

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 040080

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.04.18

(21) Номер заявки
201891576

(22) Дата подачи заявки
2017.01.05

(51) Int. Cl. C07D 471/04 (2006.01)
C07D 487/04 (2006.01)
A61K 31/437 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
A61P 31/16 (2006.01)

(54) ФУНКЦИОНАЛИЗИРОВАННЫЕ ПЕНТАНОВЫЕ КИСЛОТЫ, ИХ
ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ, ЛЕКАРСТВЕННОЕ СРЕДСТВО И
ПРИМЕНЕНИЕ

(31) 16150457.6

(32) 2016.01.07

(33) EP

(43) 2018.11.30

(86) PCT/EP2017/050175

(87) WO 2017/118680 2017.07.13

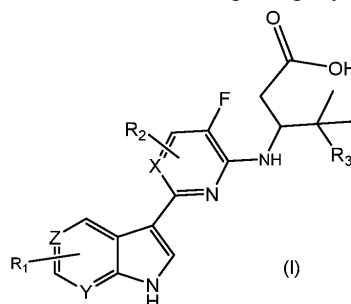
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ЯНССЕН САЙЕНСИЗ АЙРЛЭНД
ЮСИ (IE)

(56) WO-A1-2013019828
WO-A1-2013184985
WO-A1-2016183120
WO-A1-2016020526
WO-A1-2016037953

(72) Изобретатель:
Гийэмон Жером Эмиль Жорж (FR),
Балеманс Уэнди Миа Альберт,
Мак Гоуен Дэвид Крейг (BE), Мотт
Магали Мадлен Симон, Лансуа Давид
Франсис Ален, Ламбер Эмили Мари
(FR)

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

(57) Настоящее изобретение относится к соединениям, характеризующимся структурой формулы (I)



их стереоизомерной форме или фармацевтически приемлемой соли, где Y представляет собой N, X представляет собой C или N, Z представляет собой C или N, R₁ представляет собой галоген или H, R₂ представляет собой H или CN и R₃ представляет собой пиридил, тиафенил, пиразолил, тиазолил или оксетанил, необязательно замещенный C₁₋₆-алкилом, которые могут быть использованы для лечения инфекций, вызванных вирусом гриппа, или их предотвращения.

B1

040080

040080

B1

Грипп представляет собой серьезную проблему общественного здравоохранения, причем высокий уровень заболеваемости среди населения приводит к постоянной массовой заболеваемости и смертности. Грипп является острым инфекционным заболеванием, передающимся воздушно-капельным путем, которое служит причиной острого лихорадочного заболевания. Системные симптомы различаются по степени тяжести от легкой утомляемости до дыхательной недостаточности и смерти. Согласно ВОЗ среднее глобальное бремя ежегодных эпидемий по всему миру может составлять порядка 1 миллиарда случаев, 3-5 миллионов случаев тяжелого заболевания и 300000-500000 случаев смерти ежегодно. Ежегодно вирусы гриппа распространяются среди людей, как правило, поражая 5-20% населения во всех возрастных группах, причем эта цифра увеличивается до 30% во время крупных эпидемий. Самые высокие показатели заболеваемости с тяжелой стадией и смертности приходится на лиц в возрасте >65 лет, детей в возрасте <2 лет и лиц любого возраста, имеющих медицинские состояния, подвергающие их увеличенному риску осложнений при гриппе, такие как хронические заболевания сердца, легких, почек, печени, крови, или метаболические заболевания, или ослабленные иммунные системы. Хотя случаи смерти не являются частыми среди детей, показатели госпитализации варьируют от приблизительно 100 до 500 на 100000 детей в возрасте <5 лет в зависимости от наличия или отсутствия сопутствующих состояний. Показатели госпитализации среди детей в возрасте <24 месяцев сопоставимы с показателями, указанными для лиц в возрасте >65 лет.

В США ежегодные эпидемии гриппа приводят к приблизительно 30 миллионам амбулаторных приемов, в результате чего стоимость медицинского обслуживания обходится в \$10 миллиардов ежегодно. Недополученные доходы вследствие болезни и смертельного исхода составляют затраты более \$15 миллиардов ежегодно, и общая нагрузка на экономику от ежегодных эпидемий гриппа в США составляет более \$85 миллиардов.

Патогены, вызывающие грипп, представляют собой одноцепочечные РНК-вирусы с отрицательной полярностью, которые относятся к семейству Orthomyxoviridae. Существует три типа вирусов гриппа: А, В и С. Вирусы гриппа А представляют собой наиболее известную форму, которая может распространяться среди млекопитающих и птиц. Подтипы вируса гриппа А названы в соответствии с типами поверхностных белков: гемагглютинина (H) и нейраминидазы (N). Существует 18 разных типов гемагглютинина и 11 известных типов нейраминидазы. В настоящее время вирусы сезонного гриппа, обнаруживаемые у людей, главным образом представляют собой подтипы H1N1 и H3N2. Вирусы гриппа В обычно встречаются только у людей. Они не делятся на подтипы, но могут быть дополнительно подразделены на разные штаммы. Циркулирующие вирусы гриппа являются крайне изменчивыми каждый год, и как грипп А, так и грипп В являются причиной сезонных эпидемий по всему миру. Вирусы гриппа С приводят к появлению более слабых симптомов, которые не вызывают эпидемий.

Все три типа вирусов имеют подобные геномные структуры. Геном содержит 8 сегментов, кодирующих 9-11 белков в зависимости от типа. При вирусе гриппа А кодируются 11 белков, в том числе поверхностные белки (гемагглютинин (HA) и нейраминидаза (NA)), полимеразный комплекс (PA, PB1 и PB2), нуклеопротеин (NP), мембранные белки (M1 и M2) и другие белки (NS1, NS2, NEP). Среди трех типов вируса гриппа грипп А характеризуется наиболее высоким показателем мутации. Грипп В эволюционирует медленнее, чем А, но быстрее, чем С. Сегментированный геном обеспечивает обмен генами между разными вирусными штаммами, вследствие чего образуются новые варианты вирусов гриппа.

Вирус гриппа может передаваться между людьми путем прямого контакта с инфицированными индивидуумами или материалом, зараженным вирусом. Инфицирование также может произойти путем вдыхания взвешенных капелек с вирусом из воздуха. Эти капельки образуются при кашле, чихании или во время разговора инфицированных индивидуумов. Сезонный грипп характеризуется внезапным появлением высокой температуры, кашля (обычно сухого), головной боли, мышечной боли и боли в суставах, сильного недомогания (ухудшения самочувствия), боли в горле и насморка. Кашель может быть сильным и может длиться две или более недель. Большинство людей избавляются от температуры и других симптомов в течение недели без необходимости медицинской помощи. Но грипп может привести к тяжелой болезни или смерти, особенно у людей с высоким риском, как указано выше. Период времени от момента инфицирования до проявления симптомов болезни, известный как инкубационный период, составляет приблизительно два дня.

Наиболее эффективным способом предупреждения заболевания и/или тяжелых последствий болезни является вакцинация. Безопасные и эффективные вакцины являются доступными и применяются в течение более 60 лет. Вакцины против гриппа среди здорового взрослого населения могут обеспечивать надлежащую защиту. Тем не менее, вакцинация сопровождается некоторыми ограничениями. Во-первых, вакцина против гриппа может быть менее эффективной при предупреждении болезни среди пожилых людей и может лишь снизить степень тяжести заболевания и частоту возникновения осложнений и смертей. Кроме того, вакцинация против гриппа наиболее эффективна, если циркулирующие вирусы хорошо совместимы с вирусами вакцины, и успех вакцинации во многом зависит от оптимального прогноза наиболее распространенного типа вируса сезона. Быстрая и непрерывная эволюция штаммов вируса гриппа благодаря антигенному дрейфу, связанному с непродолжительной природой индуцированных вакциной иммунных ответов на традиционные вакцины против гриппа, означает, что вакцинация соот-

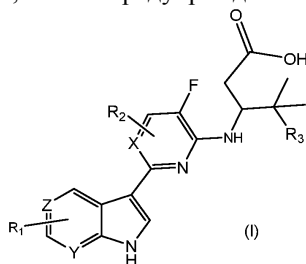
ветствующими сезонам штаммами необходима каждый год для предупреждения.

При традиционном лечении гриппа применяют либо противовирусные лекарственные средства прямого действия, либо терапевтические средства, облегчающие индуцированные гриппом симптомы. Существует два класса противовирусных лекарственных средств против гриппа, доступных на рынке: ингибиторы нейраминидазы и ингибиторы M2-каналов. Ингибиторы нейраминидазы, осельтамивир или занамивир, являются основными противовирусными средствами, рекомендуемыми при предупреждении и лечении гриппа.

Они являются эффективными против вирусов гриппа как типа А, так и типа В. Развитие устойчивости к данным противовирусным лекарственным средствам было обнаружено во время лечения сезонного гриппа и в спорадическом вирусе H1N1 в 2009 г., устойчивом к осельтамивиру, но воздействие на общественное здравоохранение было ограничено до настоящего времени. Ингибиторы M2-каналов, такие как амантадин и римантадин (амантадины), являются активными в отношении штаммов гриппа А, но не штаммов гриппа В. Устойчивость к адамантану среди циркулирующих вирусов гриппа А стремительно возросла во всем мире, начиная с 2003-2004 гг. Следовательно, амантадин и римантадин не рекомендуются для противовирусного лечения или химиопрофилактики циркулирующих в настоящее время штаммов вируса гриппа А.

В 2009 году новый штамм свиного гриппа H1N1 вызвал неожиданную пандемию гриппа в результате реассортации генов вирусов человеческого, свиного и птичьего гриппа H1N1. Данная прошедшая пандемия наряду с продолжающейся циркуляцией высокопатогенных штаммов птичьего гриппа H5N1 и недавним появлением вируса H7N9, нового птичьего реассортанта, выделенного в Китае и ассоциированного с тяжелым респираторным заболеванием с 40% смертностью, которые потенциально могут приспособиться для передачи от человека к человеку, продемонстрировали уязвимость мирового населения к новым штаммам вируса гриппа. Хотя вакцинация остается основной профилактической методикой для контроля инфекции гриппа, необходим более широкий выбор противогриппозных лекарственных средств для преодоления периода, пока новая вакцина не станет доступной, и для лечения тяжелых случаев гриппа, а также для противостояния проблеме устойчивости вирусов. Следовательно, разработка новых противовирусных препаратов от гриппа вновь стала высокоприоритетной и нерешенной потребностью медицины.

