

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 039824

(13) B9

(12) **ИСПРАВЛЕННОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К
ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(15) Информация об исправлении
Версия исправления: 1 (W1 B1)
исправления в формуле: п.9, 10

(51) Int. Cl. C07D 471/04 (2006.01)
A61K 31/55 (2006.01)
A61P 31/20 (2006.01)

(48) Дата публикации исправления
2022.08.26, Бюллетень №8'2022

(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.03.17

(21) Номер заявки
201992771

(22) Дата подачи заявки
2018.05.22

(54) **ИНГИБИТОР ПОВЕРХНОСТНОГО АНТИГЕНА ВИРУСА ГЕПАТИТА В**

(31) 201710365328.7

(32) 2017.05.22

(33) CN

(43) 2020.03.31

(86) PCT/CN2018/087852

(87) WO 2018/214875 2018.11.29

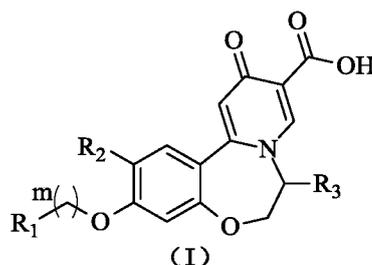
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ФУЦЗЯНЬ АКЕЙЛИНК
БИОТЕКНОЛОДЖИ КО., ЛТД. (CN)

(72) Изобретатель:
Дин Чарлз З., Сунь Фэй, Ху Яньбинь,
Чэнь Шухуэй (CN)

(74) Представитель:
Носырева Е.Л. (RU)

(56) WO-A1-2018085619
WO-A1-2018022282
WO-A1-2017013046
US-A1-2011065687
CN-A-105899508

(57) В настоящем изобретении раскрыто новое производное 11-оксо-7,11-дигидро-6h-бензо-[f]пиридо[1,2-d][1,4]азепиноксепин-10-карбоновой кислоты, которое осуществляет функции ингибитора поверхностного антигена вируса гепатита В. Конкретно раскрыто соединение, представленное формулой (I), или его фармацевтически приемлемая соль, фармацевтическая композиция, содержащая терапевтически эффективное количество соединения или его фармацевтически приемлемой соли, и применение соединения, представленного формулой (I), или его фармацевтически приемлемой соли и его фармацевтической композиции для лечения вирусного гепатита В.



B9

039824

039824

B9

Перекрестная ссылка на родственные заявки

Настоящая заявка испрашивает приоритет по заявке на патент Китая № CN 201710365328.7, поданной 22 мая 2017 г., содержание которой включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к новому производному 11-оксо-7,11-дигидро-6Н-бензо[f]пиридо[1,2-d][1,4]оксазепин-10-карбоновой кислоты, осуществляющему функции ингибитора поверхностного антигена вируса гепатита В. Конкретно раскрыто соединение, представленное формулой (I), или его фармацевтически приемлемая соль, фармацевтическая композиция, содержащая терапевтически эффективное количество соединения или его фармацевтически приемлемой соли, и применение соединения, представленного формулой (I), или его фармацевтически приемлемой соли, и его фармацевтическая композиция для лечения вирусного гепатита В.

Предшествующий уровень техники

Вирусный гепатит В, сокращено гепатит В, представляет собой заболевание, обусловленное инфекцией, вызванной вирусом гепатита В (HBV) в организме. Вирус гепатита В является представителем семейства *Нepadnaviridae*, который главным образом находится в гепатоцитах и вызывает повреждения гепатоцитов, что приводит к воспалению, некрозу и фиброзу гепатоцитов. Вирусный гепатит В подразделяется на острый гепатит В и хронический гепатит В. Большинство взрослых с острым гепатитом В могут выздороветь вследствие функционирования их врожденного иммунитета.

Однако хронический гепатит В (СНВ) стал большой проблемой для всемирного здравоохранения, а также основной причиной хронических заболеваний печени, цирроза печени и гепатоклеточной карциномы (НСС). Согласно оценкам 2 млрд человек во всем мире инфицированы вирусом хронического гепатита В и у более 350 млн человек наблюдается прогрессирование до гепатита В. Каждый год примерно 600000 человек умирают от осложнений хронического гепатита В. Китай является зоной с высоким показателем распространения гепатита В, и в ней проживает множество пациентов с гепатитом В, что является серьезной опасностью. В соответствии с данными в Китае проживают приблизительно 93 млн человек, инфицированных вирусом гепатита В, и приблизительно у 20 млн из них диагностирован хронический гепатит В, при этом у 10-20% из них хронический гепатит В может прогрессировать до цирроза печени, а у 1-5% может прогрессировать до гепатоклеточной карциномы.

Особенно важным для функционального излечения гепатита В являются очистка от HBsAg (поверхностного антигена вируса гепатита В) и образование поверхностных антител. Количественное определение HBsAg является очень важным биологическим показателем. У хронически инфицированных пациентов снижение уровня HBsAg и сероконверсию наблюдают редко, что является конечной точкой в существующем на данный момент лечении.

Поверхностный антигенный белок вируса гепатита В (HBV) играет очень важную роль в процессе проникновения HBV в клетки печени и имеет огромное значение для предупреждения и лечения HBV-инфекции. Поверхностные антигенные белки включают большие (L), средние (M) и небольшие (S) поверхностные антигенные белки, которые имеют общий С-концевой S-участок. Они экспрессируются с открытой рамки считывания, различная длина которой определяется тремя стартовыми AUG-кодонами рамки считывания. Такие три поверхностных антигенных белка включают pre-S1/pre-S2/S-, pre-S2/S- и S-домены. Поверхностный антигенный белок HBV интегрируется в мембрану эндоплазматического ретикула (ER), процесс интеграции инициируется N-концевой сигнальной последовательностью. Они не только образуют основную структуру вирионов, но также образуют глобулярные и филаментные субвирусные частицы (SVP, HBsAg), которые накапливаются в ER, ER хозяина и аппарате пре-Гольджи, и SVP содержит большинство поверхностных антигенных белков S. L-белок имеет критическое значение для морфогенеза вируса и взаимодействий нуклеокапсида, но не является необходимым для образования SVP. Из-за отсутствия нуклеокапсидов SVP являются неинфекционными. SVP активно участвуют в прогрессировании заболевания, особенно в ответ на вирус гепатита В. В крови инфицированных людей содержание SVP по меньшей мере в 10000 раз превышает содержание вируса, задерживая иммунную систему и ослабляя иммунный ответ организма на вирус гепатита В. HBsAg также подавляет врожденный иммунитет человека, подавляет продуцирование цитокинов, индуцированных полисахаридами (LPS) и IL-2, и подавляет функцию DC дендритных клеток и их индуцирующую активность посредством противодействия активности киназы-1/2 ERK-1/2 и киназы N-концевой части фактора транскрипции Jun в моноцитах, опосредованную LPS. Следует отметить, что прогрессирование заболевания, представляющего собой цирроз печени и гепатоклеточную карциному, также в значительной степени связано с постоянной секрецией HBsAg. Эти выводы свидетельствуют о том, что HBsAg играет важную роль в прогрессировании хронического гепатита.

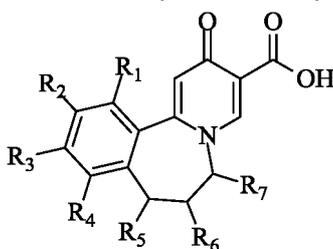
В настоящее время одобрены лекарственные средства против HBV, представляющие собой главным образом иммуномодуляторы (интерферон- α и пегилированный интерферон- α -2 α) и противовирусные терапевтические лекарственные средства (ламивудин, адефовир, дипивоксил, энтекавир, телбивудин, тенофовир, клевудин и т. д.). Среди них противовирусные терапевтические лекарственные средства относятся к нуклеотидам, и механизм их действия заключается в ингибировании синтеза ДНК HBV вместо

непосредственного снижения уровней HBsAg. Что касается длительного лечения, то уровень клиренса HBsAg, демонстрируемый лекарственными средствами на основе нуклеотидов, аналогичен естественным наблюдениям.

Клинически доступные терапевтические средства демонстрируют низкую эффективность в снижении уровня HBsAg. Поэтому в настоящее время для клинического применения требуется разработка низкомолекулярных ингибиторов для перорального применения, которые могут эффективно снижать уровень HBsAg.

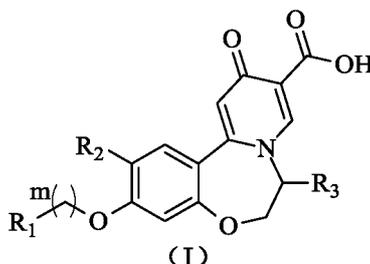
В компании Roshe был разработан ингибитор поверхностного антигена под названием RG7834 для лечения гепатита В, и сообщалось об эффективности данного соединения против гепатита В с использованием сурка в качестве модели: RG7834 в виде отдельного лекарственного средства может снижать уровень поверхностных антигенов до Log 2,57 и ДНК HBV до Log 1,7. Соединение демонстрирует хорошую активность, но необходимо разделять изомеры в процессе молекулярного синтеза, что снижает выход и увеличивает стоимость. В настоящем изобретении получены новые соединения, обладающие более высокой биологической активностью против гепатита В, характеризующиеся более кратким процессом синтеза и лучшими свойствами при использовании в качестве лекарственного средства вследствие структурной модификации.

В заявке на патент № WO2017013046A1 раскрыт ряд производных 2-оксо-7,8-дигидро-6Н-пиридо[2,1-а][2]бензазепин-3-карбоновой кислоты (общая структура показана ниже) для лечения или профилактики инфекции, вызванной вирусом гепатита В. Вариант осуществления 3, проявляющий самую высокую активность среди данного ряда соединений с конденсированным кольцом, имеет IC₅₀ 419 нМ, которую можно значительно улучшить в дальнейшем. Хиральные центры, содержащиеся у соединений данного ряда, трудно синтезировать асимметрично. Обычно 7-членное углеродное кольцо имеет плохую растворимость в воде и подвержено окислительному метаболизму.



Содержание настоящего изобретения

В настоящем изобретении предусмотрены соединения формулы (V) или его фармацевтически приемлемая соль



где

R₁ представляет собой H, OH, CN, NH₂ или выбран из группы, состоящей из C₁₋₆алкила, C₁₋₆гетероалкила, C₂₋₅алкенила, C₂₋₅гетероалкенила, C₃₋₆циклоалкила и 3-6-членного гетероциклоалкила, каждый из которых необязательно замещен 1, 2 или 3 R;

R₂ представляет собой H, OH, CN, NH₂, галоген или выбран из группы, состоящей из C₁₋₃алкила, C₁₋₃гетероалкила, C₃₋₆циклоалкила и 3-6-членного гетероциклоалкила, каждый из которых необязательно замещен 1, 2 или 3 R;

R₃ выбран из группы, состоящей из C₁₋₆алкила и C₃₋₆циклоалкила, каждый из которых необязательно замещен 1, 2 или 3 R;

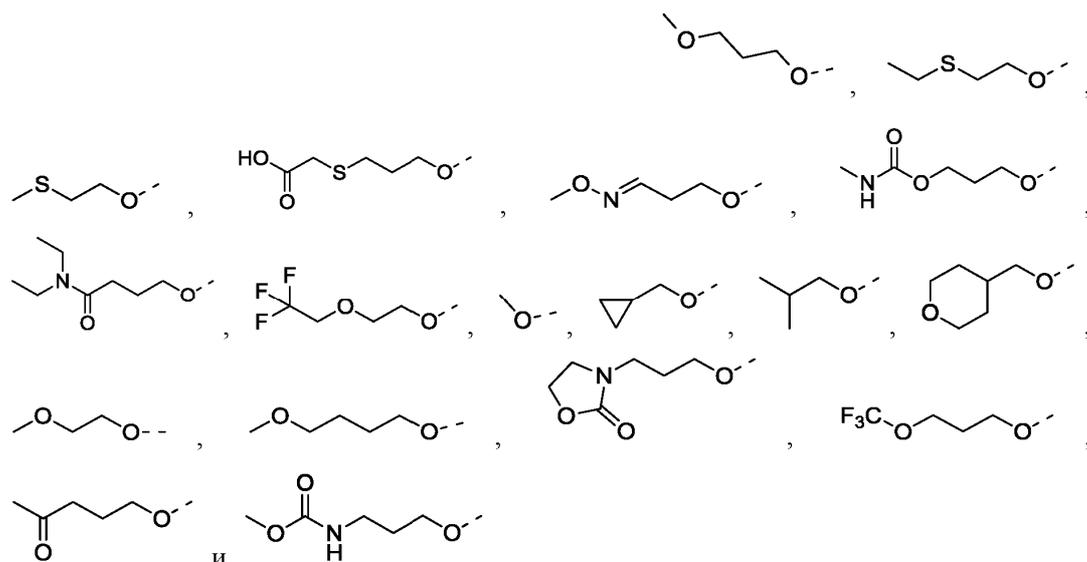
m равняется 0, 1, 2, 3, 4 или 5;

R₁ не является OH, CN, NH₂ при условии, что m равняется 0;

R представляет собой H, галоген, OH, CN, NH₂ или выбран из группы, состоящей из C₁₋₃алкила и C₁₋₃гетероалкила, каждый из которых необязательно замещен 1, 2 или 3 R';

R' выбран из группы, состоящей из F, Cl, Br, I, OH, CN, NH₂, CH₃, CH₃CH₂, CH₃O, CF₃, CHF₂ и CH₂F;

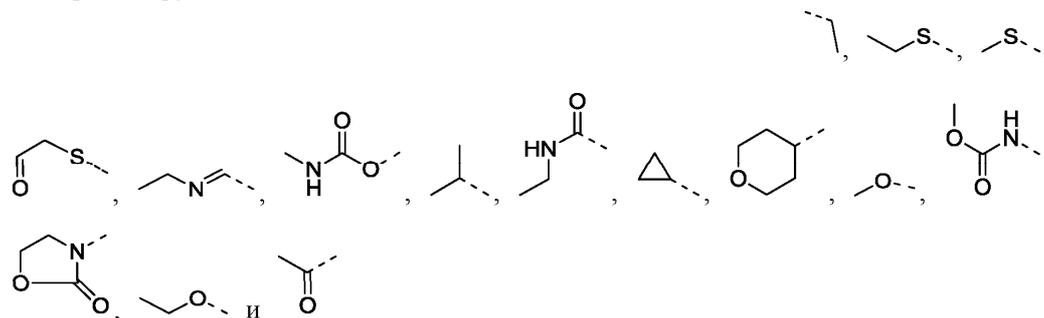
"гетеро" относится к гетероатому или гетероатомной группе; при этом "гетеро" в C₁₋₆гетероалкиле, C₂₋₅гетероалкениле, 3-6-членном гетероциклоалкиле, C₁₋₃гетероалкиле независимо выбран из группы, состоящей из -C(=O)N(R)-, -N(R)-, -C(=NR)-, -(R)C=N-, -S(=O)₂N(R)-, -S(=O)N(R)-, N, -O-, -S-, =O, =S,



В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения R представляет собой H, F, Cl, Br, I, OH, CN, NH₂, CH₃, CH₃CH₂, CH₃O, CF₃, CHF₂ или CH₂F, другие переменные являются такими, как определено выше.

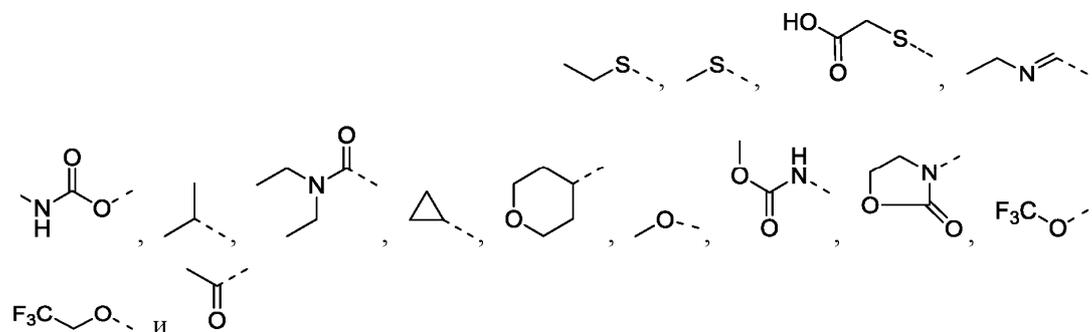
В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения R₁ представляет собой H, OH, CN, NH₂ или выбран из группы, состоящей из C₃-алкила, C₁₋₃гетероалкила, C₂₋₃алкенила, C₂₋₃гетероалкенила, C₃₋₆дикоалкила и 3-6-членного гетероциклоалкила, каждый из которых необязательно замещен 1, 2 или 3 R, и другие переменные являются такими, как определено выше.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения R₁ представляет собой H, OH, CN, NH₂ или выбран из группы, состоящей из CH₃,



каждый из которых необязательно замещен 1, 2 или 3 R, и другие переменные являются такими, как определено выше.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения R₁ выбран из группы, состоящей из H, OH, CN, NH₂,



и другие переменные являются такими, как определено выше.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения R₂ представляет собой H, OH, CN, NH₂, галоген или выбран из группы, состоящей из C₃-алкила, C₁₋₃гетероалкила и C₃₋₆циклоалкила, каждый из которых необязательно замещен 1, 2 или 3 R, и другие переменные являются такими, как определено выше.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения R₂ представляет собой H, OH, CN,

NH_2 , F, Cl, Br, I или выбран из группы, состоящей из CH_3 , , ,  и , каждый из которых необязательно замещен 1, 2 или 3 R, и другие переменные являются такими, как определено выше.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения R_2 выбран из группы, состоящей из

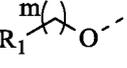
Cl, Br, CN, CH_3 , ,  и , и другие переменные являются такими, как определено выше.

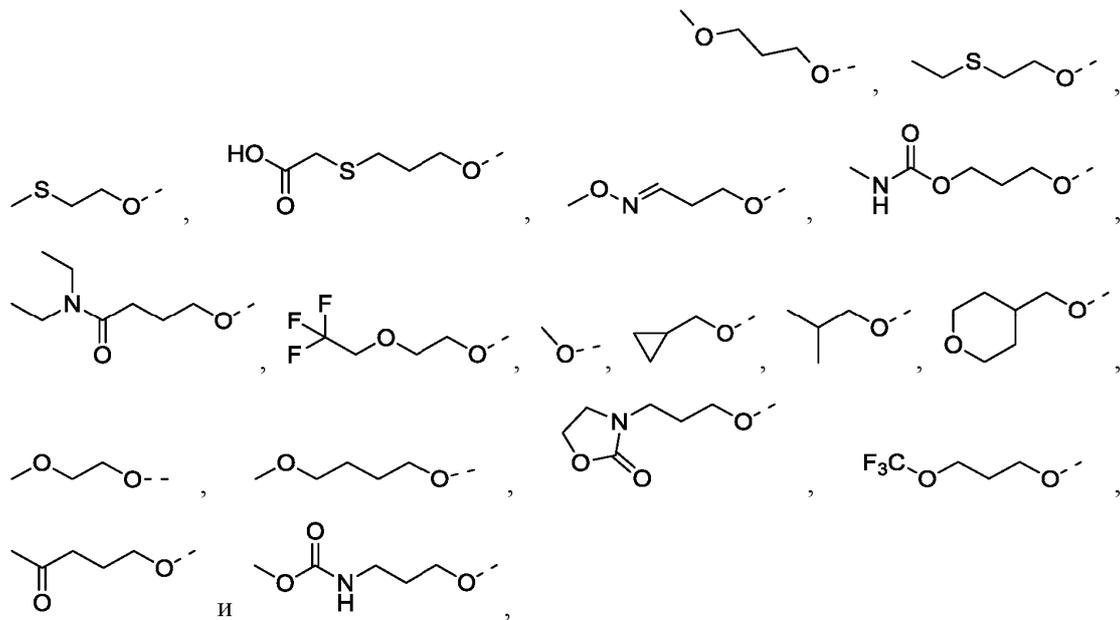
В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения R_3 выбран из группы, состоящей из C_{1-4} -алкила и C_{3-6} -циклоалкила, каждый из которых необязательно замещен 1, 2 или 3 R, и другие переменные являются такими, как определено выше.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения R_3 выбран из группы, состоящей из

, , , ,  и , и другие переменные являются такими, как определено выше.

