый, жидкий или трансдермальный состав.

6. Способ получения фармацевтической композиции по п.5, включающий смешение соединения по любому из пп.1-4 или его стереоизомера или таутомера и одного или более фармацевтически приемлемых носителей.

7. Применение соединения по любому из пп.1-4, или его стереоизомера или таутомера, или фармацевтической композиции по п.5 для получения лекарственного средства для предотвращения или лечения вирусного заболевания.

8. Применение по п.7, где лекарственное средство представляет собой лекарственное средство для перорального, внутривенного, внутриартериального, подкожного, интраперитонеального, внутримышечного или трансдермального введения.

9. Применение по п.7, где вирусное заболевание выбрано из группы, состоящей из вирусного гепатита типа А, вирусного гепатита типа В, вирусного гепатита типа С, гриппа, герпеса и синдрома приобретенного иммунодефицита (СПИД).



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

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