Настоящее изобретение относится к соединению формулы (I), которое можно применять для лечения инфекций, вызванных вирусом гриппа, или их предупреждения:



его стереоизомерной форме или фармацевтически приемлемой соли, где

Y представляет собой N, X представляет собой C, R₁ представляет собой галоген, R₂ представляет собой CN, R₃ представляет собой гетероцикл, выбранный из пиридила, тиофенила, пирозолила, тиазолила или оксетанила;

или где

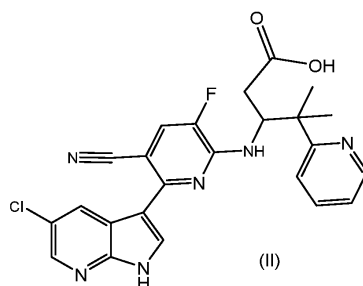
Y представляет собой N, X представляет собой N, R₁ представляет собой галоген, R₂ представляет собой H, R₃ представляет собой гетероцикл, выбранный из пиридила, тиофенила, пирозолила, тиазолила или оксетанила;

или где

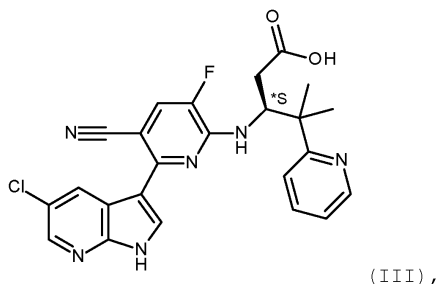
Y представляет собой N, X представляет собой C или N, Z представляет собой C или N, R₁ представляет собой галоген или H, R₂ представляет собой H или CN, R₃ представляет собой гетероцикл, выбранный из пиридила, тиофенила, пирозолила, тиазолила или оксетанила.

Предпочтительно соединение согласно настоящему изобретению представляет собой соединение формулы (I), где R₁ представляет собой хлор или фтор и R₃ представляет собой гетероцикл, выбранный из пиридила, тиофенила, пирозолила, тиазолила или оксетанила, при этом указанный гетероцикл необязательно может быть замещен C₁₋₆алкилом.

Одно из наиболее предпочтительных соединений согласно настоящему изобретению характеризуется структурной формулой (II)



Наиболее предпочтительное соединение согласно настоящему изобретению характеризуется следующей структурой (III)



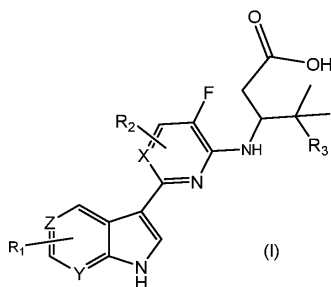
Часть настоящего изобретения представляет собой также фармацевтическую композицию, содержащую соединение формул (I), (II) или (III), их стереоизомерную форму или фармацевтически приемлемую соль вместе с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми наполнителями, разбавителями или носителями.

Фармацевтическая композиция может также содержать дополнительные терапевтические средства, например другое противовирусное средство, или вакцину против гриппа, или как другое противовирусное средство, так и вакцину против гриппа.

Настоящее изобретение также относится к соединению формул (I), (II) или (III), их стереоизомерной форме или фармацевтически приемлемой соли или к фармацевтической композиции для применения в качестве лекарственного препарата.

Кроме того, настоящее изобретение относится к соединению формул (I), (II) или (III), их стереоизомерной форме или фармацевтически приемлемой соли или к фармацевтической композиции для применения при лечении гриппа.

Таким образом, частью настоящего изобретения является применение соединения, представленного следующей структурной формулой (I)



его стереоизомерной формы или фармацевтически приемлемой соли, где

Y представляет собой N, X представляет собой C, R₁ представляет собой галоген, R₂ представляет собой CN и R₃ представляет собой гетероцикл, выбранный из пиридила, тиофенила, пирозолила, тиазолила или оксетанила;

или где

Y представляет собой N, X представляет собой N, R₁ представляет собой галоген, R₂ представляет собой H и R₃ представляет собой гетероцикл, выбранный из пиридила, тиофенила, пирозолила, тиазолила или оксетанила;

или где

Y представляет собой N, X представляет собой C или N, Z представляет собой C или N, R₁ представляет собой галоген или H, R₂ представляет собой H или CN и R₃ представляет собой гетероцикл, выбранный из пиридила, тиофенила, пирозолила, тиазолила или оксетанила, для подавления репликации вируса(вирусов) гриппа в биологическом образце или у пациента.

Указанное применение может также включать совместное введение дополнительного терапевтического средства, где указанное дополнительное терапевтическое средство выбрано из противовирусного средства или вакцины против гриппа или представляет собой как противовирусное средство, так и вак-

цину против гриппа.

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

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

Соединения согласно настоящему изобретению или любая их подгруппа могут быть составлены в различные фармацевтические формы для целей введения. В качестве подходящих композиций могут быть упомянуты все композиции, обычно применяемые для системно вводимых лекарственных средств. Для получения фармацевтических композиций согласно настоящему изобретению эффективное количество конкретного соединения, необязательно в форме соли присоединения, в качестве активного ингредиента объединяют в однородную смесь с фармацевтически приемлемым носителем, при этом носитель может принимать широкое разнообразие форм в зависимости от формы препарата, требуемой для введения. Данные фармацевтические композиции предпочтительно представлены в виде единичной лекарственной формы, подходящей, например, для перорального, ректального или чрескожного введения. Например, при получении композиций в пероральной лекарственной форме можно применять любую из общепринятых фармацевтических сред, такую как, например, вода, гликоли, масла, спирты и т.п., в случае пероральных жидких препаратов, таких как суспензии, сиропы, настойки, эмульсии и растворы; или твердых носителей, таких как крахмалы, сахара, каолин, разбавители, смазывающие средства, связывающие средства, разрыхлители и т.п., в случае порошков, пилюль, капсул и таблеток. Благодаря своей простоте введения таблетки и капсулы представляют собой наиболее преимущественные стандартные лекарственные формы для перорального введения, в случае которых, несомненно, используют твердые фармацевтические носители. Также включены препараты в твердой форме, которые можно преобразовать в жидкие формы непосредственно перед применением. В композициях, подходящих для чрескожного введения, носитель необязательно содержит средство, повышающее проницаемость, и/или подходящее смазывающее средство, необязательно объединенное с подходящими добавками любой природы в минимальных пропорциях, при этом добавки не оказывают значительного вредного воздействия на кожу. Указанные добавки могут облегчать введение в кожу и/или могут быть полезными при получении необходимых композиций. Данные композиции можно вводить различными путями, например, посредством трансдермального пластыря, путем точечного нанесения или в виде мази. Соединения согласно настоящему изобретению можно также вводить посредством ингаляции или инсуффляции с помощью способов и составов, применяемых в данной области для введения таким путем. Таким образом, соединения согласно настоящему изобретению в основном можно вводить в легкие в форме раствора, суспензии или сухого порошка.

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

Специалисты в области лечения инфекционных заболеваний смогут определить эффективное количество, исходя из результатов тестов, представленных далее в данном документе. В целом, предполагается, что эффективное суточное количество будет составлять от 0,01 до 50 мг/кг веса тела, более предпочтительно от 0,1 до 10 мг/кг веса тела. Может оказаться целесообразным вводить требуемую дозу в виде двух, трех, четырех или более частей дозы с соответствующими интервалами на протяжении дня. Указанные части дозы можно составлять в виде единичных лекарственных форм, например, содержащих от 1 до 1000 мг и, в частности, от 5 до 200 мг активного ингредиента на единичную лекарственную форму.

Точная дозировка и частота введения зависят от конкретного применяемого соединения формулы (I), конкретного состояния, подлежащего лечению, тяжести состояния, подлежащего лечению, возраста,

массы и общего физического состояния конкретного пациента, а также другого медикаментозного лечения, которое может получать индивидуум, что хорошо известно специалистам в данной области. Более того, очевидно, что эффективное количество может быть снижено или увеличено в зависимости от реакции подвергаемого лечению субъекта и/или в зависимости от оценки врача, назначающего соединения согласно настоящему изобретению. Следовательно, вышеупомянутые диапазоны эффективного количества являются только рекомендациями и не предназначены для ограничения объема или применения настоящего изобретения.

Подразумевается, что настоящее изобретение также включает любые изотопы атомов, присутствующие в соединениях согласно настоящему изобретению. Например, изотопы водорода включают тритий и дейтерий, а изотопы углерода включают C-13 и C-14.

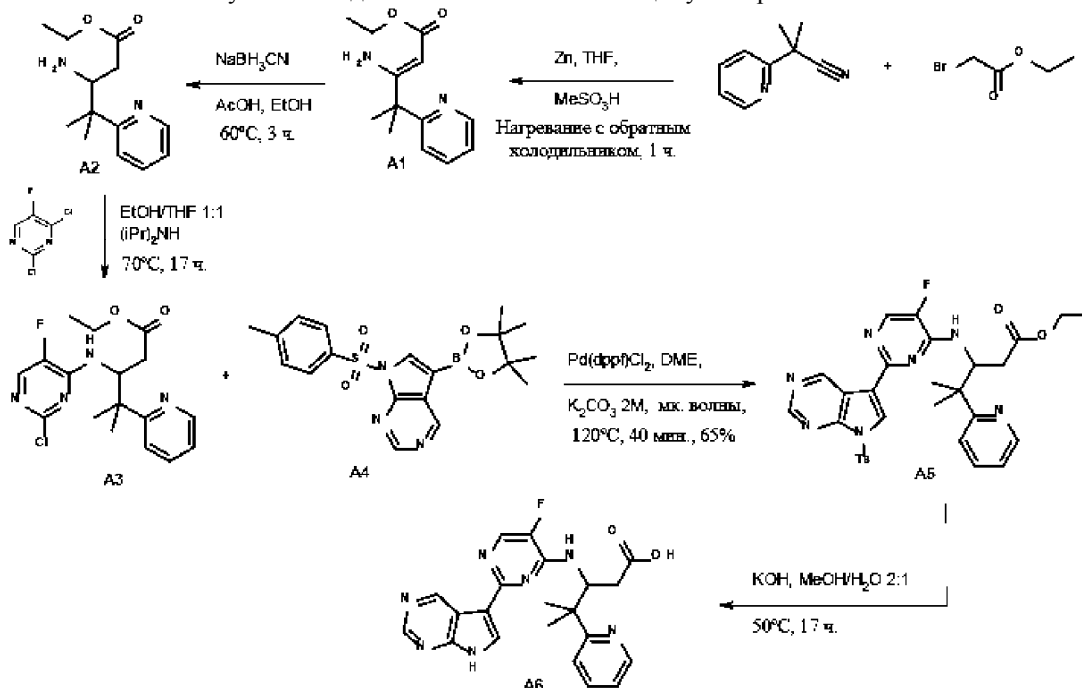
Данные соединения, применяемые в настоящем изобретении, могут также существовать в стереохимически изомерной форме с определением всех возможных соединений, составленных из одних и тех же атомов, связанных с помощью такой же последовательности связей, однако, имеющих разные пространственные структуры, которые не являются взаимозаменяемыми. Если не упомянуто или не указано иное, то химическое обозначение соединений охватывает смесь всех возможных стереохимически изомерных форм, которые могут иметь указанные соединения.

Указанная смесь может содержать все диастереомеры и/или энантиомеры с основной молекулярной структурой указанного соединения. Подразумевается, что все стереохимически изомерные формы соединений, применяемые в настоящем изобретении либо в чистом виде, либо в смеси друг с другом, предназначены для включения в объем настоящего изобретения, в том числе любые рацемические смеси или рацематы.