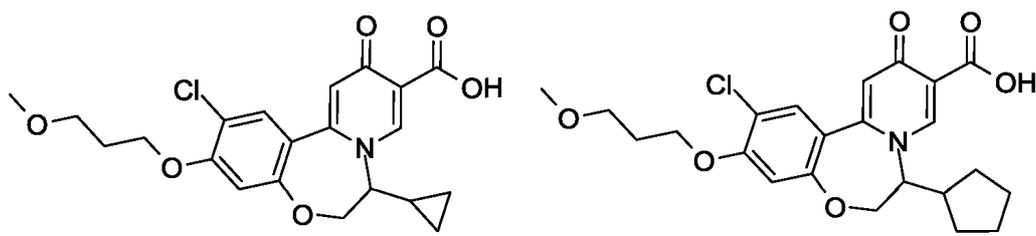
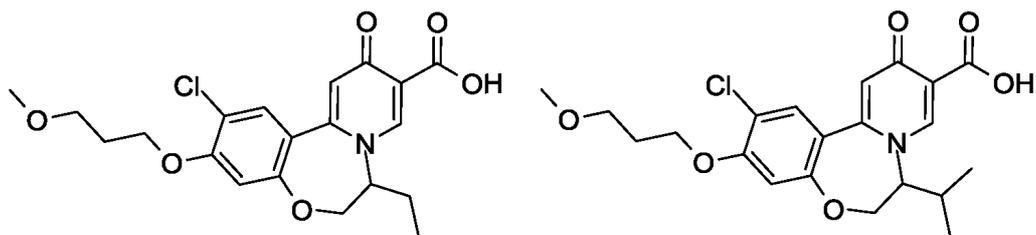
В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения m выбран из группы, состоящей из 0, 1, 2, 3 и 4; и R_1 не является OH, CN, NH_2 при условии, что m равняется 0, и другие переменные являются такими, как определено выше.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения фрагмент R_1  выбран из группы, состоящей из

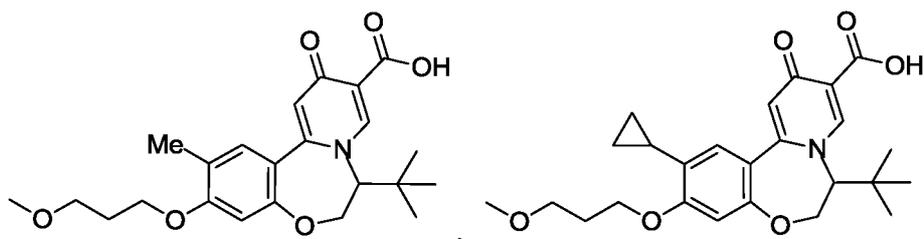


и другие переменные являются такими, как определено выше.

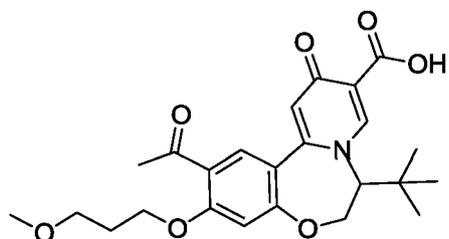
В настоящем изобретении также предусмотрено соединение или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение выбрано из группы, состоящей из



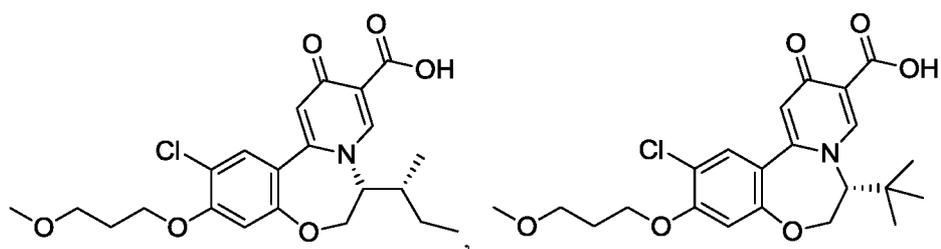
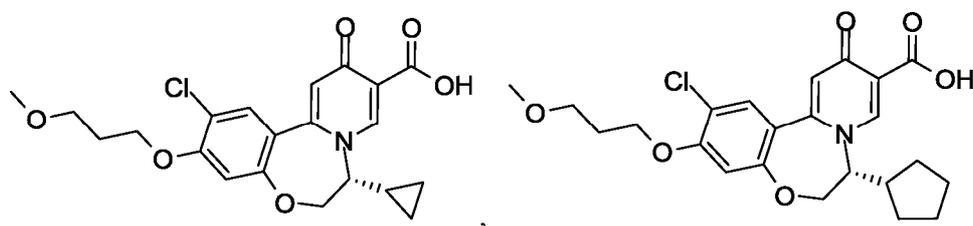
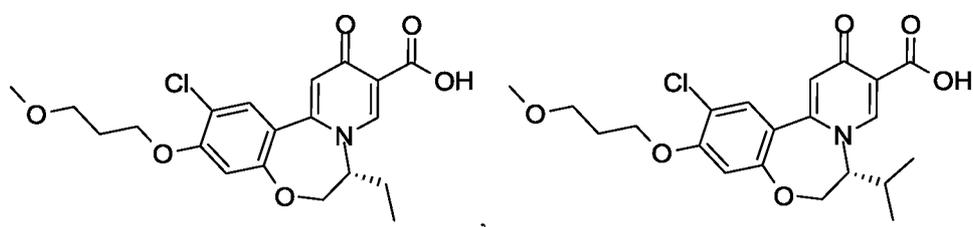


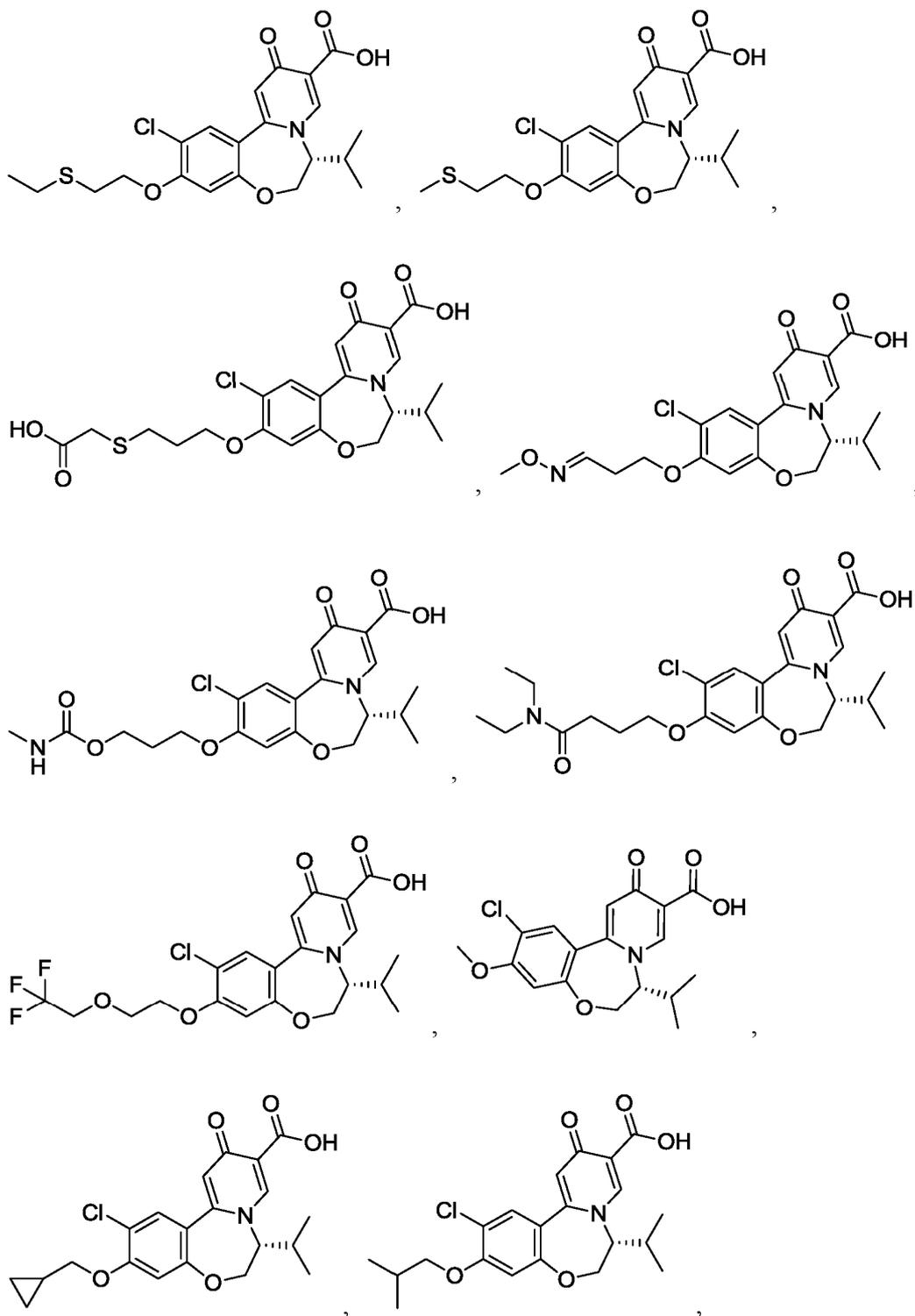


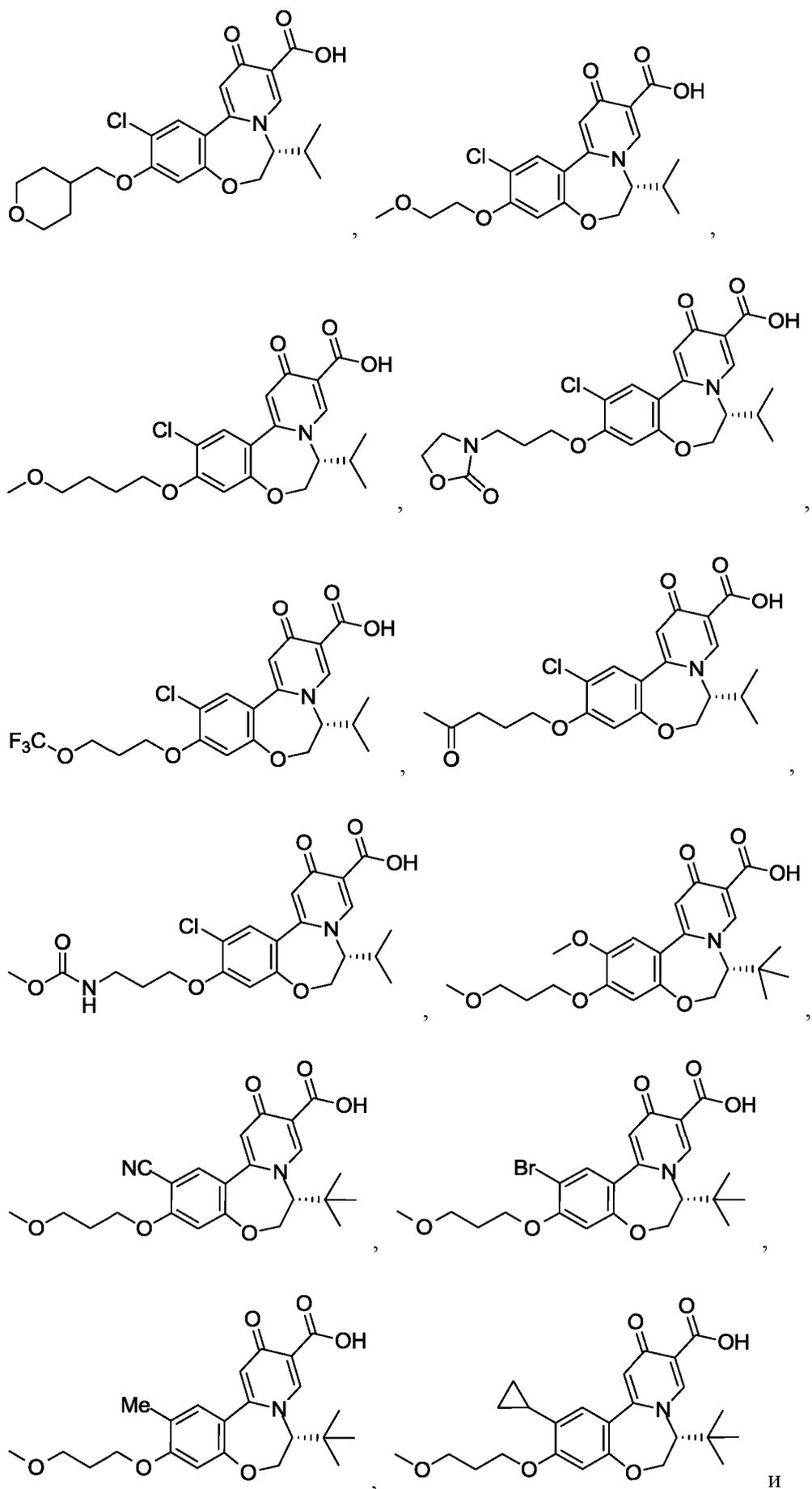
и

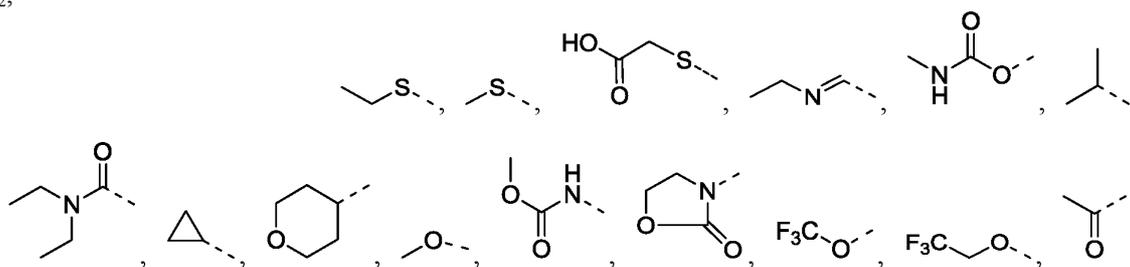


В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения соединение выбрано из группы, состоящей из



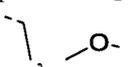
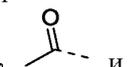




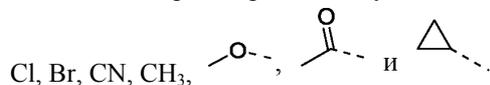
NH₂,

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения R₂ представляет собой H, OH, CN, NH₂, галоген или выбран из группы, состоящей из C₁₋₃алкила, C₁₋₃гетероалкила и C₃₋₆циклоалкила, каждый из которых необязательно замещен 1, 2 или 3 R.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения R₂ представляет собой H, OH, CN,

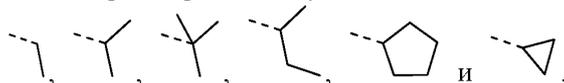
NH₂, F, Cl, Br, I или выбран из группы, состоящей из CH₃, ,  и , каждый из которых необязательно замещен 1, 2 или 3 R.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения R₂ выбран из группы, состоящей из

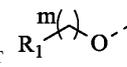


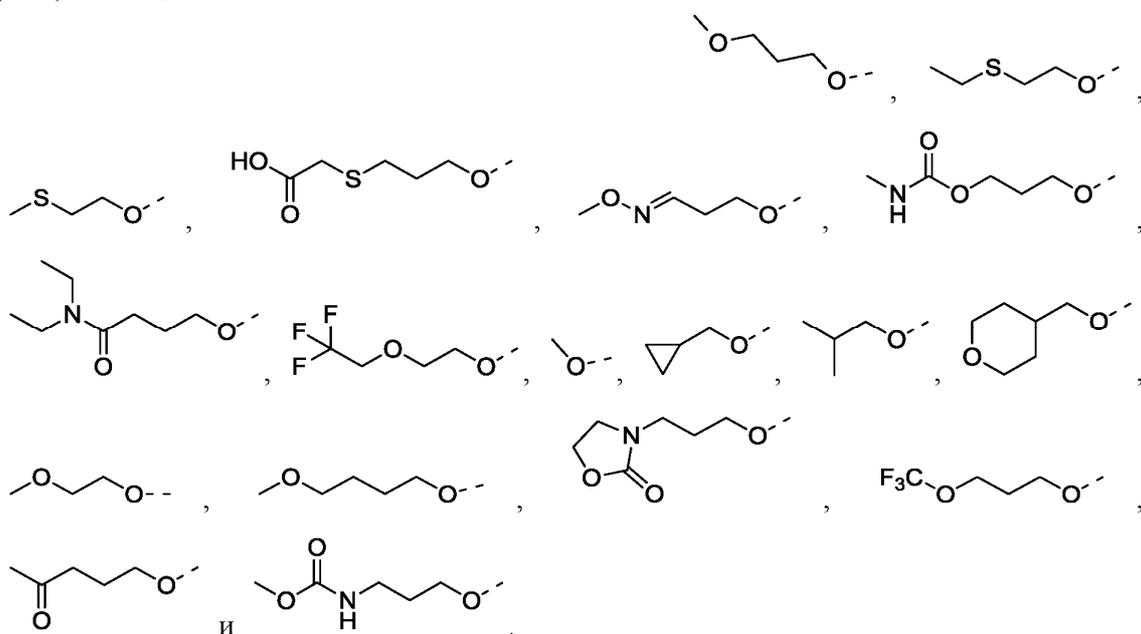
В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения R₃ выбран из группы, состоящей из C₁₋₄алкила и C₃₋₆циклоалкила, каждый из которых необязательно замещен 1, 2 или 3 R.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения R₃ выбран из группы, состоящей из

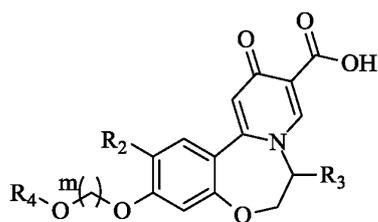


В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения m выбран из группы, состоящей из 0, 1, 2, 3 и 4; и R₁ не является OH, CN, NH₂ при условии, что m равняется 0.

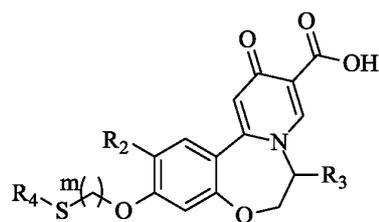
В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения фрагмент  выбран из группы, состоящей из



В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения соединение или его фармацевтически приемлемая соль выбраны из группы, состоящей из

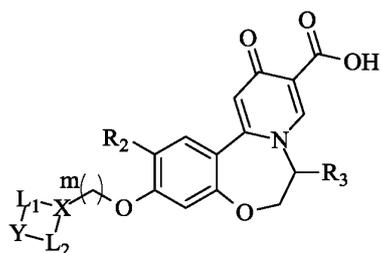


(II)



(III)

и



(IV)

где

R4 представляет собой H или выбран из группы, состоящей из C₁₋₃алкила и C₁₋₃гетероалкила, каждый из которых необязательно замещен 1, 2 или 3 R;

X выбран из группы, состоящей из CH и N;

Y выбран из группы, состоящей из O и CH₂;

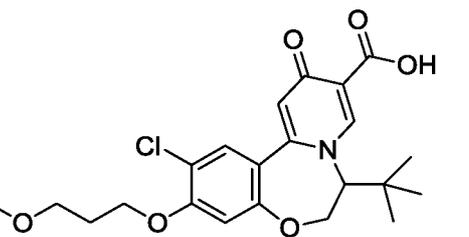
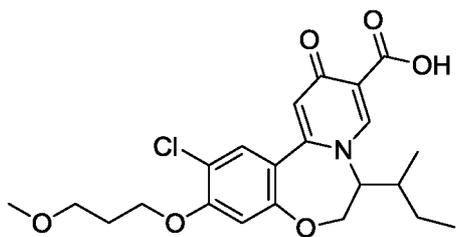
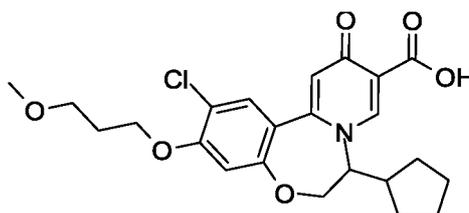
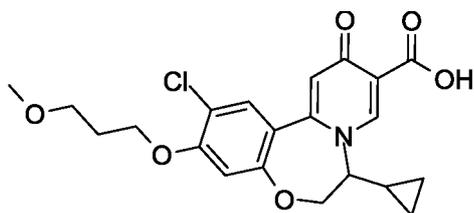
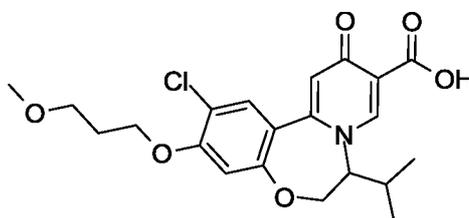
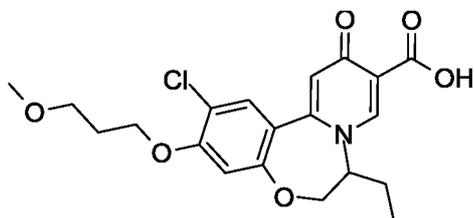
каждый из L₁ и L₂ независимо выбран из группы, состоящей из одинарной связи, -(CH₂)_n- и -C(=O)-; при условии, что оба L₁ и L₂ не являются одинарной связью; n равняется 1 или 2;

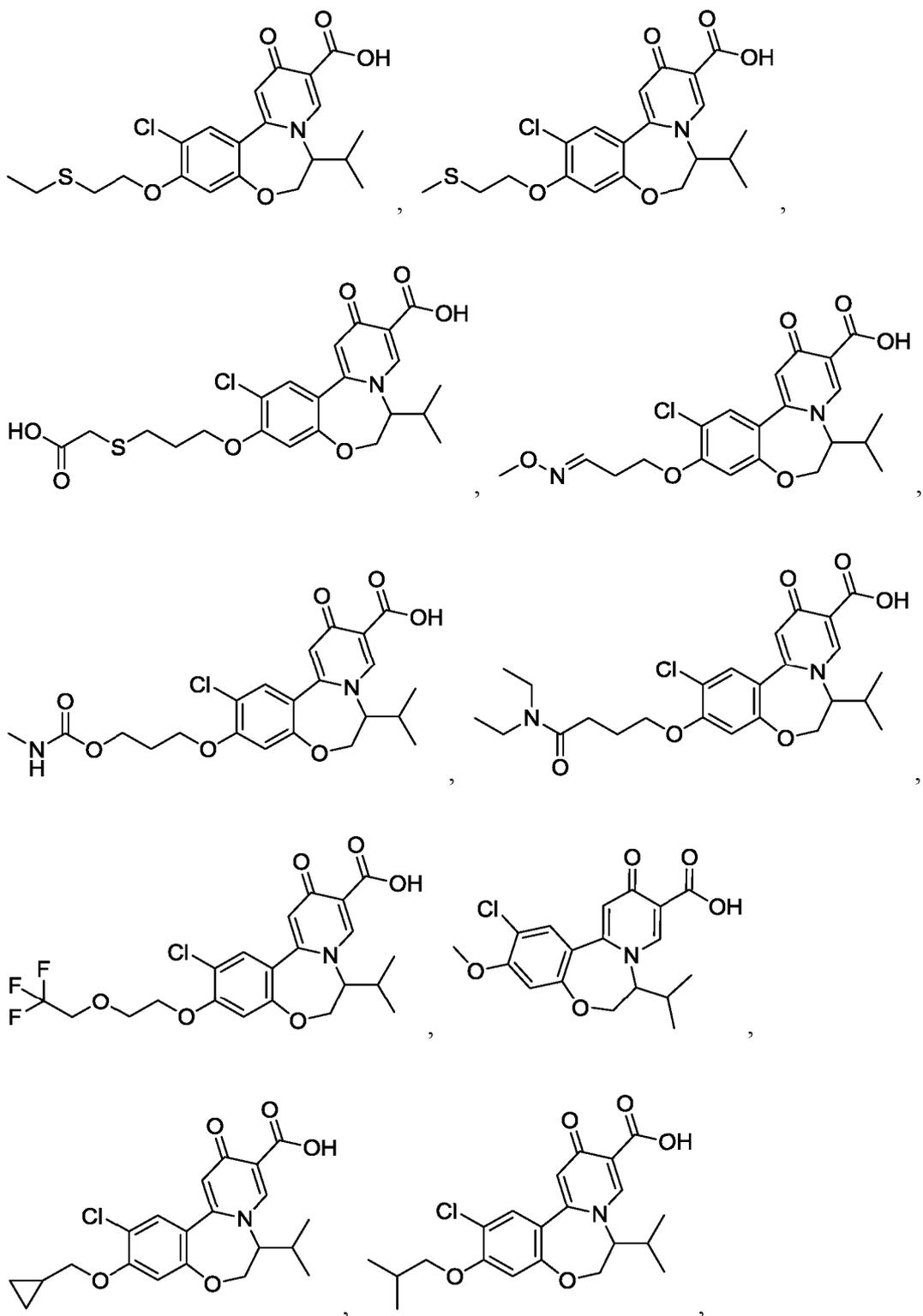
m, R, R₂, R₃ и "гетеро" в C₁₋₃гетероалкиле являются такими, как определено выше;

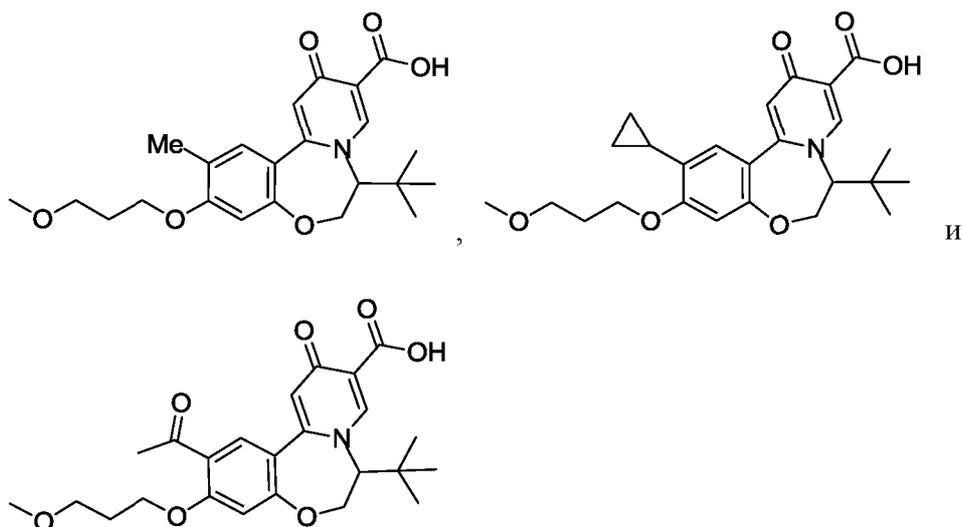
число гетероатомов или гетероатомных групп независимо равняется 1 или 2; и

R₄ не является H при условии, что m равняется 0.

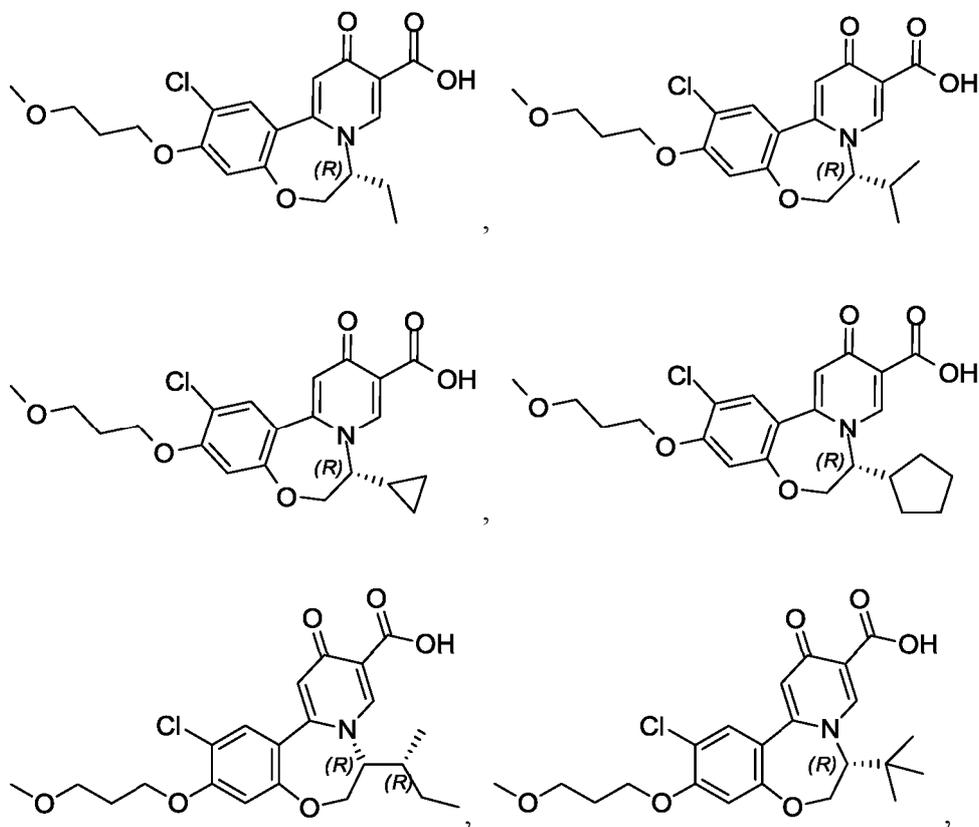
В настоящем изобретении также предусмотрено соединение или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение выбрано из группы, состоящей из

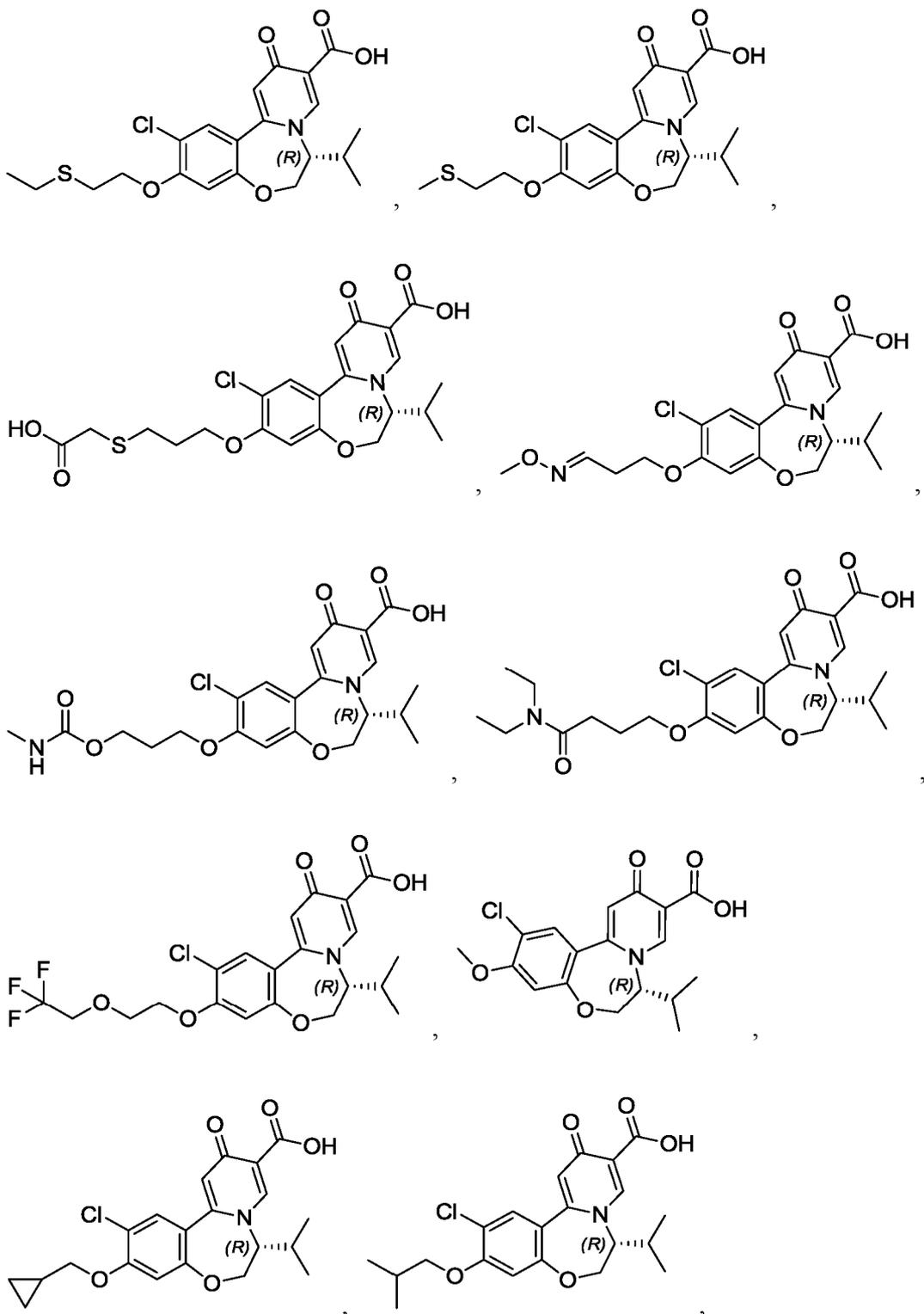


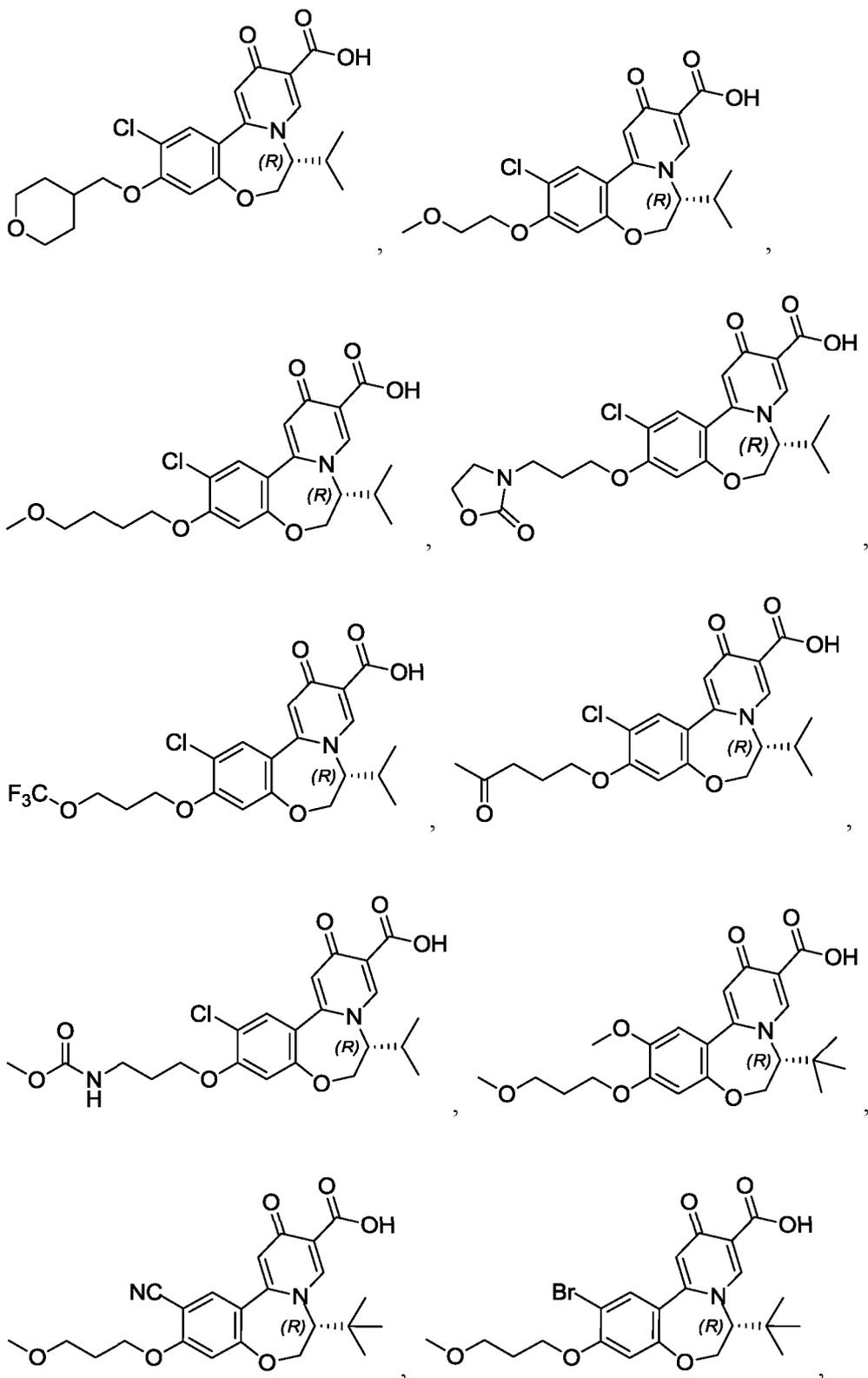




В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения соединение выбрано из группы, состоящей из







действия. Соединения по настоящему изобретению проявляют превосходную стабильность в микросомах печени крыс трех видов, человека и мышей, указывая на то, что соединения не легко метаболизируются. Соединения по настоящему изобретению проявляет лучшее воздействие и биодоступность в фармакокинетических исследованиях на мышах и крысах. Соединения по настоящему изобретению проявляют хорошую активность против HBV как в фармакодинамическом исследовании *in vivo* на мышинной модели HBV гидродинамических инъекций (HDI-HBV) в хвостовую вену, так и на мышинной модели вируса гепатита В (AAV-HBV), опосредованную рекомбинантным вектором на основе аденоассоциированного вируса типа 8. Соединения по настоящему изобретению проявляют хорошую переносимость в 14-дневном претоксикологическом тесте у крыс и демонстрируют хорошую переносимость в тесте нейротоксичности однократной дозы.