Чистые стереоизомерные формы упомянутых в данном документе соединений и промежуточных соединений определяются как изомеры, по сути не содержащие других энантиомерных или диастереомерных форм с той же основной молекулярной структурой указанных соединений или промежуточных соединений. В частности, термин "стереоизомерно чистый" относится к соединениям или промежуточным соединениям, характеризующимся стереоизомерным избытком, составляющим от по меньшей мере 80% (т.е. минимум 90% одного изомера и максимум 10% других возможных изомеров) до 100% (т.е. 100% одного изомера и отсутствие другого), более конкретно, к соединениям или промежуточным соединениям, характеризующимся стереоизомерным избытком, составляющим от 90 до 100%, еще более конкретно, характеризующимся стереоизомерным избытком, составляющим от 94 до 100%, и наиболее конкретно, характеризующимся стереоизомерным избытком, составляющим от 97 до 100%. Термины "энантиомерно чистый" и "диастереомерно чистый" следует понимать подобным образом, но в таком случае в отношении соответственно энантиомерного избытка и диастереомерного избытка рассматриваемой смеси.

Чистые стереоизомерные формы соединений и промежуточных соединений, применяемые в настоящем изобретении, можно получить посредством применения процедур, известных в данной области техники. Например, энантиомеры можно отделять друг от друга с помощью селективной кристаллизации их диастереомерных солей с оптически активными кислотами или основаниями. Их примерами являются винная кислота, дибензоилвинная кислота, дитолуоилвинная кислота и камфорсульфоновая кислота. В качестве альтернативы энантиомеры можно разделять с помощью хроматографических методик с применением хиральных неподвижных фаз. Указанные чистые стереохимически изомерные формы также можно получить из соответствующих чистых стереохимически изомерных форм соответствующих исходных веществ при условии, что реакция протекает стереоспецифически. Предпочтительно, если требуется определенный стереоизомер, то указанное соединение будет синтезировано с помощью стереоспецифических способов получения. В данных способах преимущественно будут применяться энантиомерно чистые исходные вещества.

Получение соединений согласно настоящему изобретению.



Получение промежуточного соединения A1

Метансульфовую кислоту (1,3 мл, 20,4 ммоль) добавляли в суспензию активированного Zn (17,4 г, 267 ммоль) в THF (150 мл) при к.т. Реакционную смесь перемешивали при нагревании с обратным холодильником в течение 15 мин и добавляли раствор 2-метил-2-(2-пиридил)пропаннитрила [CA-81039-18-1] (7,8 г, 55,3 ммоль) в THF (50 мл). Затем по каплям добавляли раствор этилбромацетата (17,8 мл, 160 ммоль) в THF (50 мл) в течение 45 мин при нагревании с обратным холодильником. Реакционную смесь перемешивали при нагревании с обратным холодильником в течение 1 ч. Добавляли водный насыщенный раствор NaHCO_3 и промывали с помощью EtOAc. Объединенные органические слои высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали. Остаток очищали с помощью препаративной LC (SiOH с зернами неправильной формы, 15-40 мкм, GraceResolv, подвижная фаза) с применением градиента циклогексан/EtOAc. Чистые фракции собирали и выпаривали с получением 12,8 г промежуточного соединения A1 в виде бесцветной жидкости (колич.).

Получение промежуточного соединения A2

NaBH_3CN (1,9 г; 30,7 ммоль) добавляли в раствор промежуточного соединения A1 (6 г; 25,6 ммоль) в EtOH (300 мл) и AcOH (28 мл). Полученную смесь нагревали при 60°C в течение 3 ч. Водный насыщенный раствор NaHCO_3 и затем водный слой экстрагировали с помощью EtOAc. Объединенные органические слои высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали в вакууме с получением 3,6 г промежуточного соединения A2 (59%) в виде желтого масла.

Получение соединения A3

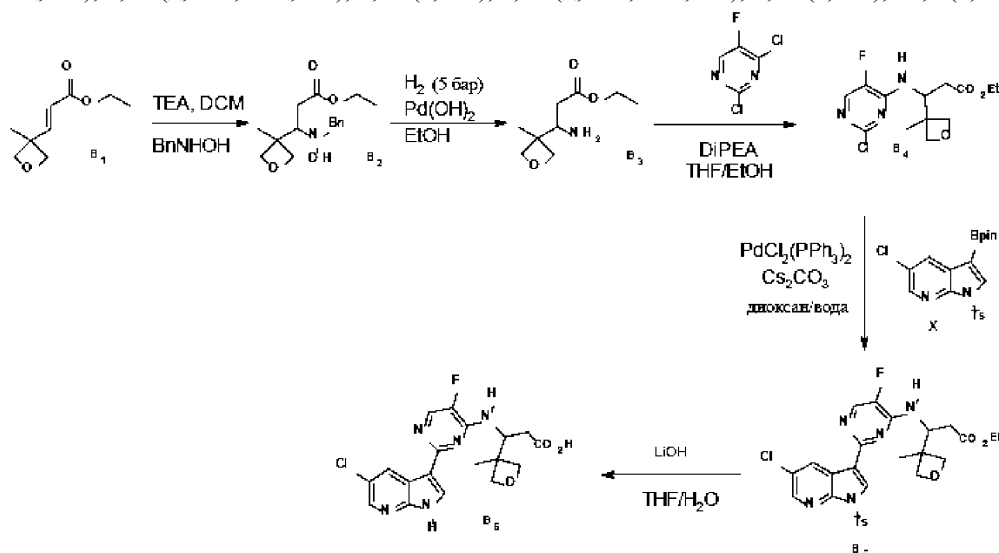
Раствор промежуточного соединения A2 (1,8 г, 7,62 ммоль), 2, 4-дихлор-5-фторпиримидин (31,15 г, 6,9 ммоль) и диизопропиламин (7,6 мл, 41,55 ммоль) перемешивали и нагревали при 70°C в течение 17 ч. В реакционную смесь добавляли воду и затем дважды экстрагировали водный слой с помощью EtOAc. Органические слои собирали, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и выпаривали с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали с помощью хроматографии на силикагеле (SiOH с зернами неправильной формы, 15-40 мкм, 80 г, GraveREsolv) с применением градиента гептан/EtOAc. Фракции объединяли и растворитель удаляли с получением соединения A3, 2,08 г, 65% бесцветного масла.

Получение соединения A5

Раствор промежуточного соединения A4 [CAS-934178-97-9] (273 мг, 0,7 ммоль), промежуточного соединения A3 (275,9 мг, 0,8 ммоль) и K_2CO_3 (1 мл, 2 М, 2,1 ммоль) в DME (3 мл) продували с помощью потока N_2 в течение 5 мин и затем добавляли $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ (56 мг, 0,07 ммоль). Полученную смесь перемешивали и нагревали при 120°C с применением одномодового микроволнового реактора (Biotage initiator60) с выходной мощностью в диапазоне от 0 до 400 Вт в течение 40 мин. Смесь выливали в воду и DCM, органический слой отделяли с помощью гидрофобной фритты и выпаривали до сухого состояния. Очистку проводили с помощью флэш-хроматографии на силикагеле (SiOH с зернами неправильной формы, 15-35 мкм, 40 г, гептан/EtOAc от 100/0 до 80/20). Чистые фракции собирали и выпаривали с получением промежуточного соединения A5 в виде бесцветного масла, 0,270 г, 65%. Получение соединения A6 KOH (24 8,4 мг, 4,4 ммоль) добавляли в раствор соединения A5 (270 мг, 0,4 ммоль) в смеси MeOH/вода

([2:1], 0,75 мл]. Полученный раствор перемешивали и нагревали при 50°C в течение 17 ч. Раствор охлаждали до комнатной температуры. Добавляли DCM (2 мл), смесь нейтрализовали с помощью 3 н. HCl. Слои разделяли через гидрофобную фритту. Органический слой высушивали над MgSO₄, фильтровали и выпаривали. Очистку осуществляли с помощью препаративной обращенной фазы (неподвижная фаза: X-Bridge-C18, 5 мкм, 30×150 мм, подвижная фаза: градиент от 90% NH₄HCO₃, 0,5%, 10% ACN до 50% NH₄HCO₃, 0,5%, 50% ACN). Чистые фракции собирали и выпаривали. Полученное твердое вещество высушивали при пониженном давлении при 40°C в течение 5 ч с получением соединения A6, 0,11 г, 4,6%. т.пл.°C: 158.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ м.д. 1,30 (с, 3H), 1,38 (с, 3H), 2,01 (дд, J=15,4 Гц, 2,8 Гц, 1H), 2,38 (м, 2H), 5,65 (м, 1H), 7,23 (дд, J=7,9 Гц, 5,0 Гц, 1H), 7,44 (д, J=7,9 Гц, 1H), 7,73 (тд, J=8,9 Гц, 1,9 Гц, 1H), 8,04 (уш д, J=8,2 Гц, 1H), 8,13 (д, J=4,1 Гц, 1H), 8,16 (с, 1H), 8,76 (д, J=3,8 Гц, 1H), 8,85 (с, 1H), 10,2 (с, 1H).



Получение промежуточного соединения B2

В атмосфере азота добавляли TEA (0,87 мл, 6,3 ммоль) в смесь соединения B1 [1123787-64-3] (710 мг, 4,2 ммоль) и гидрохлорида N-бензилгидроксиламина (0,87 г, 5,4 ммоль) в сухом DCM (27 мл) и перемешивали при к.т. в течение ночи. Смесь концентрировали с получением остатка, который очищали с помощью препаративной LC (неподвижная фаза: Interchim, 30 мкм, 24 г, градиент подвижной фазы: гептан/EtOAc от 90/10 до 60/40) с получением 561 мг (46%) соединения B2 в виде бесцветного масла.

Получение промежуточного соединения B3

В нержавеющей бомбе перемешивали раствор соединения B2 (561 мг, 1,9 ммоль) и катализатора Перлмана (537 мг; 38 мкмоль) в EtOH (22 мл) в атмосфере H₂ (5 бар) в течение ночи. Смесь разбавляли с помощью AcOEt и фильтровали через слой Celite®. Растворитель удаляли в вакууме с получением соединения B3 (311 мг, бесцветное масло, 87%).

Получение промежуточного соединения B4

2,4-Дихлор-5-фторпиримидин (0,138 г; 0,828 ммоль), DIPEA (0,71 мл; 4,1 ммоль), соединение B3 (0,155 г; 0,828 ммоль) в THF (2,1 мл) и EtOH (2,1 мл) нагревали при 90°C в течение 18 ч в герметизированной пробирке. Добавляли EtOAc и промывали дважды солевым раствором. Органический слой высушивали над MgSO₄, фильтровали и выпаривали в вакууме с получением бесцветного масла, которое очищали с помощью препаративной LC (SiOH с зернами правильной формы, 30 мкм, 24 г, Interchim, градиент подвижной фазы: от гептан/EtOAc 80/20 до 50/50) с получением 170 мг соединения B4 в виде белого твердого вещества (65%).