Соединение с (R)-конфигурацией по настоящему изобретению характеризуется 3-5-кратным увеличением активности против HBV по сравнению с рацемическим соединением по настоящему изобретению и характеризуется 10-кратным повышением активности против HBV по сравнению с соединением с (S)-конфигурацией по настоящему изобретению.

Определения и описание

Если не указано иное, следующие термины при использовании в описании и формуле настоящего изобретения имеют следующие значения. Конкретный термин или выражение при отсутствии точного определения не следует считать неопределенным или неясным, а следует понимать в соответствии с общепринятым значением. Если в данном документе встречается торговое название, то предполагается, что оно относится к соответствующему продукту или его активному ингредиенту. Термин "фармацевтически приемлемый" используется в данном документе применительно к тем соединениям, материалам, композициям и/или лекарственным формам, которые в рамках объективного врачебного мнения являются подходящими для применения в контакте с тканями людей и животных без избыточной токсичности, раздражения, аллергической реакции или других проблем или осложнений в соответствии с обоснованным соотношением польза/риск.

Термин "фармацевтически приемлемая соль" относится к соли соединения по настоящему изобретению, которую получают посредством осуществления реакции соединения, имеющего конкретный заместитель по настоящему изобретению, с относительно нетоксичными кислотой или основанием. Если соединение по настоящему изобретению содержит относительно кислотную функциональную группу, то соль присоединения основания можно получить посредством приведения нейтральной формы соединения в контакт с достаточным количеством основания в чистом растворе или подходящем инертном растворителе. Фармацевтически приемлемая соль присоединения основания включает соль натрия, калия, кальция, аммония, органического амина или магния, или подобные соли. Если соединение по настоящему изобретению содержит относительно основную функциональную группу, то соль присоединения кислоты можно получить посредством приведения нейтральной формы соединения в контакт с достаточным количеством кислоты в чистом растворе или подходящем инертном растворителе. Примеры фармацевтически приемлемой соли присоединения кислоты включают соль неорганической кислоты, где неорганическая кислота включает, например, хлористоводородную кислоту, бромистоводородную кислоту, азотную кислоту, угольную кислоту, бикарбонат, фосфорную кислоту, моногидрофосфат, дигидрофосфат, серную кислоту, гидросульфат, йодистоводородную кислоту, фосфорную кислоту, и т. п.; и соль органической кислоты, где органическая кислота включает, например, уксусную кислоту, пропионовую кислоту, изомаляновую кислоту, малеиновую кислоту, малоновую кислоту, бензойную кислоту, янтарную кислоту, субериновую кислоту, фумаровую кислоту, молочную кислоту, миндальную кислоту, фталевую кислоту, бензолсульфоновую кислоту, *p*-толуолсульфоновую кислоту, лимонную кислоту, винную кислоту и метансульфоновую кислоту и т.п.; и соль аминокислоты (такой как аргинин и т.п.), и соль органической кислоты, такой как глюкуроновая кислота и т.п. (см. Berge et al., "Pharmaceutical Salts", *Journal of Pharmaceutical Science* 66: 1-19 (1977)). Определенные конкретные соединения по настоящему изобретению, которые содержат как основные, так и кислотные функциональные группы, можно превратить в любую соль присоединения основания или соль присоединения кислоты.

Предпочтительно посредством приведения соли в контакт с основанием или кислотой общепринятым способом, а затем отделения исходного соединения, таким образом, восстанавливают нейтральную форму соединения. Разница между исходной формой соединения и его различными солевыми формами заключается в конкретных физических свойствах, таких как различная растворимость в полярном растворителе.

Термин "фармацевтически приемлемая соль", используемый в данном документе, относится к производному соединения по настоящему изобретению, где исходное соединение модифицировано посредством образования соли с кислотой или основанием. Примеры фармацевтически приемлемой соли включают без ограничения соль неорганической кислоты или органической кислоты с основным фрагментом, таким как амин, соль щелочного металла или органическую соль с фрагментом кислоты, такой как карбоновая кислота и т.п. Фармацевтически приемлемая соль включает общепринятую нетоксичную соль или соль четвертичного аммония и исходного соединения, такую как соль, образованную нетоксичной неорганической кислотой или органической кислотой. Общепринятая нетоксичная соль включает без

ограничения соль, полученную из неорганической кислоты и органической кислоты, где неорганическая кислота или органическая кислота выбраны из группы, состоящей из 2-ацетоксибензойной кислоты, 2-гидроксиэтансульфоновой кислоты, уксусной кислоты, аскорбиновой кислоты, бензолсульфоновой кислоты, бензойной кислоты, бикарбоната, угольной кислоты, лимонной кислоты, этилендиаминтетрауксусной кислоты, этандисульфоновой кислоты, этансульфоновой кислоты, фумаровой кислоты, глюкогептозы, глюконовой кислоты, глутаминовой кислоты, гликолевой кислоты, бромистоводородной кислоты, хлористоводородной кислоты, гидройодида, гидроксила, гидроксинафталина, изэтионовой кислоты, молочной кислоты, лактозы, додецилсульфоновой кислоты, малеиновой кислоты, яблочной кислоты, миндальной кислоты, метансульфоновой кислоты, азотной кислоты, щавелевой кислоты, павовой кислоты, пантотеновой кислоты, фенилуксусной кислоты, фосфорной кислоты, полигалактуроновой кислоты, пропионовой кислоты, салициловой кислоты, стеариновой кислоты, надуксусной кислоты, янтарной кислоты, сульфаминовой кислоты, сульфаниловой кислоты, серной кислоты, танина, винной кислоты и п-толуолсульфоновой кислоты.

Фармацевтически приемлемую соль по настоящему изобретению можно получить из исходного соединения, которое содержит кислотный или основной фрагмент, общепринятым химическим способом. Как правило, такую соль можно получить посредством осуществления реакции свободной кислотной или основной формы соединения со стехиометрическим количеством соответствующего основания или кислоты в воде или органическом растворителе или в их смеси. Как правило, неводные среды, такие как простой эфир, этилацетат, этанол, изопропанол или ацетонитрил, являются предпочтительными.

Некоторые соединения по настоящему изобретению могут находиться в несольватированной форме или сольватированной форме, в том числе в гидратированной форме. Как правило, сольватированная форма эквивалентна несольватированной форме, и обе формы включены в объем настоящего изобретения.

Некоторые соединения по настоящему изобретению могут иметь асимметричный атом углерода (оптический центр) или двойную связь. Все из рацемата, диастереомера, геометрического изомера и отдельного изомера включены в объем настоящего изобретения.

Если не указано иное, абсолютная конфигурация стереоцентра представлена клиновидной сплошной связью () и клиновидной пунктирной связью (), волнистая линия () представляет собой клиновидную сплошную связью () или клиновидную пунктирную связью (), а относительная конфигурация стереоцентра представлена прямой сплошной связью () и прямой пунктирной связью (). Если соединение, описанное в данном документе, содержит олефиновую двойную связь или другие геометрические асимметричные центры, то геометрические E- и Z-изомеры включены, если не указано иное. Подобным образом все таутомерные формы включены в объем настоящего изобретения.

Если не указано иное, термины "обогащенный одним изомером", "обогащенный изомером", "обогащенный одним энантиомером" или "обогащенный энантиомером" относятся к содержанию одного из изомеров или энантиомеров, которое составляет менее 100%, и при этом содержание изомера или энантиомера составляет 60% или больше, или 70% или больше, или 80% или больше, или 90% или больше, или 95% или больше, или 96% или больше, или 97% или больше, или 98% или больше, или 99% или больше, или 99,5% или больше, или 99,6% или больше, или 99,7% или больше, или 99,8% или больше, или 99,9% или больше.

Если не указано иное, термины "избыток изомера" или "избыток энантиомера" относятся к разнице между значениями относительного процентного содержания двух изомеров или энантиомеров. Например, если содержание одного из изомеров или энантиомеров составляет 90%, а другого составляет 10%, то избыток изомера или энантиомера (значение ee) составляет 80%.

Соединение по настоящему изобретению может находиться в форме конкретного геометрического изомера или стереоизомера. В настоящем изобретении рассматриваются все такие соединения, в том числе цис- и транс-изомер, (-)- и (+)-энантиомер, (R)- и (S)-энантиомер, диастереоизомер, (D)-изомер, (L)-изомер и рацемическая смесь и другие смеси, например энантиомерно или диастереоизомерно обогащенная смесь, все из которых включены в объем настоящего изобретения. Заместитель, такой как алкил, может иметь дополнительный асимметричный атом углерода. Все такие изомеры и их смеси включены в объем настоящего изобретения.

Оптически активный (R)- и (S)-изомер или D- и Z-изомер можно получить с применением хирального синтеза, или хиральных реагентов, или других общепринятых методик. Если необходимо получить один тип энантиомера определенного соединения по настоящему изобретению, чистый необходимый энантиомер можно получить посредством асимметричного синтеза или дериватизации с помощью хирального вспомогательного вещества с последующим разделением полученной диастереомерной смеси и отщеплением вспомогательной группы. В качестве альтернативы, если молекула содержит основную функциональную группу (такую как амина) или кислотную функциональную группу (такую как карбоксильная), соединение реагирует с соответствующими оптически активными кислотой или основанием с образованием соли диастереомерного изомера, которую затем подвергают диастереомерному разделе-

нию посредством общепринятого способа, известного из уровня техники, с получением чистого энантиомера. Кроме того, энантиомеры и диастереоизомеры обычно выделяют посредством хроматографии, в которой используется хиральная неподвижная фаза, необязательно в комбинации со способом химической дериватизации (например, карбамат, полученный из амина).

Соединение по настоящему изобретению может содержать не природное соотношение атомных изотопов при одном или более атомах, которые составляют соединение. Например, соединение может быть мечено радиоактивным изотопом, таким как тритий (^3H), йод-125 (^{125}I) или С-14 (^{14}C). Все изотопные варианты соединения по настоящему изобретению, вне зависимости от того, являются ли они радиоактивными или нет, включены в объем настоящего изобретения.

Термин "фармацевтически приемлемый носитель" относится к любому средству или несущей среде, которые способны доставлять эффективное количество активного вещества по настоящему изобретению, не оказывают отрицательного воздействия на биологическую активность активного вещества и не вызывают какого-либо токсичного побочного эффекта у хозяина или пациента. Иллюстративный носитель включает воду, растительное и минеральное масло, основу для крема, основу для лосьона, основу для мази и т.п. Основа содержит суспендирующее средство, загуститель, вещество, способствующее проникновению, и т.п. Их составы хорошо известны специалисту в области косметических средств или в области фармацевтических препаратов для местного применения. За дополнительной информацией о носителе можно обращаться к Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Ed., Lippincott, Williams & Wilkins (2005), содержание которого включено в данный документ посредством ссылки.

Термин "вспомогательное вещество" обычно относится к среде-носителю, разбавителю и/или среде-носителю, необходимым для составления эффективной фармацевтической композиции.

Применительно к лекарственному препарату или фармакологически активному средству термин "эффективное количество" или "терапевтически эффективное количество" относится к нетоксичному, но достаточному количеству для достижения необходимого эффекта лекарственного препарата или средства. Применительно к лекарственной форме по настоящему изобретению для перорального применения "эффективное количество" активного вещества в композиции относится к количеству, необходимому для достижения необходимого эффекта при объединении с другим активным веществом в композиции. Эффективное количество отличается для каждого человека и определяется в зависимости от возраста и общего состояния реципиента, а также от конкретного активного вещества. Соответствующее эффективное количество в каждом отдельном случае может быть определено специалистом в данной области техники на основе обычного эксперимента.

Термины "активный ингредиент", "терапевтическое средство", "активное вещество" или "активное средство" относятся к химическому соединению, с помощью которого можно эффективно лечить целевое нарушение, заболевание или состояние.

"Необязательный" или "необязательно" означает, что последующее событие или условие может реализовываться, но не является необходимым, и данный термин включает случай, в котором событие или условие реализуется, и случай, в котором событие или условие не реализуется.

Термин "замещенный" означает, что один или более атомов водорода при конкретном атоме замещены заместителем, в том числе дейтерием и вариантами водорода, при условии, что валентность конкретного атома является нормальной, и замещенное соединение является стабильным. Если заместитель представляет собой кетогруппу (т.е. =O), то это означает, что два атома водорода являются замещенными. Положения в ароматическом кольце не могут быть замещены кетогруппой. Термин "необязательно замещенный" означает, что атом может быть замещенным или не замещенным заместителем, если не указано иное, причем тип и число заместителей могут быть произвольными при условии, что это химически достижимо.

Если любая переменная (такая как R) встречается более одного раза в составе или структуре соединения, то определение переменной в каждом случае является независимым. Таким образом, например, если группа замещена 0-2 R, то данная группа может быть необязательно замещена не более чем двумя R, где определение R в каждом случае является независимым. Более того, комбинация заместителя и/или его варианта является допустимой, только если такая комбинация приводит к образованию стабильного соединения.

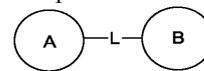
Если количество линкерных групп равно 0, например $-(\text{CRR})_0-$, это означает, что линкерная группа представляет собой одинарную связь.

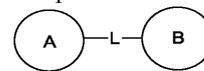
Если одна из переменных выбрана из одинарной связи, это означает, что две группы, соединенные одинарной связью, соединены непосредственно. Например, если L в A-L-Z представляет собой одинарную связь, то структура A-L-Z фактически представляет собой A-Z.

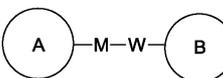
Если заместитель не указан, это означает, что заместитель отсутствует. Например, если X не указан в A-X, то структура A-X фактически представляет собой A. Если связь заместителя может быть перекрестно связана с более чем одним атомом в кольце, то такой заместитель может быть связан с любым ато-

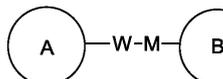
мом кольца. Например, структурное звено  или  означает, что заместитель R мо-

жет находиться в любом положении в циклогексиле или циклогексадиене. Если в перечисленном заместителе не указано, посредством какого атома он связан с замещаемой группой, такой заместитель может быть связан посредством любого его атома. Например, если пиридил выполняет функцию заместителя, он может быть связан с замещаемой группой посредством любого атома углерода в пиридиновом кольце. Если в перечисленной линкерной группе не указано направление связывания, то направление связывания



является произвольным; например, если линкерная группа L, содержащаяся в , представляет собой -M-W-, то -M-W- может связывать кольцо A и кольцо B с образовани-

ем  в направлении, соответствующем порядку чтения слева направо, и с образовани-

ем  в направлении, противоположном порядку чтения слева направо. Комбинация заместителей и/или их вариантов является допустимой, только если такая комбинация может приводить к образованию стабильного соединения.

Если не указано иное, термин "гетеро" представляет собой гетероатом или гетероатомную группу (например, группу атомов, содержащую гетероатом), в том числе атом, отличный от атома углерода (C) и водорода (H), и группу атомов, содержащую вышеуказанный гетероатом, например, в том числе атом кислорода (O), азота (N), серы (S), кремния (Si), германия (Ge), алюминия (Al), бора (B), -O-, -S-, =O, =S, -C(=O)O-, -C(=O)-, -C(=S)-, -S(=O), -S(=O)₂- и группу, состоящую из -C(=O)N(H)-, -N(H)-, -C(=NH)-, -S(=O)₂N(H)- и -S(=O)N(H)-, каждый из которых необязательно замещен.

Если не указано иное, термин "кольцо" относится к замещенному или незамещенному циклоалкилу, гетероциклоалкилу, циклоалкенилу, гетероциклоалкенилу, циклоалкинилу, гетероциклоалкинилу, арилу или гетероарилу. Так называемое кольцо включает одно кольцо, двойное кольцо, спирокольцо, конденсированное кольцо или кольцо с мостиковой связью. Число атомов в кольце обычно определено как число членов в кольце, например "5-7-членное кольцо" означает, что от 5 до 7 атомов распределены в виде кольца. Если не указано иное, кольцо необязательно содержит от 1 до 3 гетероатомов. Следовательно, "5-7-членное кольцо" включает, например, фенил, пиридил и пиперидинил; с другой стороны, термин "5-7-членное гетероциклоалкильное кольцо" включает пиридил и пиперидинил, но не включает фенил. Термин "кольцо" также включает кольцевую систему, содержащую по меньшей мере одно кольцо, где каждое кольцо независимо соответствует вышеуказанному определению.

Если не указано иное, термин "гетероцикл" или "гетероцикло" относится к стабильному моноциклическому, бициклическому или трициклическому кольцу, содержащему гетероатом или гетероатомную группу, которое может быть насыщенным, частично ненасыщенным или ненасыщенным (ароматическим) и может содержать атомы углерода и 1, 2, 3 или 4 гетероатома в кольце, независимо выбранных из N, O и S, где любой из вышеуказанного гетероцикла может быть конденсирован с бензольным кольцом с образованием бициклического кольца. Гетероатомы азота и серы необязательно могут быть окислены (т.е. NO и S(O)_p, p равняется 1 или 2). Атом азота может быть замещенным или незамещенным (т.е. N или NR, где R представляет собой H или другие заместители, уже определенные в данном документе). Гетероцикл может быть присоединен к боковой группе посредством любого гетероатома или атома углерода с образованием стабильной структуры. Если полученное соединение является стабильным, гетероцикл, описанный в данном документе, может быть замещен в положении атома углерода или азота. Атом азота в гетероцикле необязательно кватернизирован. В предпочтительном варианте осуществления, если общее число атомов S и O в гетероцикле превышает 1, то гетероатомы не являются смежными друг с другом. В другом предпочтительном варианте осуществления общее число атомов S и O в гетероцикле не превышает 1. Как используется в данном документе, термин "ароматическая гетероциклическая группа" или "гетероарил" относится к стабильному 5-, 6- или 7-членному моноциклическому или бициклическому или 7-, 8-, 9- или 10-членному бициклическому гетероциклическому ароматическому кольцу, которое содержит атомы углерода и 1, 2, 3 или 4 гетероатома кольца, независимо выбранных из N, O и S. Атом азота может быть замещенным или незамещенным (т.е. N или NR, где R представляет собой H или другие заместители, уже определенные в данном документе). Гетероатомы, представляющие собой азот и серу, необязательно могут быть окислены (т.е. NO и S(O)_p, p равняется 1 или 2). Следует отметить, что общее количество атомов S и O в ароматическом гетероцикле не превышает один. Кольцо с мостиковой связью также включено в определение гетероцикла. Кольцо с мостиковой связью образуется, если один или более атомов (т.е. C, O, N или S) соединяют два несмежных атома углерода или азота. Предпочтительное кольцо с мостиковой связью включает без ограничения один атом углерода, два атома углерода, один атом азота, два атома азота и одну группу углерод-азот. Следует отметить, что мостиковая связь всегда превращает моноциклическое кольцо в трициклическое кольцо. В кольце с мостиковой связью заместитель в кольце также может присутствовать при мостиковой связи.