Получение промежуточного соединения B5

В атмосфере N₂ в герметизированной пробирке смесь соединения X (141 мг; 0,29 ммоль, 90% чистоты), B4 (85 мг; 0,27 ммоль) и Cs₂CO₃ (0,31 г; 0,94 ммоль) в 1,4-диоксане (2,3 мл) и воде (0,72 мл) дегазировали с помощью N₂ в течение 5 мин. Добавляли PdCl₂(PPh₃)₂ (19 мг; 27 мкмоль) и снова дегазировали реакционную смесь с помощью N₂ в течение 2 мин. Реакционную смесь нагревали при 90°C в течение 1 ч 30 мин. Реакционную смесь охлаждали до к.т. DCM и солевой раствор добавляли в реакционную смесь. Водный слой экстрагировали с помощью DCM. Объединенные органические слои промывали, высушивали над MgSO₄, отфильтровывали и концентрировали до сухого состояния с получением остатка, который очищали с помощью препаративной LC (SiOH с зернами правильной формы, 30 мкм, 12 г, Interchim, градиент подвижной фазы: гептан/EtOAc от 85/15 до 60/40) с получением 89 мг соединения B5 в виде белого твердого вещества (57%).

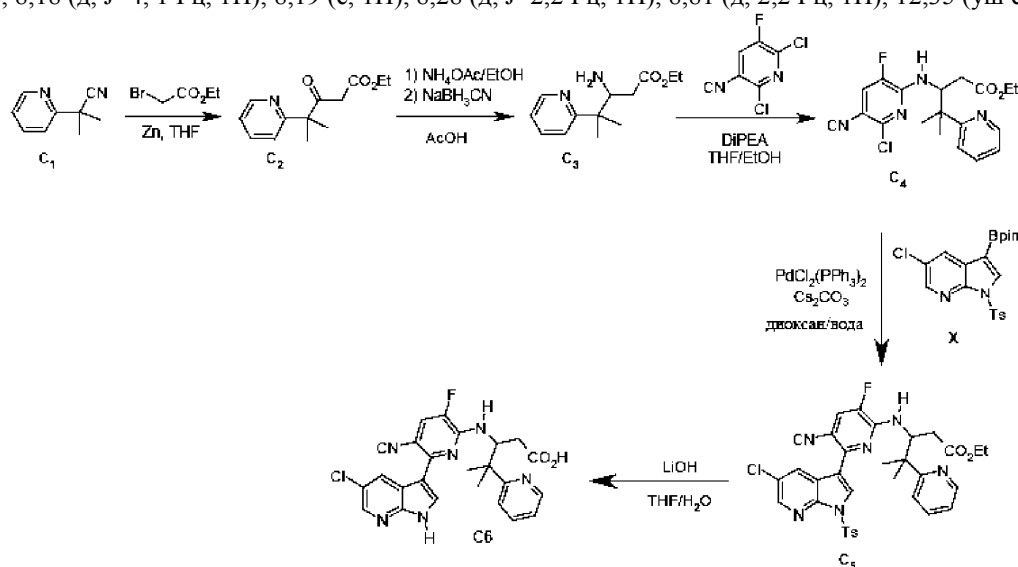
Получение соединения B6

Моногидрат LiOH (128 мг, 3,1 ммоль) добавляли в смесь соединения B5 (90 мг, 0,15 ммоль) в воде

(0,29 мл) и THF (0,84 мл). Смесь перемешивали в течение 18 ч при 60°C. Раствор нейтрализовали с помощью 3 н. HCl (внимание: предпочтительно оставаться при основном pH, в лучшем случае приблизительно 7-8) и растворитель выпаривали в вакууме с получением 250 мг остатка, который очищали с помощью обращенной фазы (неподвижная фаза: X-Bridge-C18, 5 мкм, 30×150 мм, подвижная фаза: градиент от 90% (водн. NH₄HCO₃, 0,5%), 10% MeCN до 50% (водн. NH₄HCO₃, 0,5%), 50% MeCN). Фракции, содержащие чистое соединение, выпаривали и полученное твердое вещество лиофилизировали в MeCN/H₂O с получением соединения B6 (18 мг, белое твердое вещество, 29%).

LC Масса Найденное значение $[M+H]^+ = 406,1$. $R_{f(\text{минуты})} = 1,78$ (способ A)

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ м.д. 1,39 (с, 3H), 2,45-2,55 (м, 1H), 2,58 (дд, J=15,8, 10,4 Гц, 1H), 4,10 (д, J=5,7 Гц, 1H), 4,19 (д, J=6,0 Гц, 1H), 4,51 (д, J=6,0 Гц, 1H), 4,73 (д, J=5,7 Гц, 1H), 5,18-5,30 (м, 1H), 7,77 (уш с, 1H), 8,18 (д, J=4, 1 Гц, 1H), 8,19 (с, 1H), 8,28 (д, J=2,2 Гц, 1H), 8,81 (д, 2,2 Гц, 1H), 12,35 (уш с, 2H).



Получение промежуточного соединения C2

Метансульфоновую кислоту (0,675 мл, 10,4 ммоль) добавляли в суспензию активированного Zn (8,94 г, 137 ммоль) в THF (60 мл) при к.т. Реакционную смесь перемешивали при нагревании с обратным холодильником в течение 15 мин и добавляли раствор соединения C1 [J. Org. Chem. 2013, 78, 762-769] (4,00 г, 27,4 ммоль) в THF (20 мл). Затем по каплям добавляли раствор этилбромацетата (9,14 мл, 82,1 ммоль) в THF (40 мл) при нагревании с обратным холодильником. Реакционную смесь перемешивали при нагревании с обратным холодильником в течение 1 ч. Добавляли водный насыщенный раствор NaHCO₃ и фильтровали смесь через целит. Фильтрат экстрагировали этилацетатом (2×15 мл), высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью препаративной LC (SiOH с зернами неправильной формы, 40-63 мкм, Fluka, загрузка жидкой фазой (DCM), подвижная фаза: DCM 100%) с получением 3,6 г промежуточного соединения C2 в виде желтой жидкости (56%).

Получение промежуточного соединения C3

В смесь промежуточного соединения C2 (2,3 г; 5,67 ммоль) в EtOH (50 мл) добавляли NH₄OAc (2,19 г; 28,3 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 80°C в течение 18 ч. Смесь охлаждали до к.т. и добавляли AcOH (6,17 мл; 108 ммоль) и коммерческий раствор NaBH₃CN 1 М в THF (85 мл; 85,0 ммоль) и нагревали реакцию смесь при 60°C в течение 4 ч. Добавляли водный насыщенный раствор NaHCO₃ и EtOAc. Водный слой экстрагировали с помощью EtOAc (дважды). Объединенные органические слои высушивали над MgSO₄, фильтровали и выпаривали в вакууме. Остаток очищали с помощью препаративной LC (SiOH с зернами неправильной формы 15-40 мкм, 80 г, GraceResolv, градиент подвижной фазы: от DCM/MeOH/водн. NH₃ 100/0/0 до 90/10/1) с получением 1,63 г промежуточного соединения C3 (колич.).

Получение промежуточного соединения C4

Промежуточное соединение C3 (1,80 г; 7,62 ммоль), 2,6-дихлор-3-циано-5-фторпиридин (1,46 г; 762 ммоль), DIPEA (6,65 мл; 38,1 ммоль) в THF (50 мл) и EtOH (50 мл) нагревали при 90°C в течение 18 ч.

Добавляли излишек 2,6-дихлор-3-циано-5-фторпиридина (0,145 г; 0,762 ммоль) и перемешивали реакцию смесь при 90°C в течение 4 ч. Добавляли воду и солевой раствор. Водный слой экстрагировали с помощью EtOAc (дважды). Объединенные органические слои высушивали над MgSO₄, фильтровали, выпаривали в вакууме и очищали с помощью препаративной LC (SiOH с зернами неправильной формы, 15-40 мкм, 120 г, GraceResolv, загрузка жидкой фазой (DCM), градиент подвижной фазы: гептан/EtOAc: от 90/10 до 60/40) с получением 1,76 г промежуточного соединения C4 (59%).

Получение соединения С5

В атмосфере N_2 в герметизированной пробирке смесь соединения X [CA-866546-11-4] (1,22 г; 2,83 ммоль), промежуточного соединения С4 (0,850 г; 2,18 ммоль) и Cs_2CO_3 (2,48 г; 7,61 ммоль) в диоксане (15 мл) и H_2O (6 мл) дегазировали с помощью N_2 в течение 5 мин. Добавляли $PdCl_2(PPh_3)_2$ (153 мг; 0,217 ммоль) и снова дегазировали реакционную смесь с помощью N_2 в течение 2 мин. Реакционную смесь нагревали при $90^\circ C$ в течение 2 ч.

Реакционную смесь охлаждали до к.т. EtOAc и солевой раствор добавляли в реакционную смесь. Водный слой экстрагировали с помощью EtOAc. Объединенные органические слои промывали с помощью солевого раствора, высушивали над $MgSO_4$, отфильтровывали, выпаривали в вакууме и очищали с помощью препаративной LC (SiOH с зернами неправильной формы, 15-40 мкм, 40 г, GraceResolv, сухая загрузка на SiOH, градиент подвижной фазы: гептан/EtOAc от 90/10 до 50/50) с получением 230 мг соединения С5 в виде твердого вещества (14%).

Получение соединения С6

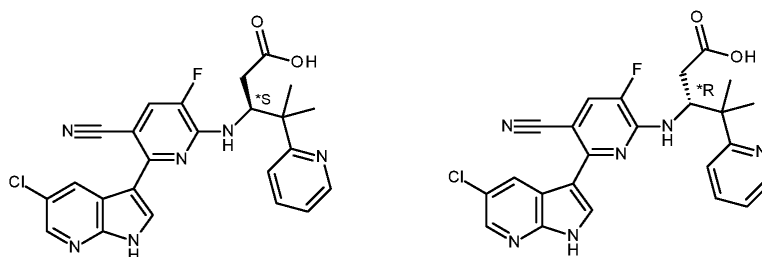
В герметизированной пробирке в раствор соединения X (300 мг; 0,227 ммоль) в THF (2 мл) и H_2O (0,7 мл) добавляли моногидрат LiOH (68 мг; 1,59 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при $25^\circ C$ в течение ночи.

Реакционную смесь выпаривали и очищали с помощью препаративной LC (SiOH с зернами неправильной формы, 15-40 мкм, 40 г, GraceResolv, сухая загрузка (на SiOH), градиент подвижной фазы: DCM/MeOH от 100/0 до 80/20) 80 мг неочищенного соединения. В неочищенное соединение добавляли DCM, а твердое вещество фильтровали и промывали с помощью DCM, затем ацетона. Твердое вещество снова очищали с помощью препаративной LC (SiOH с зернами неправильной формы, 15-40 мкм, 24 г, GraceResolv, сухая загрузка на SiOH, градиент подвижной фазы: DCM/MeOH от 100/0 до 93/7) с получением 75 мг соединения С6 (69%), т.пл.= $256,46^\circ C$.

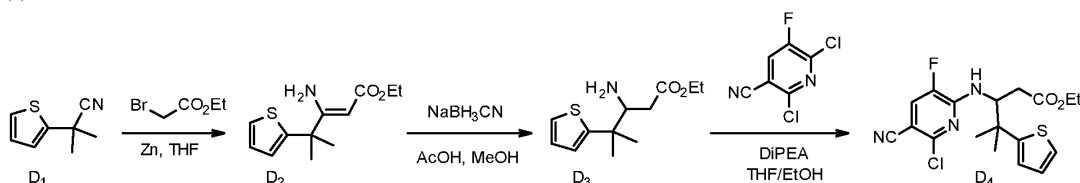
1H ЯМР (500 МГц, $DMSO-d_6$) δ м.д. 1,34 (с, 3H), 1,37 (с, 3H), 2,17 (уш д, $J=15,1$ Гц, 1H), 2,50 (м, 1H), 5,58 (уш т, $J=9,5$ Гц, 1H), 7,18 (т, $J=6,6$ Гц, 1H), 7,39 (уш д, $J=7,9$ Гц, 1H), 7,67 (т, $J=7,6$ Гц, 1H), 7,64-7,81 (уш с, 1H), 7,85 (уш д, $J=11,4$ Гц, 1H), 8,32 (с, 1H), 8,37 (с, 1H), 8,47 (уш д, $J=3,8$ Гц, 1H), 9,13 (уш с, 1H), 12,08 (уш с, 1H), 12,47 (с, 1H). LC-MS Масса Найденое значение $[M+H]^+=479,0$. $R_{(минуты)}=2,39$ мин (способ А).

Разделение чистых изомеров соединения С6

Соединение С6 очищали с помощью хиральной SFC (неподвижная фаза: CHIRALCEL AD (внутренний диаметр 5,0 см $\times$ длина 25 см), подвижная фаза: 70% CO_2 , 30% EtOH). Затем каждый изомер повторно очищали с помощью хиральной HPLC (неподвижная фаза: CHIRALPAK AD, подвижная фаза: 70% гексана, 30% EtOH, 0,1% AcOH, с получением 30 мг энантиомера 1, называемого [(-)-C6]; $mp^\circ C=231,52$, $[\alpha]^{25^\circ C}_{589\text{ nm}}=-37,1$, и 35 мг энантиомера 2, называемого [(+)-C6], $m=35$ мг; $mp^\circ C=229,28$, $[\alpha]^{25^\circ C}_{589\text{ nm}}=41,0$.



Соединение D5



Получение промежуточного соединения D2

Суспензию активированного Zn (13 г; 198 ммоль) в сухом THF (100 мл) нагревали с обратным холодильником, затем добавляли 1,2-дибромэтан (855 мкл; 9,92 ммоль) и несколько капель этилбромацетата. Через 20 мин при нагревании с обратным холодильником добавляли одной порцией раствор соединения D1 (5 г; 33,1 ммоль) в сухом THF (100 мл). Этилбромацетат (15 мл; 132 ммоль) по каплям добавляли в течение 50 мин. Смесь перемешивали при $70^\circ C$ в течение 20 мин, затем охлаждали до к.т., затем обрабатывали с помощью водного раствора $NaHCO_3$ и фильтровали через слой целита. Фильтрат экстрагировали с помощью EtOAc (дважды). Объединенные органические слои высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и концентрировали в вакууме с получением 10 г неочищенного соединения D2.

Неочищенный продукт очищали с помощью препаративной LC (SiOH с зернами правильной формы 30 мкм, 200 г, Interchim, загрузка жидкой фазой (DCM), градиент подвижной фазы: гептан/EtOAc от

100:0 до 80:20). Фракции, содержащие продукт, объединяли и растворитель удаляли в вакууме с получением 5,7 г промежуточного соединения D2 (72%) в виде бесцветного масла.

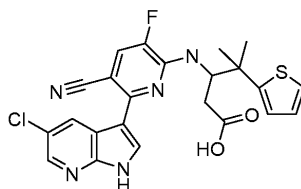
Получение промежуточного соединения D3

NaBH₃CN (1,5 г; 23,9 ммоль) добавляли в раствор промежуточного соединения D2 (4,7 г; 19,6 ммоль) в MeOH (118 мл) и AcOH (12 мл). Полученную смесь перемешивали при к.т. в течение ночи. Смесь гасили путем добавления воды и выпаривали растворитель в вакууме. Повышали основность полученной смеси добавлением раствора NaOH (1 н.), pH=10-14, затем экстрагировали с помощью DCM (дважды). Объединенные органические слои промывали с помощью солевого раствора, высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме с получением 4,6 г промежуточного соединения D3 (97%) в виде бесцветного масла.

Получение промежуточного соединения D4

Смесь 2,6-дихлор-3-циано-5-фторпиридина (396 мг; 2,07 ммоль), промежуточного соединения D3 (500 мг; 2,07 ммоль) и DIPEA (543 мкл; 3,11 ммоль) в THF (10 мл) и EtOH (10 мл) перемешивали при 90°C в течение 2 ч. Смесь переносили в герметизированную пробирку и добавляли 2,6-дихлор-3-циано-5-фторпиридин (396 мг; 2,07 ммоль), перемешивали полученную смесь при 90°C в течение 16 ч. Добавляли 2,6-дихлор-3-циано-5-фторпиридин (396 мг; 2,07 ммоль) и DIPEA (543 мкл; 3,11 ммоль) и перемешивали смесь при 90°C в течение 6 ч. Смесь концентрировали до сухого состояния и очищали с помощью препаративной LC (SiOH с зернами неправильной формы, 15-40 мкм, 50 г, Merck, градиент подвижной фазы: гептан/DCM от 80:20 до 0:100). Фракции, содержащие продукт, объединяли и растворитель удаляли в вакууме с получением 224 мг промежуточного соединения D4 в виде желтого твердого вещества (40%).

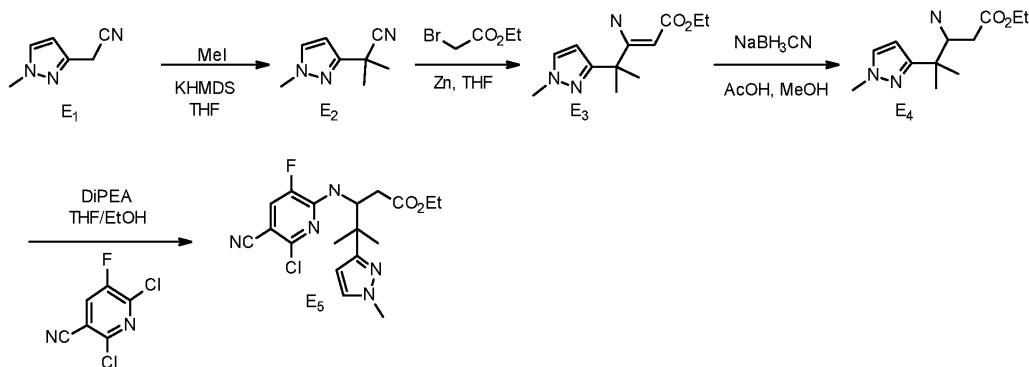
Соединение D5 получали тем же путем, что и рацемат соединения C6, исходя из соединения X и промежуточного соединения D4



(+/-)

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ м.д. 1,18 (с, 3H), 1,37 (с, 3H), 2,26 (уш д, J=15,1 Гц, 1H), 2,57-2,67 (м, 1H), 5,35 (уш т, J=9,9 Гц, 1H), 6,90-6,95 (м, 2H), 7,34 (дд, J=4,9, 1,4 Гц, 1H), 7,67-7,86 (уш с, 1H), 7,88 (д, J=11,4 Гц, 1H), 8,31 (с, 1H), 8,36 (д, J=2,5 Гц, 1H), 9,03 (д, J=2,2 Гц, 1H), 12,17 (уш с, 1H), 12,48 (уш с, 1H). LC-MS Масса Найденное значение [M+H]⁺=484,1. R_ф(минуты)=2,55 (способ А), т.пл. °C=280,59.

Соединение E6



Получение промежуточного соединения E2

Порциями добавляли tBuOK (14,5 г; 130 ммоль) в раствор соединения E1 [1142927-97-6] (6,28 г; 51,8 ммоль) и 18-краун-6 (2,1 г; 7,8 ммоль) в THF (200 мл) при 0°C. Смесь перемешивали при 0°C в течение 15 мин перед медленным добавлением йодметана (9,7 мл; 156 ммоль). Смесь перемешивали при 0°C в течение 15 мин, затем при к.т. в течение 16 ч. Реакционную смесь гасили водным раствором NH₄Cl и экстрагировали с помощью EtOAc (дважды). Объединенные органические слои промывали с помощью солевого раствора, высушивали над MgSO₄, фильтровали и выпаривали в вакууме с получением 8 г неочищенного соединения E2

Неочищенный продукт очищали с помощью препаративной LC (SiOH с зернами правильной формы, 30 мкм, 300 г, Interchim, сухая загрузка (на силикагеле), градиент подвижной фазы: гептан/EtOAc от 80/20 до 0/100) с получением 6 г промежуточного соединения E2 в виде бесцветного масла (78%).

Получение промежуточного соединения E3

Суспензию активированного Zn (10,5 г; 161 ммоль) и метансульфоново́й кислоты (800 мкл; 12,3 ммоль) в THF (65 мл) нагревали с обратным холодильником в течение 15 мин, затем добавляли промежуточное соединение E2 (4,8 г; 32,2 ммоль) в THF (15 мл). Затем по каплям добавляли этилбромацетат

(10,7 мл; 96,7 ммоль) в THF (50 мл) в течение 4-5 мин. Смесь перемешивали при нагревании с обратным холодильником в течение 1 ч, затем охлаждали до к.т., затем обрабатывали с помощью водного насыщенного раствора NaHCO_3 , фильтровали через слой целита и промывали с помощью EtOAc. Слои разделяли. Органический слой промывали с помощью солевого раствора, высушивали над MgSO_4 , фильтровали, концентрировали в вакууме и очищали с помощью препаративной LC (SiOH с зернами правильной формы, 30 мкм, 300 г, Interchim, сухая загрузка (на силикагеле), градиент подвижной фазы: гептан/EtOAc от 80/20 до 50/50) с получением 6,37 г промежуточного соединения E3 в виде бесцветного масла (83%).

Получение промежуточного соединения E4

NaBH_3CN (1,86 г; 29,6 ммоль) добавляли в раствор промежуточного соединения E3 (2,94 г; 12,4 ммоль) в MeOH (80 мл) и AcOH (15 мл). Полученную смесь перемешивали при к.т. в течение 56 ч. Смесь гасили путем добавления воды и выпаривали растворитель в вакууме. Повышали основность полученной смеси добавлением раствора NaOH (1 н.) до pH=10-14, затем экстрагировали с помощью DCM (дважды). Объединенные органические слои промывали с помощью солевого раствора, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали в вакууме с получением 2,9 г неочищенного соединения E4.

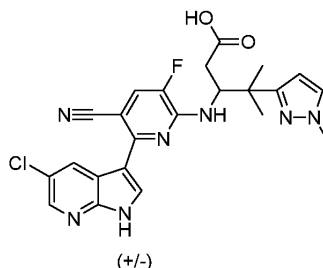
Неочищенный продукт очищали с помощью препаративной LC (SiOH с зернами правильной формы, 15-30 мкм, 80 г, Interchim, градиент подвижной фазы: DCM/MeOH: от 100/0 до 90/10) с получением 2,09 г промежуточного соединения E4 в виде бесцветного масла (70%).