Примеры гетероциклического соединения включают без ограничения акридинил, азоцинил, бензи-

мидазолил, бензофуранил, бензомеркаптофуранил, бензомеркаптофенил, бензоксазолил, бензоксазолинил, бензотиазолил, бензотриазолил, бензотетразолил, бензоизоксазолил, бензоизотиазолил, бензоимидазолинил, карбазолил, 4aH-карбазолил, карболинил, хроманил, хромен, циннолинил, декагидрохинолинил, 2H,6H-1,5,2-дигтиазинил, дигидрофуро[2,3-b]тетрагидрофуранил, фуранил, фуразанил, имидазолидинил, имидазолинил, имидазолил, 1H-индазолил, индоленил, индолинил, индолизинил, индолил, 3H-индолил, изобензофуранил, изоиндолил, изоиндолинил, изохинолинил, изотиазолил, изоксазолил, метилendioксифенил, морфолинил, нафтиридилил, октагидроизохинолинил, оксадиазолил, 1,2,3-оксадиазолил, 1,2,4-оксадиазолил, 1,2,5-оксадиазолил, 1,3,4-оксадиазолил, оксазолидинил, оксазолил, гидроксиндолил, пиримидинил, фенантридинил, фенантролинил, феназин, фенотиазин, бензоксантинил, фенолоксазинил, фталазинил, пиперазинил, пиперидинил, пиперидонил, 4-пиперидонил, пиперонил, птеридинил, пуринил, пиранил, пиразинил, пиразолидинил, пиразолинил, пиразолил, пиридазинил, пиридооксазолил, пиридоимидазолил, пиридотиазолил, пиридинил, пирролидинил, пирролинил, 2H-пирролил, пирролил, хиназолинил, хинолинил, 4H-хинолизинил, хиноксалинил, хинуклидинил, тетрагидрофуранил, тетрагидроизохинолинил, тетрагидрохинолинил, тетразолил, 6H-1,2,5-тиадиазинил, 1,2,3-тиадиазолил, 1,2,4-тиадиазолил, 1,2,5-тиадиазолил, 1,3,4-тиадиазолил, тиантренил, тиазолил, изотиазолилтиенил, тиенооксазолил, тиенотиазолил, тиеноимидазолил, тиенил, триазинил, 1H-1,2,3-триазолил, 2H-1,2,3-триазолил, 1H-1,2,4-триазолил, 4H-1,2,4-триазолил и ксантенил. Также включены соединения с конденсированными кольцами и спиросоединения.

Если не указано иное, термин "гидрокарбил" или его гипонимы (например, алкил, алкенил, алкинил и арил и т.д.), сами по себе или как часть другого заместителя, относятся к линейной, разветвленной цепи, или циклическому углеводородному радикалу, или любой их комбинации. Они могут быть полностью насыщенными (например, алкил), моно- или полиненасыщенными (например, алкенил, алкинил и арил), могут быть моно-, ди- или полизамещенными, могут быть одновалентными (например, метил), двухвалентными (например, метилен) или поливалентными (например, метенил), могут также включать двухвалентную или поливалентную группу, имеют конкретное число атомов углерода (например, C₁-C₁₂ означает от 1 до 12 атомов углерода, причем C₁₋₁₂ выбран из C₁, C₂, C₃, C₄, C₅, C₆, C₇, C₈, C₉, C₁₀, C₁₁ и C₁₂; C₃₋₁₂ выбран из C₃, C₄, C₅, C₆, C₇, C₈, C₉, C₁₀, C₁₁ и C₁₂). Термин "гидрокарбил" включает без ограничения алифатический гидрокарбил и ароматический гидрокарбил. Алифатический гидрокарбил включает линейный и циклический гидрокарбил, в частности включает без ограничения алкил, алкенил и алкинил. Ароматический гидрокарбил включает без ограничения 6-12-членный ароматический гидрокарбил, такой как фенил, нафтил и т.п. В некоторых вариантах осуществления термин "гидрокарбил" относится к линейной или разветвленной группе или их комбинации, которая может быть полностью насыщенной, моно- или полиненасыщенной, и может включать двухвалентную или поливалентную группу. Примеры насыщенной гидрокарбильной группы включают без ограничения метил, этил, n-пропил, изопропил, n-бутил, трет-бутил, изобутил, втор-бутил, циклогексил, (циклогексил)метил, циклопропилметил и гомолог или изомер n-амила, n-гексила, n-гептила, n-октила и других групп атомов. Ненасыщенный гидрокарбил имеет одну или несколько двойных или тройных связей. Примеры ненасыщенного алкила включают без ограничения винил, 2-пропенил, бутенил, кротил, 2-изопентенил, 2-(бутадиенил), 2,4-пентадиенил, 3-(1,4-пентадиенил), этинил, 1-и 3-пропинил, 3-бутинил и гомологи и изомеры более высокого порядка.

Если не указано иное, термин "гетерогидрокарбил" или его гипонимы (такие как гетероалкил, гетероалкенил, гетероалкинил и гетероарил и т.д.), сами по себе или как часть другого заместителя, относятся к стабильной линейной, разветвленной или циклической углеводородной группе или любой их комбинации, которая содержит конкретное число атомов углерода и по меньшей мере один гетероатом. В некоторых вариантах осуществления термин "гетероалкил" сам по себе или в комбинации с другим термином относится к стабильной линейной цепи, разветвленному углеводородному радикалу или их комбинации, которая содержит конкретное число атомов углерода и по меньшей мере один гетероатом. В конкретном варианте осуществления гетероатом выбран из В, О, N и S, где атомы азота и серы необязательно окислены, и атом азота необязательно кватернизирован. Гетероатом или гетероатомная группа могут находиться в любом внутреннем положении гетерогидрокарбила, в том числе в положении, где гидрокарбил присоединяется к остальной части молекулы. Но термины "алкокси", "алкиламино" и "алкилтио" (или тиоалкил) используются в их общепринятом значении и означают алкильную группу, соединенную с остальной частью молекулы посредством атома кислорода, аминогруппы или атома серы соответственно. Примеры включают без ограничения

$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}(\text{O})-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}(\text{O})_2-\text{CH}_3$, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{O}-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{N}-\text{OCH}_3$ и $-\text{CH}=\text{CH}-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$.

Могут присутствовать не более двух последовательно расположенных гетероатомов, таких как $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{OCH}_3$.

Если не указано иное, термины "циклогидрокарбил", "гетероциклогидрокарбил" или их гипонимы (такие как арил, гетероарил, циклоалкил, гетероциклоалкил, циклоалкенил, гетероциклоалкенил, циклоалкинил, гетероциклоалкинил и т.д.), применяемые сами по себе или в комбинации с другим термином, относятся к циклизированному "гидрокарбилу" или "гетерогидрокарбилу". Кроме того, в случае гетеро-

гидрокарбила или гетероциклогидрокарбила (например, гетероалкил и гетероциклоалкил) один гетероатом может занимать положение, в котором гетероцикл присоединяется к остальной части молекулы. Примеры циклоалкила включают без ограничения циклопентил, циклогексил, 1-циклогексенил, 3-циклогексенил, циклогептил и т. п. Неограничивающие примеры гетероциклоалкила включают 1-(1,2,5,6-тетрагидропиридил), 1-пиперидинил, 2-пиперидинил, 3-пиперидинил, 4-морфолинил, 3-морфолинил, тетрагидрофуран-2-ил, тетрагидрофуран-3-ил, тетрагидротиофен-2-ил, тетрагидротиофен-3-ил, 1-пиперазинил и 2-пиперазинил.

Если не указано иное, термин "алкил" означает линейную цепь или разветвленную насыщенную углеводородную группу, которая может быть монозамещенной (например, $-\text{CH}_2\text{F}$) или полизамещенной (например, $-\text{CF}_3$), может быть одновалентной (например, метил), двухвалентной (например, метилен) или поливалентной (например, метенил). Примеры алкила включают метил (Me), этил (Et), пропил (такой как н-пропил и изопропил), бутил (такой как н-бутил, изобутил, втор-бутил, трет-бутил), пентил (такой как н-пентил, изопентил, неопентил) и т.п.

Если не указано иное, термин "алкенил" относится к алкильной группе, имеющей одну или несколько углерод-углеродных двойных связей в любом положении в цепи, которая может быть монозамещенной или полизамещенной и может быть одновалентной, двухвалентной или поливалентной. Примеры алкенила включают этенил, пропенил, бутенил, пентенил, гексенил, бутадиенил, пентадиенил, гексадиенил и т.п.

Если не указано иное, термин "алкинил" относится к алкильной группе, имеющей одну или несколько углерод-углеродных тройных связей в любом положении в цепи, которая может быть монозамещенной или полизамещенной и может быть одновалентной, двухвалентной или поливалентной. Примеры алкинила включают этинил, пропинил, бутинил, пентинил и т.п.

Если не указано иное, циклоалкил включает любой стабильный циклический или полициклический гидрокарбил и любой атом углерода, который является насыщенным, который может быть монозамещенным или полизамещенным и может быть одновалентным, двухвалентным или поливалентным. Примеры циклоалкила включают без ограничения циклопропил, норборнанил, [2.2.2]бициклооктан, [4.4.0]бициклодеканил и т.п.

Если не указано иное, циклоалкенил включает любой стабильный циклический или полициклический гидрокарбил, имеющий одну или несколько ненасыщенных углерод-углеродных одинарных связей в любом положении в кольце, который может быть монозамещенным или полизамещенным и может быть одновалентным, двухвалентным или поливалентным. Примеры циклоалкенила включают без ограничения циклопентенил, циклогексенил и т.п.

Если не указано иное, циклоалкинил включает любой стабильный циклический или полициклический гидрокарбил, имеющий одну или несколько углерод-углеродных тройных связей в любом положении в кольце, который может быть монозамещенным или полизамещенным и может быть одновалентным, двухвалентным или поливалентным.

Если не указано иное, термин "галоген", сам по себе или как часть другого заместителя, относится к атому фтора, хлора, брома или йода. Кроме того, подразумевается, что термин "галогеналкил" включает моногалогеналкил и полигалогеналкил. Например, подразумевается, что термин "галоген($\text{C}_1\text{-C}_4$)алкил" включает без ограничения трифторметил, 2,2,2-трифторэтил, 4-хлорбутил, 3-бромпропил и т. п. Примеры галогеналкила включают без ограничения трифторметил, трихлорметил, пентафторэтил и пентахлорэтил.

Термин "алкокси" представляет любой алкил, определенный выше, имеющий конкретное число атомов углерода, присоединенных посредством кислородного мостика. Если не указано иное, C_{1-6} алкокси включает C_1 -, C_2 -, C_3 -, C_4 -, C_5 - и C_6 алкокси. Примеры алкокси включают без ограничения метокси, этокси, н-пропокси, изопропокси, н-бутокси, втор-бутокси, трет-бутокси, н-пентилокси и S-пентокси.

Если не указано иное, термин "арил" относится к полиненасыщенному ароматическому заместителю, который может быть моно-, ди- или полизамещенным, может быть одновалентным, двухвалентным или поливалентным, может представлять собой одно кольцо или несколько колец (например, от одного до трех колец; где по меньшей мере одно кольцо является ароматическим), которые являются конденсированными совместно или соединенными ковалентно. Термин "гетероарил" относится к арилу (или кольцу), содержащему от одного до четырех гетероатомов. В иллюстративном примере гетероатом выбран из В, О, N и S, где атомы азота и серы необязательно окислены, и атом азота необязательно кватернизирован. Гетероарил может быть присоединен к остальной части молекулы посредством гетероатома. Неограничивающие примеры арила или гетероарила включают фенил, нафтил, бифенил, пирролил, пирозолил, имидазолил, пиразинил, оксазолил, фенилоксазолил, изоксазолил, тиазолил, фуранил, тиенил, пиридил, пиримидинил, бензотиазолил, пуринил, бензимидазолил, индолил, изохинолил, хиноксалинил, хинолил, 1-нафтил, 2-нафтил, 4-бифенил, 1-пирролил, 2-пирролил, 3-пирролил, 3-пиразолил, 2-имидазолил, 4-имидазолил, пиразинил, 2-оксазолил, 4-оксазолил, 2-фенил-4-оксазолил, 5-оксазолил, 3-изоксазолил, 4-изоксазолил, 5-изоксазолил, 2-тиазолил, 4-тиазолил, 5-тиазолил, 2-фурил, 3-фурил, 2-тиенил, 3-тиенил, 2-пиридил, 3-пиридил, 4-пиридил, 2-пиримидил, 4-пиримидил, 5-бензотиазолил, пуринил, 2-бензимидазолил, 5-индолил, 1-изохинолил, 5-изохинолил, 2-хиноксалинил, 5-хиноксалинил, 3-

хинолил и 6-хинолил. Заместитель в любой из указанных выше арильных и гетероарильных кольцевых систем выбран из приемлемых заместителей, описанных ниже.

Если не указано иное, при использовании арила в комбинации с другими терминами (такими как арилокси, арилтио, аралкил) арил включает арильное и гетероарильное кольцо, как определено выше. Таким образом, подразумевается, что термин "аралкил" включает группу (например, бензил, фенэтил, пиридилметил и т.д.), где арил присоединен к алкилу в том числе к алкилу где атом углерода (например, метилен) был заменен таким атомом, как атом кислорода, например, феноксиметил, 2-пиридилокси, 3-(1-нафтилокси)пропил и т.п.

Термин "уходящая группа" относится к функциональной группе или атому, которые могут быть заменены другой функциональной группой или атомом посредством реакции замещения (такой как реакция замещения по аффинности). Например, иллюстративные уходящие группы включают трифлат; хлор, бром и йод; сульфонатную группу, такую как мезилат, тозилат, *n*-бромбензолсульфонат, *n*-толуолсульфонаты и т.п.; ацилокси, такую как ацетокси, трифторацетокси и т.п.

Термин "защитная группа" включает без ограничения "защитную группу для аминогруппы", "защитную группу для гидроксигруппы" или "защитную группу для меркаптогруппы". Термин "защитная группа для аминогруппы" относится к защитной группе, подходящей для блокирования побочной реакции с участием атома азота аминогруппы. Иллюстративные защитные группы для аминогруппы включают без ограничения формил, ацил, такой как алканоил (например, ацетил, трихлорацетил или трифторацетил); алкоксикарбонил, такой как трет-бутоксикарбонил (Boc); арилметоксикарбонил, такой как бензилоксикарбонил (Cbz) и 9-флуоренилметоксикарбонил (Fmoc); арилметил, такой как бензил (Bn), тритил (Tr), 1,1-бис-(4'-метоксифенил)метил; силил, такой как триметилсилил (TMS) и трет-бутилдиметилсилил (TBS) и т.п. Термин "защитная группа для гидроксигруппы" относится к защитной группе, подходящей для блокирования побочной реакции с участием гидроксигруппы. Иллюстративные защитные группы для гидроксигруппы включают без ограничения алкил, такой как метил, этил и трет-бутил; ацил, такой как алканоил (например, ацетил); арилметил, такой как бензил (Bn), *n*-метоксibenзил (PMB), 9-флуоренилметил (Fm) и дифенилметил (бензгидрил, DPM); силил, такой как триметилсилил (TMS) и трет-бутилдиметилсилил (TBS) и т.п.

Соединение по настоящему изобретению можно получать посредством различных способов синтеза, хорошо известных специалистам в данной области техники, в том числе посредством следующего перечисленного варианта осуществления, варианта осуществления, образованного следующим перечисленным вариантом осуществления в комбинации с другими способами химического синтеза и эквивалентных замен, хорошо известных специалистам в данной области техники. Предпочтительный вариант осуществления включает без ограничения вариант осуществления настоящего изобретения.

Используемый в настоящем изобретении растворитель является коммерчески доступным.

Названия соединений даны вручную или с помощью программного обеспечения ChemDraw®, а для коммерчески доступных соединений используются их названия в соответствии с каталогом поставщика.

Краткое описание графических материалов

На фиг. 1 показаны изменения содержания HBsAg в плазме крови мышей после введения в различные дни.

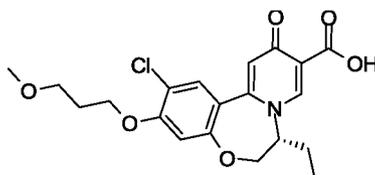
На фиг. 2 показаны изменения содержания HBsAg у мышей после введения в различные даты.

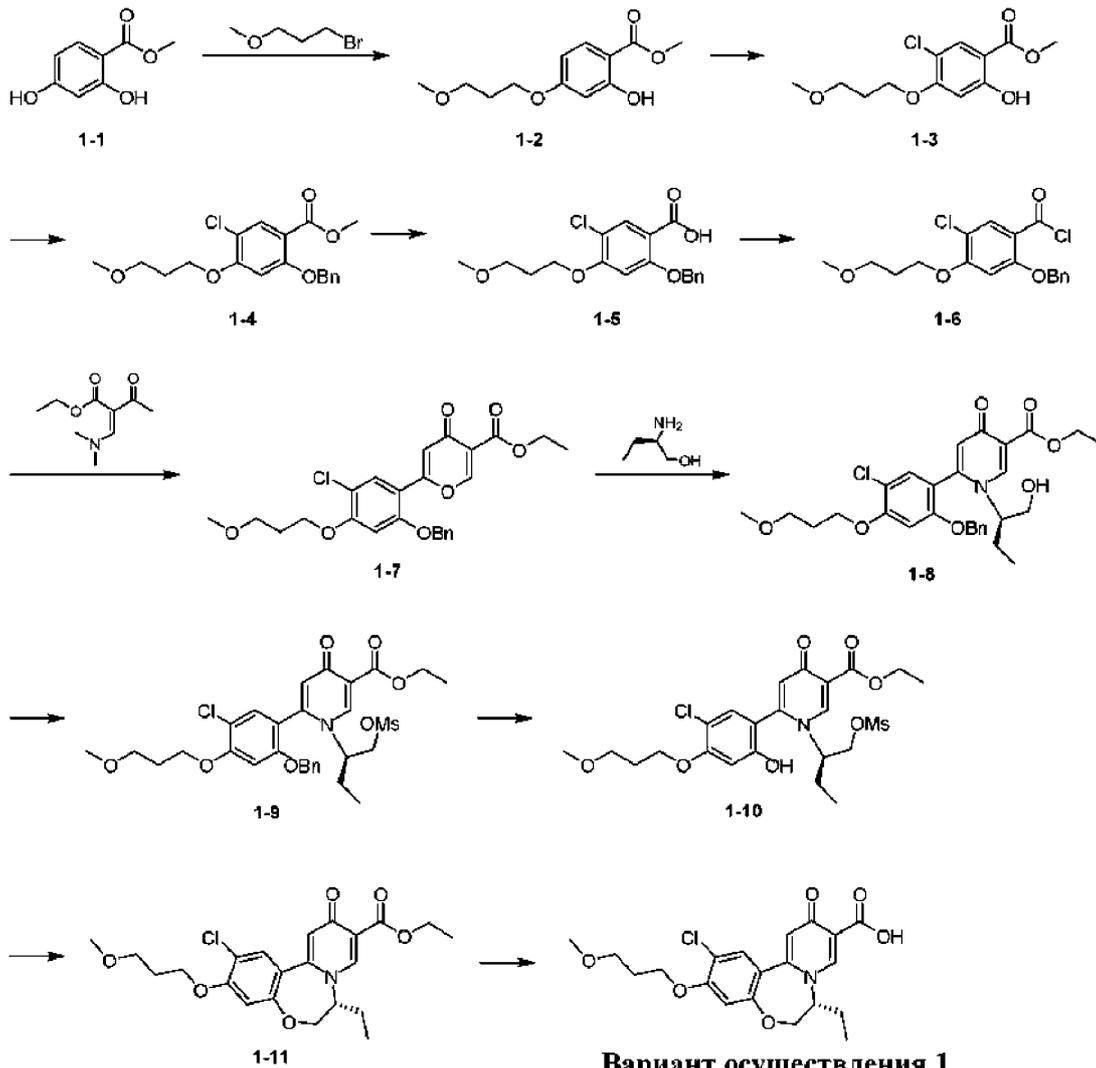
На фиг. 3 показаны изменения веса тела мышей после введения каждый день.

Подробное описание предпочтительного варианта осуществления

Следующие примеры дополнительно иллюстрируют настоящее изобретение, однако настоящее изобретение ими не ограничивается. Настоящее изобретение было подробно описано в описании, и его конкретные варианты осуществления также были раскрыты, для специалиста в данной области техники будет очевидно, что модификации и улучшения вариантов осуществления настоящего изобретения находятся в пределах сущности и объема настоящего изобретения.

Вариант осуществления 1.



**Стадия А.**

Соединение 1-1 (200,00 г, 1,19 моль) растворяли в N,N-диметилформамиде (1000,00 мл) с последующим добавлением карбоната калия (164,39 г, 1,19 моль). 1-Бром-3-метоксипропан (182,01 г, 1,19 моль) добавляли по каплям при 90°C в течение 1 ч. Смесь перемешивали при 90°C в течение 15 ч, 3 л этилацетата (1 л × 3) добавляли к реакционной смеси. Органические фазы объединяли, промывали 15,00 л воды (3,00 л × 5) и 3,00 л насыщенного солевого раствора (1,00 л × 3), высушивали над безводным сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (элюент: петролейный эфир/этилацетат = 1/0) с получением соединения 1-2.

Стадия В.

Соединение 1-2 (80,00 г, 332,98 ммоль) растворяли в ацетонитриле (800,00 мл) с последующим добавлением хлорсукцинимиды (44,46 г, 332,98 ммоль) и смесь перемешивали при 90°C в течение 3 ч. Половину объема ацетонитрила сначала выпаривали посредством ротационного выпаривания с последующим добавлением 200,00 мл воды и 300,00 мл этилацетата. Выделенную органическую фазу промывали раствором хлорида аммония (100,00 мл), высушивали над безводным натрием и концентрировали при пониженном давлении с получением маслянистого соединения желтого цвета. Соединение растирали с метанолом с получением соединения 1-3.

Стадия С.

Карбонат калия (76,48 г, 553,34 ммоль) добавляли к раствору соединения 1-3 (76,00 г, 276,67 ммоль), бензилбромиду (52,05 г, 304,34 ммоль, 36,15 мл) в N,N-диметилформамиде (800,00 мл). Смешанный раствор перемешивали при 25°C в течение 16 ч. Этилацетат (900,00 мл) и воду (1000,00 мл) добавляли к раствору. Органическую фазу выделяли и промывали водой (1000,00 мл × 2) и насыщенным солевым раствором (300,00 мл × 2), высушивали над безводным сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении с получением соединения 1-4.

Стадия D.

Соединение 1-4 (92,00 г, 252,18 ммоль) растворяли в метаноле (500,00 мл) с последующим добавлением раствора гидроксида калия (6 М, 239,99 мл). Смесь перемешивали при 45°C в течение 2 ч. pH реакционной смеси доводили до 3 с помощью 6 М хлористоводородной кислоты, и белое твердое вещество осаждали с последующей фильтрацией с получением твердого вещества. Твердое вещество растворяли в дихлорметане (80 ммоль), высушивали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением соединения 1-5.

Стадия E.

Соединение 1-5 (76,58 г, 218,31 ммоль) растворяли в дихлорметане (500,00 мл) с последующим добавлением оксалилхлорида (41,56 г, 327,46 ммоль, 28,66 мл) и N,N-диметилформамида (159,56 мг, 2,18 ммоль, 167,96 мкл). Смесь перемешивали при 25°C в течение 3 ч. После завершения реакции смесь концентрировали при пониженном давлении с получением соединения 1-6.

Стадия F.

Соединение 1-6 (63,00 г, 170,62 ммоль) и метилэтил-2-(диметиламинометилен)-3-оксобутаноат (44,24 г, 238,87 ммоль) растворяли в тетрагидрофуране (600,00 мл), который затем добавляли по каплям к раствору гексаметилдисилазида лития в тетрагидрофуране (1,00 моль, 409,49 мл) при температуре от -70°C до -60°C. После завершения добавления по каплям баню с ацетоном и сухим льдом удаляли и раствор хлористоводородной кислоты (3,00 моль, 832,06 мл) добавляли одной порцией. Реакционную смесь перемешивали при 20°C в течение 1 ч. Смесь фильтровали с получением твердого вещества. Твердое вещество растворяли в дихлорметане, высушивали над безводным сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении с получением твердого вещества. Метил-трет-бутиловый эфир (60,00 мл) добавляли к твердому веществу, перемешивали в течение 30 мин и фильтровали с получением соединения 1-7.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8,55 (s, 1H), 7,73-7,79 (m, 1H), 7,34-7,43 (m, 4H), 7,20 (s, 1H), 6,63 (s, 1H), 5,24 (s, 2H), 4,39 (q, J=7,15 Гц, 2H), 4,11 (t, J=6,21 Гц, 2H), 3,59 (t, J=5,90 Гц, 2H), 3,38 (s, 3H), 2,05-2,12 (m, 2H), 1,40 (t, J=7,15 Гц, 3H).

Стадия G.

Соединение 1-7 (2,00 г, 4,23 ммоль) растворяли в этаноле (30,00 мл) с последующим добавлением уксусной кислоты (10,00 мл) и (R)-(-)-2-амино-1-бутанола (565,59 мг, 6,35 ммоль, 595,36 мкл). Реакционную смесь перемешивали при 80°C в течение 16 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и экстрагировали водой (50,00 мл) и 60,00 мл этилацетата (20,00 мл ×3). Объединенную органическую фазу промывали 20,00 мл (10,00 мл ×2) насыщенного бикарбоната натрия, высушивали над безводным сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали с помощью колоночной хроматографии (силикагель, элюент: петролейный эфир/этилацетат = от 10/1 до 1/1) с получением соединения 1-8.

Стадия H.

Соединение 1-8 (1,80 г, 3,31 ммоль) растворяли в дихлорметане (20,00 мл) с последующим добавлением триэтиламина (502,41 мг, 4,97 ммоль, 688,23 мкл) и добавлением метансульфонилхлорида (454,99 мг, 3,97 ммоль, 307,43 мкл) при 0°C. Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 2 ч. Реакционную смесь гасили добавлением 30,00 мл воды при 25°C и затем экстрагировали 100,00 мл дихлорметана (50 мл ×2). Объединенную органическую фазу промывали 60,00 мл (30,00 мл ×2) насыщенного солевого раствора, высушивали над безводным сульфатом, фильтровали, концентрировали при пониженном давлении с получением соединения 1-9.

Стадия I.

Соединение 1-9 (2,00 г, 3,21 ммоль) растворяли в тетрагидрофуране (100,00 мл) с последующим добавлением палладия на угле (300,00 мг, чистота 10%) в атмосфере азота. Суспензию продували водородом три раза. Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 2 ч в атмосфере водорода (15 фунтов/кв.дюйм). Реакционную смесь фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением соединения 1-10.

Стадия J.

Соединение 1-10 (1,70 г, 3,20 ммоль) растворяли в N,N-диметилформамиде (20,00 мл) с последующим добавлением карбоната калия (884,54 мг, 6,40 ммоль) и йодида калия (5,31 мг, 32,00 мкмоль). Реакционную смесь перемешивали при 100°C в течение 16 ч. Реакционную смесь экстрагировали 100,00 мл (50,00 мл ×2) этилацетата. Объединенную органическую фазу промывали 100,00 мл насыщенного солевого раствора (50,00 мл ×2), высушивали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением соединения 1-11.

Стадия K.

Соединение 1-11 (1,00 г, 2,29 ммоль) растворяли в метаноле (47,40 мл) с последующим добавлением раствора гидроксида натрия (4 М, 10,32 мл). Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 20 мин. Реакционную смесь гасили хлористоводородной кислотой (1 моль), pH доводили до 3 и осаждали твердое вещество. Смесь экстрагировали 40,00 мл этилацетата (20,00 мл ×2). Объединенную органическую фазу промывали 30,00 мл насыщенного раствора бикарбоната натрия и 30,00 мл насыщенного солевого

раствора (15,00 мл ×2), высушивали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт подвергали препаративной тонкослойной хроматографии (силикагель, петролейный эфир: этилацетат =0:1) с получением соединения по варианту осуществления 1.

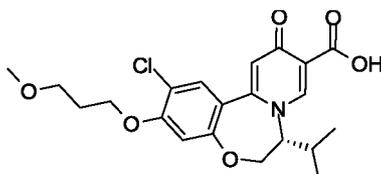
Значение ee (энантиомерный избыток): 100%.

Способ SFC (сверхкритическая жидкостная хроматография): колонка: Chiralcel OD-3 100 мм × 4,6 мм внутренний диаметр, 3 мкм. Подвижная фаза: 5%-40% метанол (0,05% диэтиламина) в диоксиде углерода. Скорость потока: 3 мл/мин. Длина волны: 220 нм.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 15,67 (s, 1H), 8,50 (br s, 1H), 7,43 (s, 1H), 6,71 (s, 1H), 6,67 (s, 1H), 4,19-4,40 (m, 2H), 4,10 (br t, $J=6,11$ Гц, 2H), 3,46-3,63 (m, 2H), 3,42 (s, 1H), 3,30 (s, 3H), 2,07 (квин., $J=6,02$ Гц, 2H), 1,77-1,98 (m, 2H), 0,96 (br s, 3H).

Варианты осуществления от 2 до 5 можно получать способом, относящимся к способу получения по варианту осуществления 1.

Вариант осуществления 2.

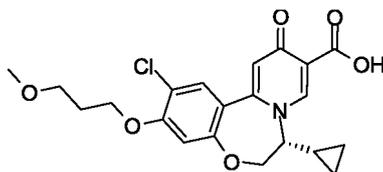


Значение ee (энантиомерный избыток): 100%.

Способ SFC (сверхкритическая жидкостная хроматография): колонка: Chiral pak AD-3 100 мм × 4,6 мм внутренний диаметр, 3 мкм. Подвижная фаза: 5-40% метанол (0,05% диэтиламина) в диоксиде углерода. Скорость потока: 3 мл/мин. Длина волны: 220 нм.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 15,77 (br s, 1H), 8,49 (s, 1H), 7,52 (s, 1H), 6,87 (s, 1H), 6,68 (s, 1H), 4,49-4,72 (m, 2H), 4,12-4,28 (m, 2H), 3,92 (br d, $J=6,40$ Гц, 1H), 3,63 (t, $J=5,90$ Гц, 2H), 3,39 (s, 3H), 2,06-2,24 (m, 3H), 1,10 (d, $J=6,53$ Гц, 3H), 0,89 (d, $J=6,53$ Гц, 3H).

Вариант осуществления 3.

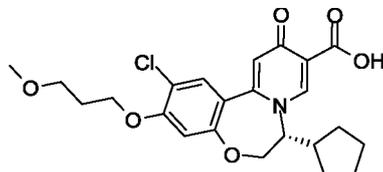


Значение ee (энантиомерный избыток): 100%.

Способ SFC (сверхкритическая жидкостная хроматография): колонка: Chiral pak AD-3 100 мм × 4,6 мм внутренний диаметр, 3 мкм. Подвижная фаза: 5-40% метанол (0,05% диэтиламина) в диоксиде углерода. Скорость потока: 3 мл/мин. Длина волны: 220 нм.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 15,81 (s, 1H), 8,88-9,18 (m, 1H), 7,47 (s, 1H), 6,78 (s, 1H), 6,76 (s, 1H), 4,48-4,59 (m, 2H), 4,19 (dt, $J=2,07, 6,12$ Гц, 2H), 3,59-3,67 (m, 2H), 3,45-3,52 (m, 1H), 3,39 (s, 3H), 2,15 (квин., $J=6,05$ Гц, 2H), 1,14-1,31 (m, 2H), 0,29-0,55 (m, 2H), 0,09 (s, 1H).

Вариант осуществления 4.

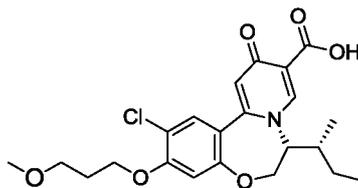


Значение ee (энантиомерный избыток): 97%.

Способ SFC (сверхкритическая жидкостная хроматография): колонка: Chiral pak AD-3 100 мм × 4,6 мм внутренний диаметр, 3 мкм. Подвижная фаза: 5-40% метанол (0,05% диэтиламина) в диоксиде углерода. Скорость потока: 3 мл/мин. Длина волны: 220 нм.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 15,74 (s, 1H), 8,61 (br s, 1H), 7,52 (s, 1H), 6,79 (s, 1H), 6,74 (s, 1H), 4,46 (br s, 2H), 4,20 (t, $J=6,15$ Гц, 2H), 4,04 (br s, 1H), 3,63 (dt, $J=2,20, 5,87$ Гц, 2H), 3,39 (s, 3H), 2,38 (br s, 1H), 2,16 (квин., $J=5,96$ Гц, 2H), 1,60-2,00 (m, 6H), 1,09-1,25 (m, 2H).

Вариант осуществления 5.

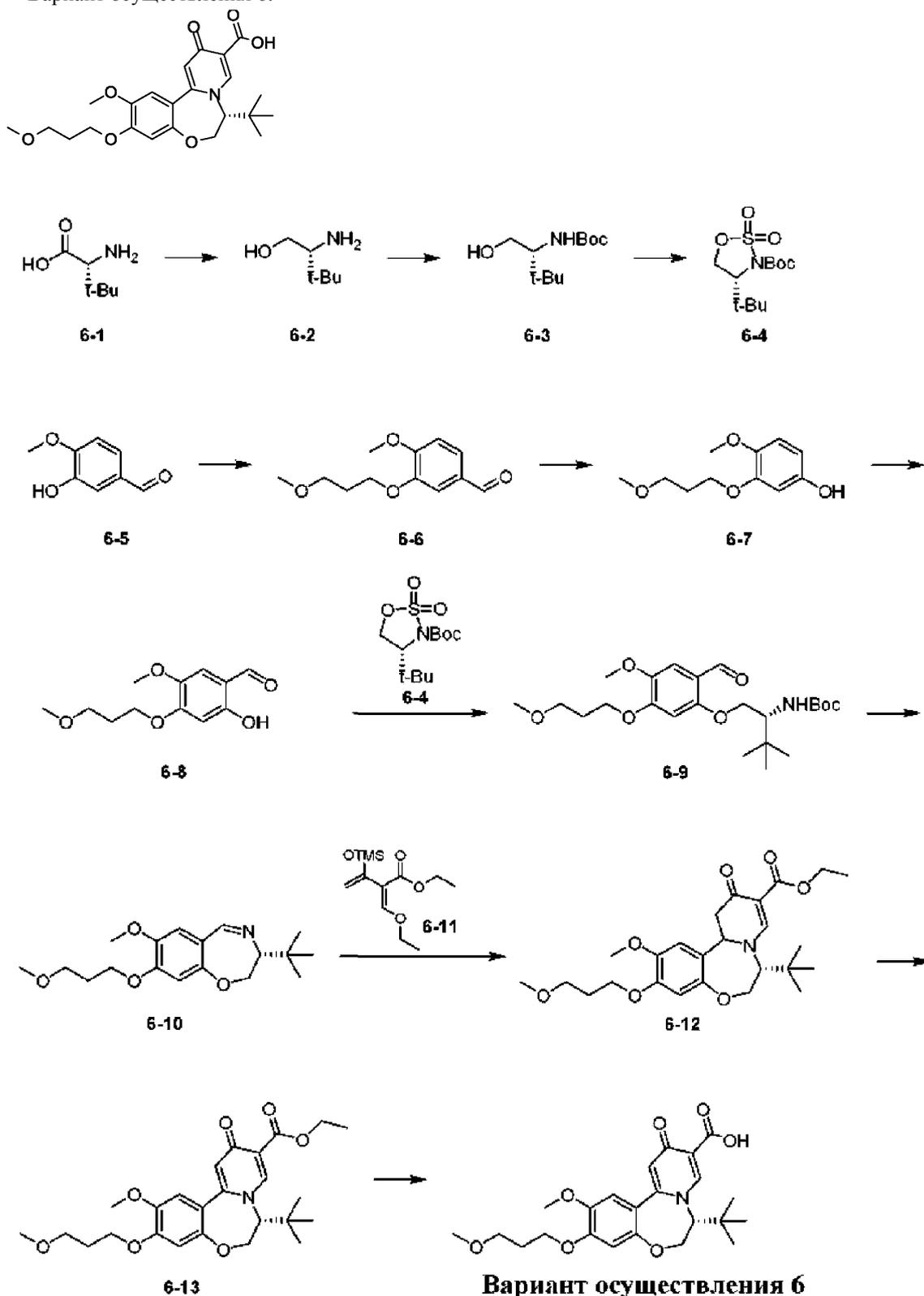


Значение ee (энантиомерный избыток): 89%.

Способ SFC (сверхкритическая жидкостная хроматография): колонка: Chiral pak AD-3 100 мм × 4,6 мм внутренний диаметр, 3 мкм. Подвижная фаза: 5-40% метанол (0,05% диэтиламина) в диоксиде углерода. Скорость потока: 3 мл/мин. Длина волны: 220 нм.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ = 15,73 (br s, 1H), 8,42 (s, 1H), 7,43 (s, 1H), 6,78 (s, 1H), 6,57 (s, 1H), 4,64 - 4,45 (m, 2H), 4,13 - 4,05 (m, 2H), 3,97 (ddd, $J=2,4, 5,6, 10,9$ Гц, 1H), 3,53 (t, $J=6,0$ Гц, 2H), 3,30 (s, 3H), 2,06 (квин., $J=6,1$ Гц, 2H), 1,64 - 1,52 (m, 1H), 1,42-1,01 (m, 2H), 0,85 (t, $J=7,4$ Гц, 3H), 0,74 (d, $J=6,6$ Гц, 3H).

Вариант осуществления 6.



Стадия А.