Получение промежуточного соединения E5

2,6-Дихлор-3-циано-5-фторпиридин (851 мг; 4,46 ммоль), DIPEA (3,9 мл; 22,3 ммоль), промежуточное соединение E4 (1 г; 4,18 ммоль) в THF (10 мл) и EtOH (10 мл) нагревали при 90°C в течение 16 ч в герметизированной пробирке. Растворители выпаривали. Добавляли воду. Водный слой экстрагировали с помощью DCM (3 раза). Органический слой высушивали над MgSO_4 , фильтровали и выпаривали в вакууме и очищали с помощью препаративной LC (SiOH с зернами неправильной формы, 15-40 мкм, 50 г Merck, сухая загрузка (на SiOH), градиент подвижной фазы: гептан/EtOAc: от 90/10 до 50/50) с получением 843 мг промежуточного соединения E5 в виде смолы (48%).

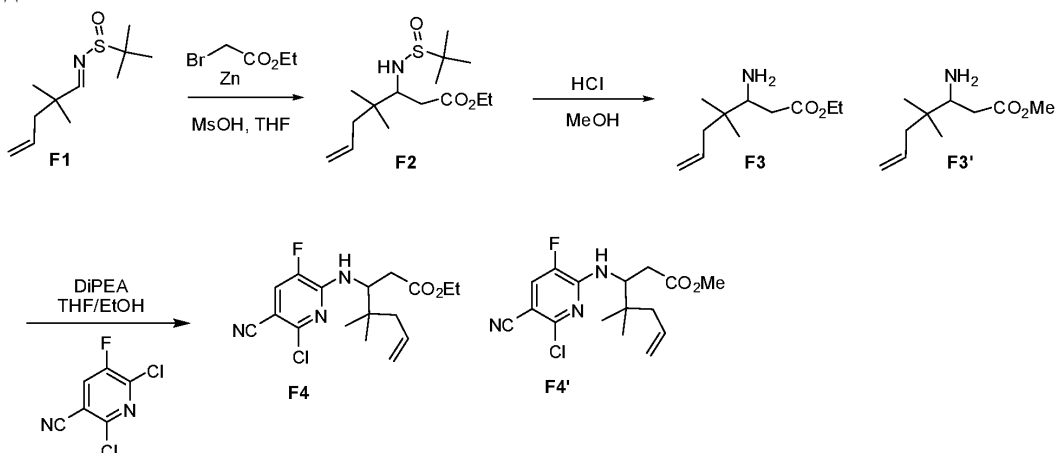
Соединение E6

Соединение E6 получали тем же путем, что и рацемат соединения C6, исходя из соединения X и промежуточного соединения E5



^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ м.д. 1,16 (с, 3H), 1,26 (с, 3H), 2,35-2,56 (м, 2H), 3,73 (с, 3H), 5,24 (уш т, $J=9$, 4 Гц, 1H), 6,06 (д, $J=2,0$ Гц, 1H), 7,46-7,60 (м, 1H), 7,53 (д, $J=1,5$ Гц, 1H), 7,85 (д, $J=11,1$ Гц, 1H), 8,31 (уш с, 1H), 8,34 (д, $J=2,5$ Гц, 1H), 9,03 (д, $J=2,5$ Гц, 1H), 12,07 (уш с, 1H), 12,45 (уш с, 1H). LC-MS Масса Найденное значение $[\text{M}+\text{H}]^+=484,1$. $R_{\text{t(минуты)}}=2,55$ (способ А), т.пл. °C=288,09.

Соединение F6



Получение промежуточного соединения F2

Суспензию активированного Zn (1,41 г; 21,6 ммоль) и метансульфоновой кислоты (107 мкл; 1,65 ммоль) в сухом THF (10 мл) нагревали с обратным холодильником в течение 15 мин., затем добавляли соединение F1 [856659-63-7] (930 мг; 4,32 ммоль) в сухом THF (5 мл). Затем по каплям добавляли этилбромацетат (1,4 мл; 13,0 ммоль) в сухом THF (5 мл) в течение 10 мин. Смесь перемешивали при нагрева-

нии с обратным холодильником в течение 1 ч, затем охлаждали до к.т., затем обрабатывали с помощью водного насыщенного раствора NaHCO_3 , фильтровали через слой целита и промывали с помощью EtOAc . Слои разделяли. Органический слой промывали с помощью солевого раствора, высушивали над MgSO_4 , фильтровали, концентрировали в вакууме и очищали с помощью препаративной LC (SiOH с зернами неправильной формы, 15-40 мкм, 40 г, Grace, сухая загрузка (на SiOH), градиент подвижной фазы: гептан/ EtOAc от 90/10 до 50/50) с получением 672 мг промежуточного соединения F2 в виде бесцветного масла (51%).

Получение промежуточного соединения F3/F3'

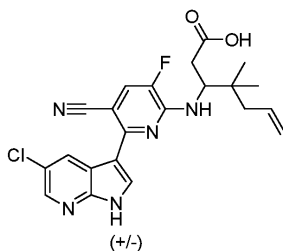
Смесь промежуточного соединения F2 (670 мг; 2,21 ммоль) и HCl [3 M] в CPME (2,2 мл; 6,62 ммоль) в MeOH (20 мл) перемешивали при к.т. в течение 56 ч. Смесь выпаривали до сухого состояния с получением остатка, который поглощали с помощью Et_2O и пентана, и растворители выпаривали с получением 510 мг смеси промежуточных соединений F3 и F3' (70/30) в виде бесцветного масла (98%).

Получение промежуточного соединения F4/F4'

2,6-Дихлор-3-циано-5-фторпиридин (457 мг; 2,39 ммоль), DIPEA (2,1 мл; 12,0 ммоль), промежуточные соединения F3/F3' (510 мг; 2,56 ммоль) в THF (6,4 мл) и EtOH (6,4 мл) нагревали при 90°C в течение 2 ч в герметизированной пробирке. Растворители выпаривали. Добавляли EtOAc и полученный раствор промывали дважды водой. Органический слой высушивали над MgSO_4 , фильтровали, выпаривали и очищали с помощью препаративной LC (SiOH с зернами правильной формы, 30 мкм, 25 г, Interchim, градиент подвижной фазы: гептан/ EtOAc от 90/10 до 50/50) с получением 304 мг промежуточного соединения F4 в виде желтого твердого вещества (36%) и 76 мг промежуточного соединения F4' в виде желтого масла (9%).

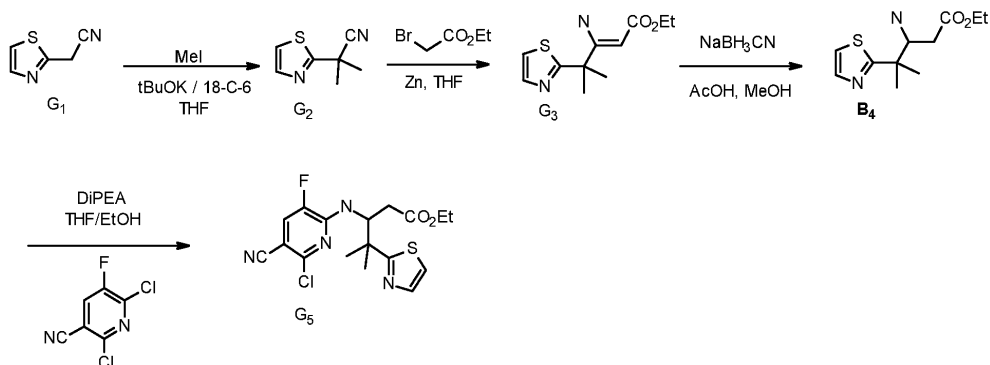
Соединение F5

Соединение F5 получали тем же путем, что и рацемат соединения C6, исходя из соединения X и смеси промежуточных соединений F4/F4'



^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ м.д. 0,84 (с, 3H), 0,89 (с, 3H), 2,05 (уш д, $J=7,6$ Гц, 2H), 2,56-2,74 (м, 2H), 4,88-4,99 (м, 3H), 5,82 (м, 1H), 7,52 (уш д, $J=7,6$ Гц, 1H), 7,84 (д, $J=11,1$ Гц, 1H), 8,32 (д, $J=3,0$ Гц, 1H), 8,33 (т, $J=3,0$ Гц, 1H), 8,97 (д, $J=2,0$ Гц, 1H), 12,09 (уш с, 1H), 12,45 (уш с, 1H). LC-MS Масса Найденное значение $[\text{M}+\text{H}]^+=442,1$. $R_{\text{t(минуты)}}=2,60$ (способ А), т.пл. $^\circ\text{C}=257,3$ & $263,62$.

Соединение G6



Получение промежуточного соединения G2

Добавляли tBuOK (4,74 г, 42,3 ммоль) в раствор соединения G1 [101010-74-6] (2,10 г, 16,9 ммоль) в THF (65 мл) при 0°C . В смесь добавляли 18-краун-6 (0,670 г, 2,50 ммоль). Смесь перемешивали при 0°C в течение 15 мин и по каплям добавляли йодметан (2,57 мл, 50,7 ммоль) при 0°C . Реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 15 мин, затем при к.т. в течение ночи. Добавляли водный насыщенный раствор NH_4Cl . Реакционную смесь экстрагировали этилацетатом (2×150 мл), высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью препаративной LC (SiOH с зернами неправильной формы, 40-63 мкм, Fluka, загрузка жидкой фазой (DCM), подвижная фаза: градиент циклогексан/ EtOAc : от 90/10 до 70/30) с получением 1,64 г промежуточного соединения G2 в виде желтой жидкости (64%).

Получение промежуточного соединения G3

Метансульфоновую кислоту (0,260 мл, 4,00 ммоль) добавляли в суспензию активированного Zn

(3,43 г, 52,5 ммоль) в THF (24 мл) при к.т. Реакционную смесь перемешивали при нагревании с обратным холодильником в течение 15 мин и добавляли раствор промежуточного соединения G2 (1,60 г, 10,5 ммоль) в THF (8 мл). Затем по каплям добавляли раствор этилбромацетата (3,50 мл, 31,5 ммоль) в THF (16 мл) при нагревании с обратным холодильником. Реакционную смесь перемешивали при нагревании с обратным холодильником в течение 1 ч. Добавляли водный насыщенный раствор NaHCO_3 и фильтровали смесь через целит. Фильтрат экстрагировали этилацетатом (2×15 мл), высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении и остаток очищали с помощью препаративной LC (SiOH с зернами неправильной формы, 40-63 мкм, Fluka, загрузка жидкой фазой (DCM), подвижная фаза: циклогексан/EtOAc 8/2) с получением 1,90 г промежуточного соединения G3 в виде бесцветной жидкости (75%).

Получение промежуточного соединения G4

В раствор промежуточного соединения G3 (1,89 г; 7,86 ммоль) в MeOH (73 мл) и AcOH (20,5 мл) по каплям добавляли коммерческий раствор 1 М NaBH_3CN в THF (18,9 мл; 18,9 ммоль) при к.т. Реакционную смесь перемешивали при к.т. в течение 16 ч. Смесь выпаривали до сухого состояния и остаток выпаривали совместно с толуолом с получением белой смолы. Затем остаток поглощали в воде, добавляли водный раствор NaOH (1 М) и экстрагировали водный слой с помощью DCM ($3 \times$). Объединенные органические слои высушивали над MgSO_4 и концентрировали с получением 1,7 г неочищенного соединения G4.