Тетрагидридоалюминат лития (80,00 г, 2,11 моль, 2,77 экв.) добавляли к раствору соединения 6-1 (100,00 г, 762,36 ммоль, 1,00 экв.) в тетрагидрофуране (400,00 мл), поддерживая температуру ниже 0°C. Раствор перемешивали при 10°C в течение 10 ч. Затем к реакционной смеси при перемешивании добавляли 80,00 мл воды и добавляли 240,00 мл 15% водного раствора гидроксида натрия с последующим добавлением 80,00 мл воды. Суспензию перемешивали при 10°C в течение 20 мин с последующим фильтрованием с получением бесцветной жидкости. Бесцветную жидкость концентрировали при пониженном давлении с получением соединения 6-2.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ = 3,72 (dd, $J=3,9, 10,2$ Гц, 1H), 3,21 (t, $J=10,2$ Гц, 1H), 2,51 (dd, $J=3,9, 10,2$ Гц, 1H), 0,91 (s, 9H).

Стадия В.

Соединение 6-2 (50,00 г, 426,66 ммоль) и триэтиламин (59,39 мл, 426,66 ммоль) растворяли в дихлорметане (500,00 мл). Ди-трет-бутилдикарбонат (92,19 г, 422,40 ммоль) растворяли в дихлорметане (100,00 мл) и по каплям добавляли к вышеуказанной реакционной смеси при 0°C . Затем реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 12 ч. Реакционную смесь промывали насыщенным соевым раствором (600,00 мл), высушивали над безводным сульфатом натрия. Органическую фазу концентрировали при пониженном давлении и выпаривали посредством ротационного выпаривания до сухого состояния с последующей рекристаллизацией с метил-трет-бутиловым эфиром/петролейным эфиром (50,00/100,00) с получением соединения 6-3.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 4,64 (br s, 1H), 3,80-3,92 (m, 1H), 3,51 (br d, $J=7,09$ Гц, 2H), 2,17 (br s, 1H), 1,48 (s, 9H), 0,96 (s, 9H).

Стадия С.

Тионилхлорид (100,98 мл, 1,39 ммоль) растворяли в ацетонитриле (707,50 мл), 6-3 (121,00 г, 556,82 ммоль) растворяли в ацетонитриле (282,90 мл) и добавляли по каплям к вышеуказанной реакционной смеси при -40°C . После завершения добавления к реакционной смеси одной порцией добавляли пиридин (224,72 мл, 2,78 моль). Ледяную баню удаляли и реакционную смесь перемешивали при $5-10^\circ\text{C}$ в течение 1 ч. После выпаривания растворителя посредством ротационного выпаривания при пониженном давлении до сухого состояния добавляли этилацетат (800,00 мл) и осаждали твердое вещество. Смесь фильтровали и фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Затем полученное масло, воду и трихлорид рутения (12,55 г, 55,68 ммоль) растворяли в ацетонитриле (153,80 мл). Перйодат натрия (142,92 г, 668,19 ммоль) суспендировали в воде (153,80 мл) и медленно добавляли к вышеуказанной реакционной смеси. Конечную реакционную смесь перемешивали при $5-10^\circ\text{C}$ в течение 0,15 ч. Реакционную смесь фильтровали и фильтрат экстрагировали этилацетатом (800,00 мл $\times 2$). Органическую фазу промывали насыщенным соевым раствором (800,00 мл), высушивали над безводным сульфатом натрия, фильтровали, концентрировали при пониженном давлении, выпаривали посредством ротационного выпаривания при пониженном давлении до сухого состояния и очищали с помощью колоночной хроматографии (силикагель, петролейный эфир/этилацетат = от 50/1 до 20/1) с получением соединения 6-4.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 4,49-4,55 (m, 1H), 4,40-4,44 (m, 1H), 4,10 (d, $J=6,15$ Гц, 1H), 1,49 (s, 9H), 0,94 (s, 9H).

Стадия D.

Соединение 6-5 (100,00 г, 657,26 ммоль) растворяли в ацетонитриле (1300,00 мл) с последующим добавлением карбоната калия (227,10 г, 1,64 моль) и 1-бром-3-метоксипропана (110,63 г, 722,99 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 85°C в течение 6 ч. Реакционный раствор экстрагировали 600,00 мл этилацетата (200,00 мл $\times 3$), высушивали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением соединения 6-6.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 9,76-9,94 (m, 1H), 7,42-7,48 (m, 2H), 6,98 (d, $J=8,03$ Гц, 1H), 4,18 (t, $J=6,53$ Гц, 2H), 3,95 (s, 3H), 3,57 (t, $J=6,09$ Гц, 2H), 3,33-3,39 (m, 3H), 2,13 (квин., $J=6,34$ Гц, 2H).

Стадия E. Соединение 6-6 (70,00 г, 312,15 ммоль) растворяли в дихлорметане с последующим добавлением т-хлорпероксибензойной кислоты (94,27 г, 437,01 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 50°C в течение 2 ч. Реакционную смесь охлаждали с последующей фильтрацией и фильтрат экстрагировали дихлорметаном. Органическую фазу промывали 2000,00 мл насыщенного раствора бикарбоната натрия (400,00 мл $\times 5$), высушивали над безводным сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении с получением коричневого масла. Коричневое масло растворяли в как можно меньшем количестве метанола с последующим медленным добавлением 2 М раствора гидроксида калия (350,00 мл) (направление было экзотермическим). Реакционную смесь темного цвета перемешивали при комнатной температуре в течение 20 минут и рН реакционной смеси доводили до 5 с помощью 37% хлористоводородной кислоты с последующей экстрагированием с помощью 400,00 мл этилацетата (200,00 мл $\times 2$). Органическую фазу промывали 200,00 мл насыщенного солевого раствора (100,00 мл $\times 2$), высушивали над безводным сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении с получением соединения 6-7.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,75 (d, $J=8,53$ Гц, 1H), 6,49 (d, $J=2,89$ Гц, 1H), 6,36 (dd, $J=2,82, 8,60$ Гц, 1H), 4,07 (t, $J=6,40$ Гц, 2H), 3,82 (s, 3H), 3,60 (t, $J=6,15$ Гц, 2H), 3,38 (s, 3H), 2,06-2,14 (m, 2H).

Стадия F.

Соединение 6-7 (33,00 г, 155,48 ммоль) растворяли в тетрагидрофуране (330,00 мл) с последующим добавлением параформальдегида (42,02 г, 466,45 ммоль), хлорида магния (29,61 г, 310,97 ммоль) и триэтиламина (47,20 г, 466,45 ммоль, 64,92 мл). Реакционную смесь перемешивали при 80°C в течение 8 ч. После завершения реакции реакционную смесь гасили 2 моль раствора хлористоводородной кислоты (200,00 мл) при 25°C , а затем экстрагировали с помощью 600,00 мл этилацетата (200,00 мл $\times 3$). Органическую фазу промывали 400,00 мл насыщенного солевого раствора (200,00 мл $\times 2$), высушивали над без-

водным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток промывали этанолом (30,00 мл) и фильтровали с получением осадка на фильтре, таким образом получая соединение 6-8.

$^1\text{ЯМР}$ (400 МГц, CDCl_3) δ 11,29 (s, 1H), 9,55-9,67 (m, 1H), 6,83 (s, 1H), 6,42 (s, 1H), 4,10 (t, $J=6,48$ Гц, 2H), 3,79 (s, 3H), 3,49 (t, $J=6,05$ Гц, 2H), 3,28 (s, 3H), 2,06 (квин., $J=6,27$ Гц, 2H).

Стадия G.

Соединение 6-8 (8,70 г, 36,21 ммоль) растворяли в N,N-диметилформамиде (80,00 мл) с последующим добавлением карбоната калия (10,01 г, 72,42 ммоль) и 6-4 (11,13 г, 39,83 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 50°C в течение 2 ч. Реакционную смесь гасили водным раствором хлористоводородной кислоты с концентрацией 1,00 моль/л (200,00 мл) и экстрагировали этилацетатом (150,00 мл $\times 2$). Органические фазы объединяли, промывали водой (150,00 мл $\times 3$), высушивали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением соединения 6-9.

$^1\text{НЯМР}$ (400 МГц, CDCl_3) δ 10,31 (s, 1H), 7,34 (s, 1H), 6,57 (s, 1H), 4,18-4,26 (m, 3H), 4,07 (dd, $J=5,33, 9,60$ Гц, 1H), 3,88 (s, 4H), 3,60 (t, $J=5,96$ Гц, 2H), 3,39 (s, 3H), 2,17 (квин., $J=6,21$ Гц, 2H), 1,47 (s, 9H), 1,06 (s, 9H).

Стадия H.

Соединение 6-9 (15,80 г, 35,95 ммоль) растворяли в дихлорметане (150,00 мл) с последующим добавлением трифторуксусной кислоты (43,91 мл, 593,12 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 10°C в течение 3 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и выпаривали посредством ротационного выпаривания до сухого состояния с последующим добавлением водного раствора бикарбоната натрия (100,00 мл) и экстрагированием дихлорметаном (100,00 мл). Органическую фазу высушивали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением соединения 6-10.

$^1\text{H ЯМР}$ (400 МГц, CDCl_3) δ 8,40 (s, 1H), 6,80 (s, 1H), 6,51 (s, 1H), 4,30 (br d, $J=12,35$ Гц, 1H), 4,04-4,11 (m, 3H), 3,79 (s, 3H), 3,49 (t, $J=5,99$ Гц, 2H), 3,36 (br d, $J=2,93$ Гц, 1H), 3,28 (s, 3H), 2,06 (квин., $J=6,24$ Гц, 2H), 1,02 (s, 9H).

Стадия I.

Соединение 6-10 (5,00 г, 15,56 ммоль) растворяли в толуоле (20,00 мл) с последующим добавлением 6-11 (8,04 г, 31,11 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 120°C в течение 12 ч в атмосфере азота. Реакционную смесь гасили водой (100,00 мл) и экстрагировали этилацетатом (100,00 мл $\times 2$). Органические фазы объединяли, промывали водой (80,00 мл $\times 2$), высушивали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колонки с обращенной фазой, а затем очищали с помощью высокоэффективной препаративной жидкостной хроматографии (колонка: Phenomenex luna C18 250 \times 50 мм \times 10 мкм; подвижная фаза: [вода (0,225% муравьиной кислоты)-ацетонитрил]; градиент элюирования: 35-70%, 25 мин) с получением соединения 6-12.

$^1\text{H ЯМР}$ (400 МГц, CDCl_3) δ 7,95 (s, 1H), 6,59 (s, 1H), 6,40 (s, 1H), 5,15-5,23 (m, 1H), 4,35-4,41 (m, 2H), 4,08-4,19 (m, 2H), 3,94-4,00 (m, 2H), 3,72 (s, 3H), 3,61-3,67 (m, 1H), 3,46 (dt, $J=1,96, 5,99$ Гц, 2H), 3,27 (s, 3H), 3,01-3,08 (m, 1H), 2,85-2,94 (m, 1H), 1,97-2,01 (m, 2H), 1,18-1,22 (m, 3H), 1,04 (s, 9H).

Стадия J.

Соединение 6-12 (875,00 мг, 1,90 ммоль) растворяли в толуоле (20,00 мл) и диметиловом эфире этиленгликоля (20,00 мл) с последующим добавлением тетрахлорбензохинона (1,40 г, 5,69 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 120°C в течение 12 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры с последующим добавлением насыщенного водного раствора карбоната натрия (50,00 мл) и этилацетата (60,00 мл). Смесь перемешивали при 10-15°C в течение 20 мин и разделяли с получением органической фазы. Органическую фазу добавляли к водному раствору хлористоводородной кислоты с концентрацией 2,00 моль/л (60,00 мл) и перемешивали при 10-15°C в течение 20 мин с последующим разделением. Органическую фазу промывали водным раствором хлористоводородной кислоты с концентрацией 2 моль/л (60,00 мл $\times 2$) с последующим разделением. К водной фазе добавляли водный раствор гидроксида натрия с концентрацией 2 моль/л (200,00 мл) и дихлорметан (200,00 мл) с последующим разделением. Органическую фазу высушивали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением соединения 6-13.

$^1\text{H ЯМР}$ (400 МГц, CDCl_3) δ 7,98-8,78 (m, 1H), 6,86 (s, 1H), 6,43-6,73 (m, 2H), 4,41-4,48 (m, 1H), 4,28-4,38 (m, 2H), 4,03-4,11 (m, 2H), 3,93 (br s, 1H), 3,80 (s, 3H), 3,47-3,52 (m, 3H), 3,29 (s, 3H), 2,06 (квин., $J=6,24$ Гц, 2H), 1,33 (t, $J=7,15$ Гц, 2H), 0,70-1,25 (m, 10H).

Стадия K.

Соединение 6-13 (600,00 мг, 1,31 ммоль) растворяли в метаноле (6,00 мл) с последующим добавлением водного раствора гидроксида натрия с концентрацией 4,00 моль/л (2,00 мл, 6,39 экв.). Реакционную смесь перемешивали при 15°C в течение 0,25 ч. pH реакционной смеси доводили до 3-4 с помощью водного раствора хлористоводородной кислоты с концентрацией 1,00 моль/л с последующим экстрагированием дихлорметаном (50,00 мл $\times 3$). Органические фазы объединяли, промывали насыщенным соевым

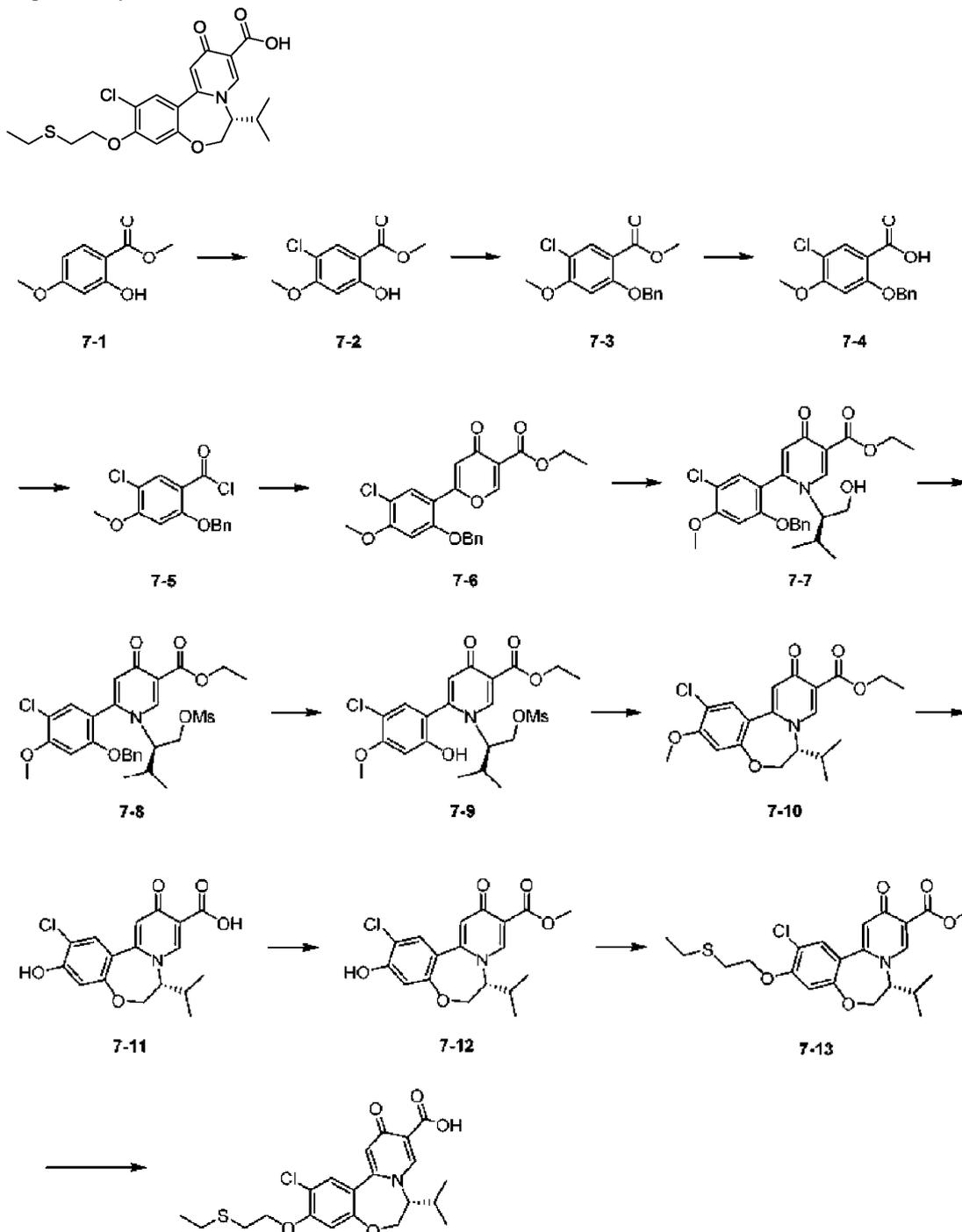
раствором (50,00 мл), высушивали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением варианта осуществления 6.

Значение ее (энантиомерный избыток): 100%.

Способ SFC (сверхкритическая жидкостная хроматография): колонка: Chiralcel OD-3100 мм × 4,6 мм внутренний диаметр, 3 мкм. Подвижная фаза: 5-40% метанол (0,05% диэтиламина) в диоксиде углерода. Скорость потока: 3 мл/мин. Длина волны: 220 нм.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 15,72 (br s, 1H), 8,32-8,93 (m, 1H), 6,60-6,93 (m, 2H), 6,51 (br s, 1H), 4,38-4,63 (m, 2H), 4,11 (br dd, $J=4,52, 12,23$ Гц, 3H), 3,79-3,87 (m, 3H), 3,46-3,54 (m, 2H), 3,29 (s, 3H), 2,07 (квин., $J=6,24$ Гц, 2H), 0,77-1,21 (m, 9H).

Вариант осуществления 7.



Вариант осуществления 7

Стадия А.

Соединение 7-1 (50,00 г, 274,47 ммоль, 1,00 экв.) растворяли в ацетонитриле (500,00 мл) и охлаждали до 0°C с последующим добавлением хлорсукцинимид (37,75 г, 282,70 ммоль, 1,03 экв.). Смесь нагре-

вали до 25°C и перемешивали в течение 10 ч. Затем реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением бесцветной жидкости и к жидкости добавляли этилацетат (500 мл). Раствор промывали водой (100,00 мл ×3) и насыщенным соевым раствором (100,00 мл ×3). Органическую фазу высушивали над безводным сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении с получением бесцветной жидкости. Бесцветную жидкость очищали на колонке с силикагелем с получением соединения 7-2.

Стадия В.

Карбонат калия (70,18 г, 507,80 ммоль, 2,20 экв.) добавляли к раствору 7-2 (50,00 г, 230,82 ммоль, 1,00 экв.) и бензилбромид (43,42 г, 253,90 ммоль, 30,16 мл, 1,10 экв.) в N,N-диметилформамиде (500,00 мл) одной порцией. Затем смесь перемешивали при 25°C в течение 10 ч. К раствору добавляли этилацетат (700,00 мл ×2) и воду (200,00 мл). Раствор перемешивали при 20°C в течение 10 мин. Органическую фазу отделяли, промывали водой (200,00 мл ×2) и насыщенным соевым раствором (200,00 мл ×2), высушивали над безводным сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении с получением соединения 7-3.

Стадия С.