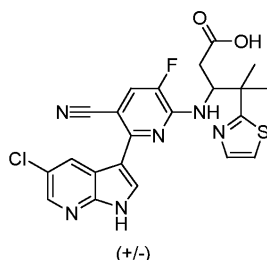
Масло очищали с помощью препаративной LC (SiOH с зернами неправильной формы, 15-40 мкм, 50 г, Merck, градиент подвижной фазы: DCM/MeOH: от 100/0 до 90/10) с получением 583 мг промежуточного соединения G4 в виде бесцветного масла (31%).

Получение промежуточного соединения G5

2,6-Дихлор-3-циано-5-фторпирдин (429 мг; 2,24 ммоль), DIPEA (2 мл; 11,4 ммоль), промежуточное соединение G4 (582 мг; 2,40 ммоль) в THF (6 мл) и EtOH (6 мл) нагревали при 90°C в течение 2 ч в герметизированной пробирке. Растворители выпаривали. Добавляли EtOAc и дважды промывали полученную смесь водой. Органический слой высушивали над MgSO_4 , фильтровали, выпаривали в вакууме и очищали с помощью препаративной LC (SiOH с зернами правильной формы, 30 мкм, 40 г Interchim, градиент подвижной фазы: гептан/EtOAc: от 90/10 до 50/50) с получением 500 мг промежуточного соединения G5 в виде бежевого твердого вещества (56%).

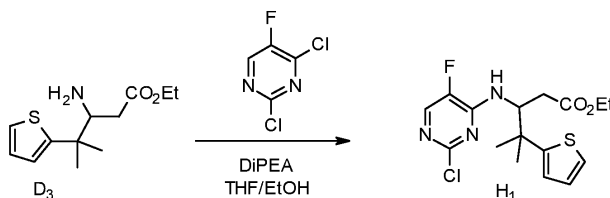
Соединение G6

Соединение G6 получали тем же путем, что и рацемат соединения C6, исходя из соединения X и промежуточного соединения G5



^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ м.д. 1,33 (с, 3H), 1,45 (с, 3H), 2,42 (уш д, $J=14,7$ Гц, 1H), 2,62 (дд, $J=15,7, 11,1$ Гц, 1H), 5,45 (уш т, $J=9,9$ Гц, 1H), 7,58 (д, $J=3,0$ Гц, 1H), 7,60-7,71 (м, 1H), 7,67 (д, $J=3,0$ Гц, 1H), 7,88 (д, $J=11,6$ Гц, 1H), 8,31 (д, $J=2,5$ Гц, 1H), 8,34 (д, $J=2,0$ Гц, 1H), 9,02 (д, $J=2,5$ Гц, 1H), 12,11 (уш с, 1H), 12,45 (уш с, 1H). LC-MS Масса Найденое значение $[\text{M}+\text{H}]^+=485$. $R_{\text{t(минуты)}}=2,24$ (способ А), т.пл. $^\circ\text{C}=263,9$.

Соединение H2



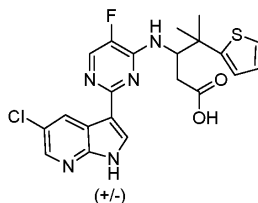
Получение промежуточного соединения H1

В герметизированной пробирке перемешивали раствор 2,4-дихлор-5-фторпиримидина (318 мг; 1,91 ммоль), промежуточного соединения D3 (460 мг; 1,91 ммоль) и DIPEA (1,6 мл; 9,53 ммоль) в THF (10 мл) и EtOH (10 мл) при 80°C в течение ночи. Смесь выпаривали до сухого состояния, остаток солиubilizировали в EtOAc, затем добавляли воду и разделяли слои. Органический слой промывали с помощью солевого раствора (один раз), высушивали над MgSO_4 , фильтровали, концентрировали в вакууме и очищали с помощью препаративной LC (SiOH с зернами неправильной формы, 15-40 мкм, 30 г Merck, загрузка жидкой фазой, градиент подвижной фазы: гептан/DCM от 50:50 до 80:20). Фракции, содержащие про-

дукт, объединяли и растворитель удаляли в вакууме с получением 338 мг промежуточного соединения Н1 в виде желтого твердого вещества (48%).

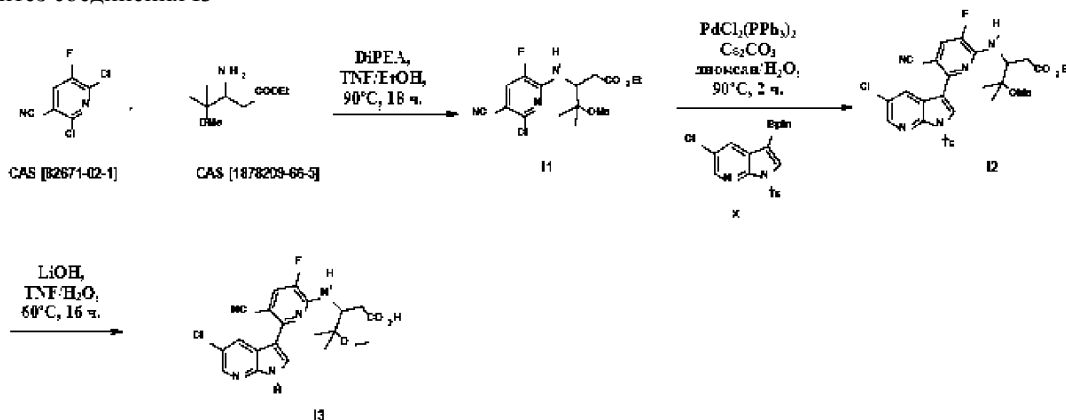
Соединение Н2

Соединение Н2 получали тем же путем, что и рацемат соединения С6, исходя из соединения Х и промежуточного соединения Н1 за исключением того, что конечное омыление проводили с КОН (10 экв.) в смеси EtOH/H₂O при к.т.



¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ м.д. 1,31 (с, 3H), 1,41 (с, 3H), 2,25 (уш д, J=16,7 Гц, 1H), 2,50 (м, 1H), 5,12-5,32 (м, 1H), 6,97 (м, 1H), 7,04 (м, 1H), 7,30-7,96 (м, 1H), 7,39 (д, J=5,1 Гц, 1H), 8,16 (д, J=3,5 Гц, 1H), 8,19 (с, 1H), 8,30 (д, J=2,5 Гц, 1H), 8,93 (с, 1H), 12,04 (уш с, 1H), 12,31 (уш с, 1H). LC-MS Масса Найденное значение [M+H]⁺=460. R_{t(минуты)}=2,36 (способ А), т.пл. °C=175,6 & 228,74.

Синтез соединения I3



Получение промежуточного соединения II

2,6-Дихлор-3-циано-5-фторпиридин (0,23 г; 1,2 ммоль), диизопропилэтиламин (1,1 мл; 6,1 ммоль), этил-3-амино-4-метокси-4-метилпентаноат (CAS [1878209-66-5], 0,23 г; 1,2 ммоль) в THF (3,0 мл) и EtOH (3,0 мл) нагревали при 90°C в течение 18 ч в герметизированной пробирке. Добавляли EtOAc и промывали дважды солевым раствором. Органический слой высушивали над MgSO₄, фильтровали и выпаривали в вакууме с получением бесцветного масла.

Его очищали с помощью препаративной LC (SiOH с зернами правильной формы, 30 мкм, 24 г, градиент подвижной фазы: гептан/AcOEt от 80/20 до 70/30) с получением 0,195 г промежуточного соединения II в виде белого твердого вещества (47%).

Получение промежуточного соединения I2

В атмосфере N₂ в герметизированной пробирке смесь соединения X (144 мг; 0,33 ммоль), соединения II (95 мг; 0,28 ммоль) и карбоната цезия (0,32 г; 0,97 ммоль) в 1,4-диоксане (2,4 мл) и воде (0,75 мл) дегазировали с помощью N₂ в течение 5 мин. Добавляли PdCl₂(PPh₃)₂ (19 мг; 28 мкмоль) и снова дегазировали реакционную смесь с помощью N₂ в течение 2 мин. Реакционную смесь нагревали при 90°C в течение 2 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры. DCM и солевой раствор добавляли в реакционную смесь. Водный слой экстрагировали с помощью DCM. Объединенные органические слои промывали, высушивали над MgSO₄, отфильтровывали и концентрировали до сухого состояния с получением неочищенного соединения. Его очищали с помощью препаративной LC (SiOH с зернами правильной формы, 30 мкм, 12 г, сухая загрузка, градиент подвижной фазы: гептан/EtOAc от 90/10 до 70/30) с получением 81 мг промежуточного соединения I2 в виде белого твердого вещества (48%).

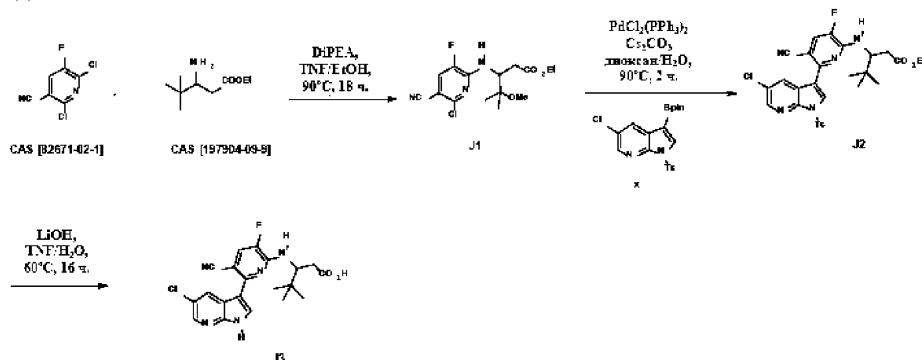
Получение соединения I3

Раствор моногидрата гидроксида лития (28 мг, 0,66 ммоль) в воде (0,25 мл) добавляли в смесь I2 (81 мг, 0,13 ммоль) в THF (0,73 мл). Смесь перемешивали в течение 18 ч при 60°C.

Раствор выпаривали в вакууме и очищали с помощью препаративной LC (SiOH с зернами правильной формы 30 мкм, 12 г, градиент подвижной фазы: DCM/MeOH/уксусная кислота от 99/1/0,1 до 95/5/0,5) с получением после выпаривания фракции, которую лиофилизировали в MeCN/H₂O с получением 37 мг соединения I3 в виде белого твердого вещества (65%, т.пл.=275°C).

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ м.д. 1,07 (с, 3H), 1,12 (с, 3H), 2,61-2,72 (м, 2H), 3,15 (с, 3H), 5,14 (дт, J=9,6; 2,0 Гц, 1H), 7,57 (уш д, J=8,6 Гц, 1H), 7,86 (д, J=11,1 Гц, 1H), 8,31 (с, 1H), 8,32 (с, 1H), 8,97 (д, J=2,0 Гц, 1H), 11,7-12,4 (м, 1H), 12,45 (уш с, 1H).

Синтез соединения J3



Получение промежуточного соединения J1

2,6-Дихлор-3-циано-5-фторпиридин (1 г; 5,24 ммоль), диизопропилэтиламин (4,5 мл; 26,2 ммоль), этил-3-амино-4,4-диметилпентаноат (CAS [197904-09-9], 1,09 г; 6,28 ммоль) в THF (13 мл) и EtOH (13 мл) нагревали при 90°C в течение 18 ч в герметизированной пробирке. Добавляли EtOAc и промывали дважды солевым раствором. Органический слой высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и выпаривали в вакууме с получением 2,4 г в виде желтого масла. Его очищали с помощью препаративной LC (SiOH с зернами неправильной формы, 15-40 мкм, 80 г, Grace, сухая загрузка (на SiOH), градиент подвижной фазы: гептан/EtOAc от 95/5 до 50/50) с получением 1,33 г промежуточного соединения J1 в виде желтого твердого вещества (77%).

Получение промежуточного соединения J2

В атмосфере N_2 в герметизированной пробирке смесь соединения X (250 мг; 0,578 ммоль), соединения J1 (246 мг; 0,751 ммоль) и карбоната цезия (0,659 г; 2,02 ммоль) в 1,4-диоксане (11 мл) и воде (3 мл) дегазировали с помощью N_2 в течение 5 мин.

Добавляли $PdCl_2(PPh_3)_2$ (41 мг; 58 мкмоль) и снова дегазировали реакционную смесь с помощью N_2 в течение 2 мин. Реакционную смесь нагревали при 90°C в течение 1 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры. DCM и солевой раствор добавляли в реакционную смесь. Водный слой экстрагировали с помощью DCM. Объединенные органические слои промывали, высушивали над $MgSO_4$, отфильтровывали и концентрировали до сухого состояния с получением неочищенного соединения. Его очищали с помощью препаративной LC (SiOH с зернами неправильной формы, 15-40 мкм, 10 г, сухая загрузка (на SiOH), градиент подвижной фазы: гептан/EtOAc от 95/5 до 70/30) с получением 142 мг промежуточного соединения J2 в виде бледно-зеленого твердого вещества (41%).

Получение соединения J3

В раствор соединения J2 (142 мг; 2,37 мкмоль) в воде (3,7 мл) добавляли 3 М гидроксида натрия в H_2O (475 мкл; 1,42 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Растворитель выпаривали в вакууме и остаток поглощали в воде. Водный раствор HCl (1 н.) добавляли до pH=1. Образованный осадок отфильтровывали, промывали с помощью воды и высушивали под вакуумом с получением 69 мг бежевого твердого вещества.

Его растирали в MeOH/ H_2O /DMSO (5/2/3 мл) и подвергали воздействию ультразвука. Осадок фильтровали с получением 43 мг соединения J3 (44%).

1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) δ м.д. 0,93 (с, 9H), 2,53-2,71 (м, 2H), 4,84 (уш т, $J=9,5$ Гц, 1H), 7,59 (уш с, 1H), 7,83 (д, $J=11,4$ Гц, 1H), 8,33 (с, 1H), 8,36 (с, 1H), 8,99 (с, 1H), 12,07 (уш с, 1H), 12,47 (уш с, 1H).

Общая процедура

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

Поток из колонки направляли в масс-спектрометр (МС), который был оснащен источником ионизации при атмосферном давлении. В компетенции специалиста в данной области находится установка настраиваемых параметров (например, диапазона сканирования, времени выдержки и т.п.) с целью получения ионов, позволяющих определить номинальную мономерную молекулярную массу (MW) соединения. Сбор данных проводили с помощью соответствующего программного обеспечения.

Соединения описывали по значениям их экспериментального времени удерживания (R_t) и ионам. Если в таблице данных не указано иное, то указанный молекулярный ион соответствует $[M+H]^+$ (протонированной молекуле) и/или $[M-H]^-$ (депротонированной молекуле). В случае если соединение не было напрямую способно к ионизации, указывают тип аддукта (т.е. $[M+NH_4]^+$, $[M+HCOO]^-$ и т.д.). Для молекул со сложными изотопными распределениями (Br, Cl и т.п.) описанное значение является таким значением, которое получено для наименьшей массы изотопа. Все результаты получали с экспериментальными погрешностями, которые обычно связаны с применяемым способом.

Далее в данном документе "SQD" означает одиночный квадрупольный детектор, "к.т." означает

комнатную температуру, "BEH" означает мостиковый гибрид этилсилоксана/диоксида кремния, "HSS" означает диоксид кремния повышенной прочности, "DAD" означает детектор на диодной матрице.

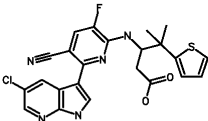
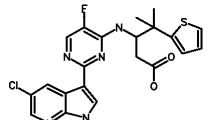
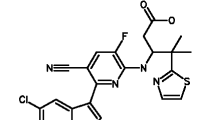
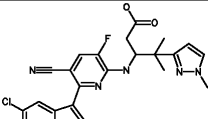
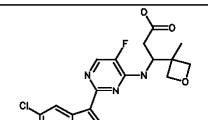
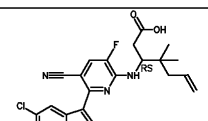
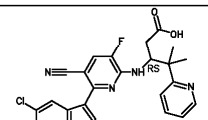
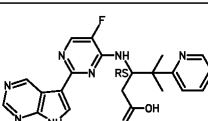
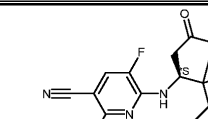
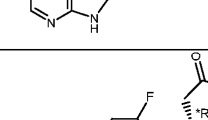
В таблице коды способов LCMS (поток выражен в мл/мин; температура колонки (Т) в °С; время анализа в минутах).

Код способа	Прибор	Колонка	Подвижная фаза	Градиент	Поток	Время анализа
					Колонка Т	
V3018V3001	Waters: Acquity UPLC® – DAD и Quattro Micro™	Waters: BEH C18 (1,7 мкм, 2,1×100 мм)	А: 95% CH ₃ COONH ₄ 7 мМ/5% CH ₃ CN, В: CH ₃ CN	от 84,2% А в течение 0,49 мин. до 10,5% А за 2,18 мин., удерживание в течение 1,94 мин., обратно до 84,2% А за 0,73 мин., удерживание в течение 0,73 мин.	0,343	6,2
					40	

Биологическая активность соединений формулы (I)

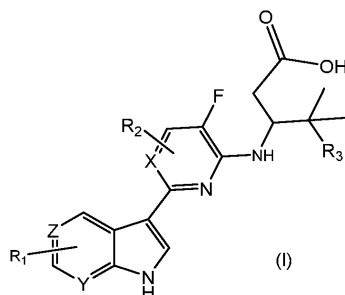
Противовирусную активность *in vitro* соединений определяли с применением противовирусного анализа на клетках. В данном анализе цитопатический эффект (CPE) в клетках Мадин-Дарби почек собак (MDCK), инфицированных вирусом гриппа А (H1N1)/Тайвань/1/86, отслеживали в присутствии или в отсутствие соединений. Белые 384-луночные микротитровальные аналитические планшеты (Greiner) заполняли с помощью звукового выталкивания капли с применением устройства для манипуляций с жидкостями Echo (Labcyte, Саннивейл, Калифорния). Двести нанолитров исходных растворов соединений (100% DMSO) переносили в аналитические планшеты. Клетки MDCK распределяли в планшет при конечной плотности 25000 или 6000 клеток/лунка. Затем добавляли вирус гриппа А/Тайвань/1/86/(H1N1) при множественности заражения 0,001 или 0,01, соответственно. Лунки содержали 0,5% DMSO на объеме. Контрольные образцы, инфицированные вирусом, и контрольные образцы с имитацией инфицирования включали в каждый тест.

Планшеты инкубировали при 37°C в 5% CO₂. Через три дня после воздействия вируса количественно определяли цитопатический эффект посредством измерения снижения уровней АТФ с применением набора ATPlite™ (PerkinElmer, Завентем, Бельгия) в соответствии с инструкциями изготовителя. IC₅₀ определяли как 50% ингибирующую концентрацию. Параллельно инкубировали соединения в течение трех дней в белых 384-луночных микротитровальных планшетах и *in vitro* определяли цитотоксичность соединений в клетках MDCK с помощью измерения содержания АТФ в клетках с применением набора ATPlite™ (PerkinElmer, Завентем, Бельгия) в соответствии с инструкциями изготовителя. Цитотоксичность выражали как CC₅₀ - концентрацию, которая вызывает 50% снижение жизнеспособности клеток.

Структурная формула	FLU-AVE-MDCK-ATP-TW_EC50	FLU-AVE-MDCK-ATP-TW_pEC50
	0,00057	9,2
	0,002542	8,6
	0,000267	9,6
	0,002558	8,6
	0,982291	6,0
	0,001	9,0
	0,00047	
	1,89	
	0,000075	11,2
	0,0054	8,3

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

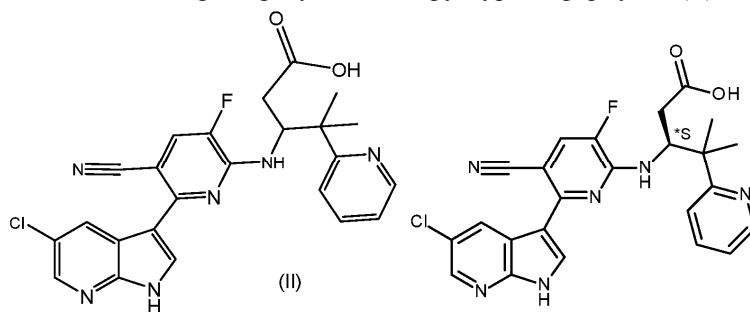
1. Соединение формулы (I)



его стереоизомерная форма или фармацевтически приемлемая соль, где Y представляет собой N, X представляет собой C или N, Z представляет собой C или N, R₁ представляет собой галоген или H, R₂ представляет собой H или CN, R₃ представляет собой пиридил, тиафенил, пирозолил, тиазолил или оксетанил, необязательно замещенный C₁₋₆алкилом.

2. Соединение по п.1, где R₁ представляет собой хлор или фтор.

3. Соединение по п.1 или 2, характеризующееся структурной формулой (II) или (III)



4. Фармацевтическая композиция для лечения гриппа, содержащая соединение или его фармацевтически приемлемую соль по любому из пп.1-3 вместе с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми наполнителями, разбавителями или носителями.

5. Лекарственное средство для лечения гриппа, содержащее соединение формулы (I) или его стереоизомерную форму или фармацевтически приемлемую соль по любому из пп.1-3.

6. Применение соединения, его стереоизомерной формы или фармацевтически приемлемой соли по любому из пп.1-3 для ингибирования репликации вируса(вирусов) гриппа в биологическом образце или у пациента.

7. Применение по п.6 в комбинации с дополнительным терапевтическим средством, выбранным из противовирусного средства или вакцины против гриппа или как противовирусного средства, так и вакцины против гриппа.



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

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