Гидроксид калия (6,00 моль/л, 41,57 мл, 3,06 экв.) добавляли к смешанному раствору соединения 7-3 (25,00 г, 81,50 ммоль, 1,00 экв.) в воде (20,00 мл) и метаноле (60,00 мл) одной порцией. Раствор перемешивали при 50°C в течение 2 ч. К раствору добавляли 50,00 мл воды. Раствор концентрировали при пониженном давлении до 70,00 мл и промывали этилацетатом/петролейным эфиром (4/1, 20,00 мл ×2). Водную фазу отделяли и рН доводили до 1-2 с помощью разбавленной хлористоводородной кислоты с концентрацией 1,00 моль/л с получением суспензии. Суспензию фильтровали с получением белого твердого вещества, которое затем растирали с водой (30,00 мл) с получением соединения 7-4.

Стадия D.

Оксалилхлорид (17,35 г, 136,65 ммоль, 11,96 мл, 2,00 экв.) добавляли по каплям к раствору соединения 7-4 (20,00 г, 68,33 ммоль, 1,00 экв.) в дихлорметане (200,00 мл). Раствор перемешивали при 28°C в течение 2 ч и затем концентрировали с получением соединения 7-5.

Стадия E.

Смешанный раствор соединения 7-5 (19,00 г, 61,06 ммоль, 1,00 экв.) и метилэтил-2-(диметиламинометилен)-3-оксобутаноата (11,88 г, 64,11 ммоль, 1,05 экв.) в тетрагидрофуране (50,00 мл) по каплям добавляли к раствору гексаметилдисилазида лития (1,00 моль/л, 152,65 мл, 2,50 экв.) в тетрагидрофуране (10,00 мл) при -70°C в течение 5 мин. Баню с сухим льдом/ацетоном удаляли и раствор перемешивали в течение 5 мин. К смеси добавляли разбавленную хлористоводородную кислоту (1,00 моль/л, 125,37 мл, 57,44 экв.). Смесь энергично перемешивали, а затем выпаривали посредством ротационного выпаривания при 60°C для удаления большей части тетрагидрофурана. Остаток выдерживали при 60-65°C в течение 1,5 ч. К смеси добавляли 200,00 мл воды с получением суспензии, которую перемешивали в течение 30 мин и фильтровали с получением желтого твердого вещества. Желтое твердое вещество дополнительно растирали с водой (40,00 мл) и метил-трет-бутиловым эфиром (40,00 мл) с получением соединения 7-6.

Стадия F.

Смешанный раствор 7-6 (10,00 г, 24,11 ммоль, 1,00 экв.) и валинола (3,73 г, 36,17 ммоль, 4,01 мл, 1,50 экв.) в уксусной кислоте (30,00 мл) и этаноле (90,00 мл) перемешивали при 90°C в течение 10 ч. Смесь охлаждали до 20°C и концентрировали при пониженном давлении при 40°C с получением желтой жидкости. Желтую жидкость очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (силикагель, петролейный эфир/этилацетат = 10/1) с получением соединения 7-7.

Стадия G.

Триэтиламин (4,86 г, 48,06 ммоль, 6,66 мл, 3,00 экв.) добавляли к раствору соединения 7-7 (8,00 г, 15,36 ммоль, 63,71%) в дихлорметане (10,00 мл) одной порцией, а затем к полученной смеси добавляли метансульфонилхлорид (3,67 г, 32,04 ммоль, 2,84 мл, 2,00 экв.). Раствор перемешивали при 20°C в течение 2 ч. Раствор концентрировали при пониженном давлении с получением коричневого остатка. Остаток дважды очищали с помощью хроматографии на силикагеле (силикагель, петролейный эфир/этанол = от 100/1 до 10/1) с получением соединения 7-8.

Стадия H.

Палладий на угле (1,00 г, 10%) добавляли к раствору соединения 7-8 (8,01 г, 13,86 ммоль, 1,00 экв.) в тетрагидрофуране (15,00 мл) в атмосфере азота. После этого суспензию несколько раз продували водородом (2,80 г, 1,39 моль, 100,00 экв., 15 фунтов/кв. дюйм). Затем смесь перемешивали при 15°C в течение 2 ч в атмосфере водорода. Реакционную смесь фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением желтой камеди, которую растирали с петролейным эфиром (30,00 мл ×2) и фильтровали с получением соединения 7-9.

Стадия I.

Карбонат калия (0,45 г, 3,24 ммоль, 2,00 экв.) и йодид калия (2,69 мг, 16,21 мкмоль, 0,01 экв.) добавляли к раствору соединения 7-9 (0,79 г, 1,62 ммоль, 1,00 экв.) в N,N-диметилформамиде (4,00 мл).

Полученную смесь перемешивали при 100°C в течение 10 ч. Затем раствор выливали в 10,00 мл воды и экстрагировали этилацетатом (30,00 мл ×2). Органические фазы объединяли, промывали водой (5,00 мл ×3) и насыщенным соевым раствором (5,00 мл ×3), высушивали над безводным сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении с получением соединения 7-10.

Стадия J.

Трибромид бора (1,15 г, 4,59 ммоль, 442,31 мкл, 6,00 экв.) добавляли по каплям к раствору соединения 7-10 (300,00 мг, 765,62 мкмоль, 1,00 экв.) в дихлорметане (30,00 мл), поддерживая температуру ниже -78°C. После завершения добавления раствор перемешивали при температуре от -78 до 0°C в течение 10 ч. Реакционный раствор гасили с помощью MeOH и концентрировали при пониженном давлении с получением желтой жидкости. Раствор дихлорметана/метанола (10/1, 100,00 мл) добавляли к желтой жидкости. Органическую фазу отделяли, высушивали над безводным сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении с получением соединения 7-11.

Стадия K.

Тионилхлорид (687,08 мг, 5,78 ммоль, 418,95 мкл, 10,00 экв.) добавляли к раствору соединения 7-11 (202,00 мг, 577,52 мкмоль, 1,00 экв.) в метаноле (21,18 г, 661,15 ммоль, 26,81 мл, 1144,80 экв.) одной порцией в атмосфере азота. Смесь перемешивали при 50°C в течение 4 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением соединения 7-12.

Стадия L.

Соединение 7-12 (70,00 мг, 192,22 мкмоль) растворяли в N,N-диметилформамиде (2,00 мл) с последующим добавлением карбоната калия (34,57 мг, 250,15 мкмоль) и 2-хлорэтилэтилсульфида (31,18 мг, 250,15 мкмоль). Смесь перемешивали при 100°C в течение 12 ч с получением соединения 7-13. Реакционную смесь непосредственно применяли на следующей стадии без очистки.

Стадия M.

Соединение 7-13 (86,97 мг, 192,43 мкмоль) растворяли в воде (1,00 мл) и к полученному раствору добавляли карбонат калия (26,59 мг, 192,43 мкмоль). Смесь перемешивали при 100°C в течение 12 ч. pH реакционной смеси доводили до 3-4 и реакционную смесь очищали с помощью высокоэффективной препаративной жидкостной хроматографии (колонка: Boston Green ODS 150 ×30, 4 мкм; подвижная фаза: [вода (0,225% муравьиной кислоты)-ацетонитрил]; градиент элюирования: 55-85%, 10,5 мин) с получением варианта осуществления 7.

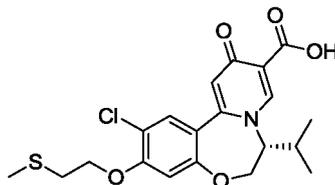
Значение ee (энантиомерный избыток): 100%.

Способ SFC (сверхкритическая жидкостная хроматография): колонка: Chiral pak AD-3 100 мм ×4,6 мм внутренний диаметр, 3 мкм. Подвижная фаза: 5-40% метанол (0,05% диэтиламина) в диоксиде углерода. Скорость потока: 3 мл/мин. Длина волны: 220 нм.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 8,78 (s, 1H), 7,75 (s, 1H), 7,03 (s, 1H), 6,92 (s, 1H), 4,71 (br s, 2H), 4,55 (br d, J=9,2 Гц, 1H), 4,34 - 4,25 (m, 2H), 2,92 (t, J=6,3 Гц, 2H), 2,67 (q, J=7,3 Гц, 2H), 1,83 (br s, 1H), 1,21 (t, J=7,4 Гц, 3H), 0,98 (d, J=6,5 Гц, 3H), 0,71 (d, J=6,5 Гц, 3H).

Вариант осуществления 8 можно получить способом, относящимся к способу получения по варианту осуществления 7.

Вариант осуществления 8.

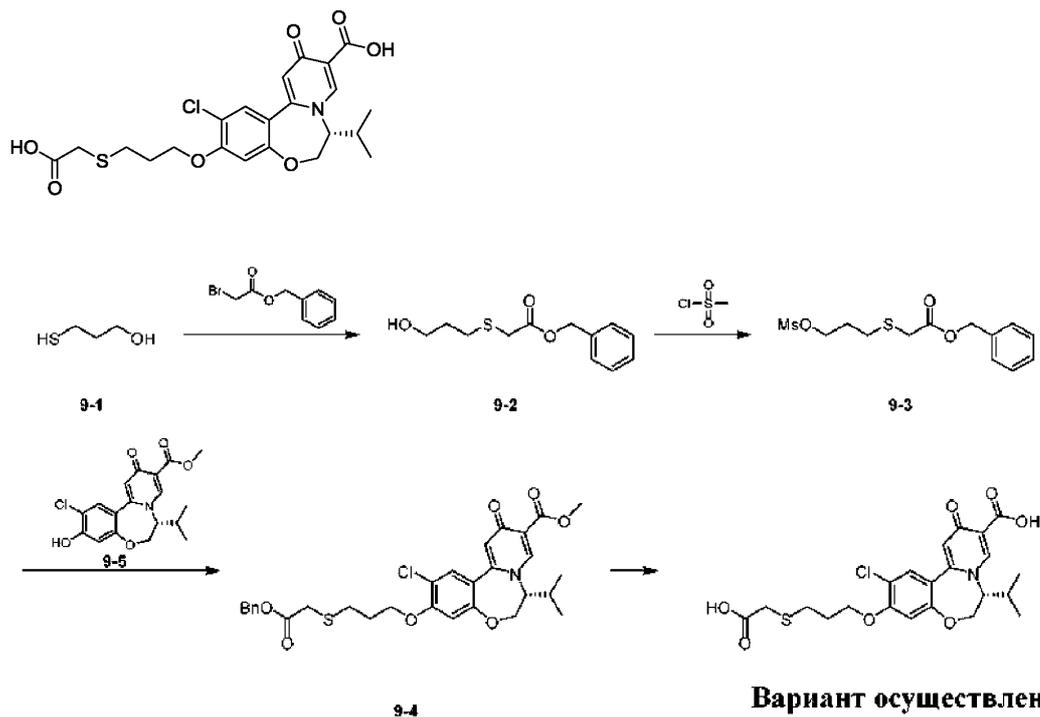


Значение ee (энантиомерный избыток): 100%.

Способ SFC (сверхкритическая жидкостная хроматография): колонка: Chiral pad AD-3 100 мм ×4,6 мм внутренний диаметр, 3 мкм. Подвижная фаза: 5-40% метанол (0,05% диэтиламина) в диоксиде углерода. Скорость потока: 3 мл/мин. Длина волны: 220 нм.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 8,79 (s, 1H), 7,76 (s, 1H), 7,03 (s, 1H), 6,93 (s, 1H), 4,71 (br s, 2H), 4,55 (br d, J=10,7 Гц, 1H), 4,35 - 4,27 (m, 2H), 2,90 (t, J=6,3 Гц, 2H), 2,20 (s, 3H), 2,08 (s, 1H), 0,98 (d, J=6,5 Гц, 3H), 0,71 (d, J=6,5 Гц, 3H).

Вариант осуществления 9.

**Вариант осуществления 9**

Соединение 9-5 можно получать способом, относящимся к способу получения соединения 7-12.

Стадия А.

Соединение 9-1 (5,00 г, 54,25 ммоль) растворяли в *N,N*-диметилформамиде (20,00 мл) с последующим добавлением диизопропилэтиламина (10,52 г, 81,38 ммоль) и бензил-2-бромацетата (12,43 г, 54,25 ммоль). Смесь перемешивали при 15°C в течение 16 ч. Реакционную смесь фильтровали с получением фильтрата с последующим добавлением воды (50,00 мл) и экстрагированием этилацетатом (50,00 мл × 2). Объединенные органические фазы промывали насыщенным солевым раствором (30,00 мл), высушивали над безводным сульфатом натрия и выпаривали при пониженном давлении с получением соединения 9-2.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,24-7,32 (m, 5H), 5,10 (s, 2H), 3,64 (br d, J=3,06 Гц, 2H), 3,21 (s, 2H), 2,66 (t, J=7,09 Гц, 2H), 1,70-1,80 (m, 2H).

Стадия В.

Соединение 9-2 (5,00 г, 20,81 ммоль) растворяли в дихлорметане (50,00 мл) с последующим добавлением триэтиламина (3,16 г, 31,22 ммоль) и метансульфонилхлорида (2,62 г, 22,89 ммоль). Смесь перемешивали при 10°C в течение 3 ч. Реакционный раствор непосредственно применяли на следующей стадии без очистки. Реакционную смесь гасили водой (50,00 мл) и экстрагировали дихлорметаном (50,00 мл × 2). Объединенные органические фазы затем промывали водой (50,00 мл) и насыщенным солевым раствором (50,00 мл), высушивали над безводным сульфатом натрия и выпаривали при пониженном давлении с получением соединения 9-3.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,34-7,42 (m, 5H), 5,20 (s, 2H), 4,31 (t, J=6,09 Гц, 2H), 3,29 (s, 2H), 3,02 (s, 3H), 2,76 (t, J=7,03 Гц, 2H), 1,99-2,07 (m, 2H).

Стадия С.

Соединение 9-3 (91,90 мг, 288,63 мкмоль) растворяли в *N,N*-диметилформамиде (2,00 мл) с последующим добавлением карбоната калия (45,21 мг, 327,11 мкмоль). Смесь перемешивали при 70°C в течение 12 ч с получением соединения 9-4. Реакционную смесь непосредственно применяли на следующей стадии без очистки.

Стадия D.

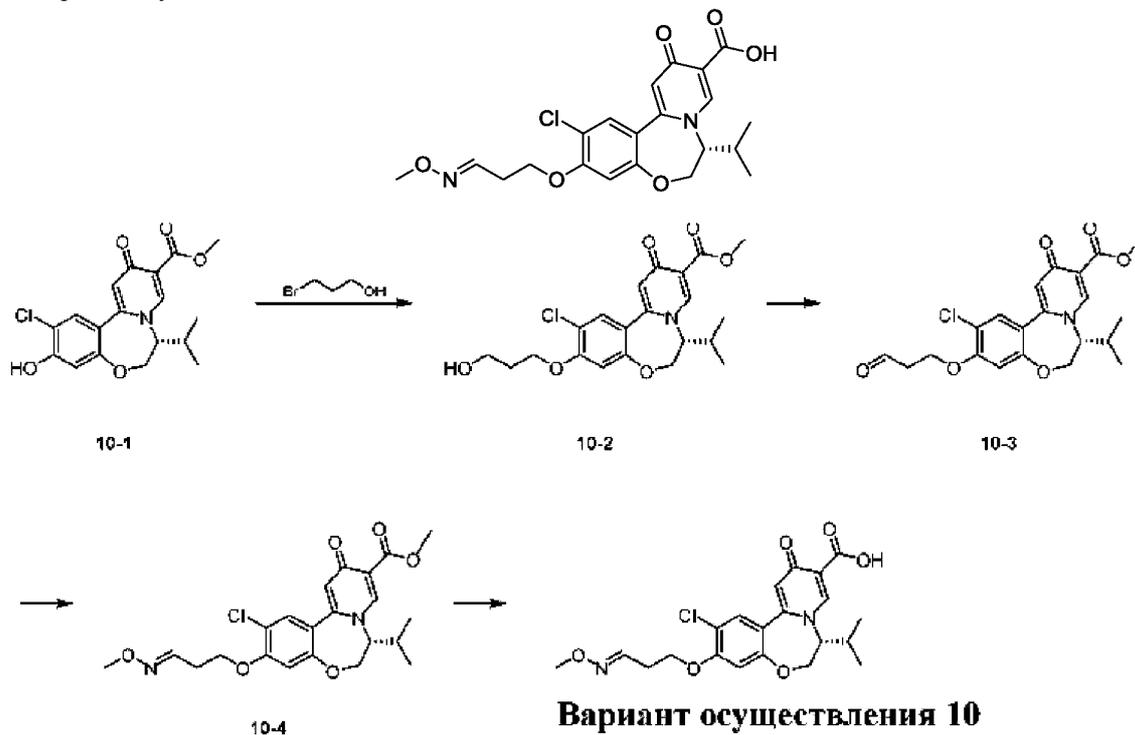
Соединение 9-4 (112,78 мг, 192,43 мкмоль) растворяли в воде (2,00 мл) и добавляли карбонат калия (26,59 мг, 192,43 мкмоль). Смесь перемешивали при 100°C в течение 12 ч. pH реакционной смеси довели до 3-4 и реакционную смесь очищали с помощью высокоэффективной препаративной жидкостной хроматографии (колонка: Boston Green ODS 150×25, 10 мкм; подвижная фаза: [вода (0,225% муравьиной кислоты)-ацетонитрил]; градиент элюирования: 30-60%, 11 мин) с получением соединения по варианту осуществления 9.

Значение ee (энантиомерный избыток): 81,8%.

Способ SFC (сверхкритическая жидкостная хроматография): колонка: Chiral pak AD-3100 мм × 4,6 мм внутренний диаметр, 3 мкм. Подвижная фаза: 5-40% метанол (0,05% диэтиламина) в диоксиде углерода. Скорость потока: 3 мл/мин. Длина волны: 220 нм.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 8,78 (s, 1H), 7,75 (s, 1H), 7,02 (s, 1H), 6,90 (s, 1H), 4,70 (br s, 2H), 4,55 (br d, $J=10,3$ Гц, 1H), 4,27 - 4,11 (m, 2H), 3,27 (s, 2H), 2,76 (t, $J=7,2$ Гц, 2H), 2,07 - 1,97 (m, 2H), 1,84 (br s, 1H), 0,98 (d, $J=6,5$ Гц, 3H), 0,71 (br d, $J=6,4$ Гц, 3H).

Вариант осуществления 10.



Соединение 10-1 можно получать способом, относящимся к способу получения соединения 7-12.

Стадия А. Соединение 10-1 (700,00 мг, 1,92 ммоль) растворяли в *N,N*-диметилформамиде (20,00 мл) с последующим добавлением карбоната калия (452,09 мг, 3,27 ммоль) и 3-бром-1-пропанола (401,13 мг, 2,89 ммоль). Смесь перемешивали при 50°C в течение 5 ч с последующим добавлением воды (45,00 мл) и экстрагированием с помощью 150,00 мл (50,00 мл \times 3) дихлорметана. Объединенные органические фазы высушивали над безводным сульфатом натрия и выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали с помощью высокоэффективной препаративной жидкостной хроматографии (колонка: Boston Green ODS 250 \times 50 мм, 10 мкм; подвижная фаза: [вода (0,225% муравьиной кислоты)-ацетонитрил]; градиент элюирования: 15-45%; 30 мин) с получением соединения 10-2.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8,21 (s, 1H), 7,53 (s, 1H), 6,73 (s, 1H), 6,64 (s, 1H), 4,68 - 4,46 (m, 2H), 4,28 - 4,20 (m, 2H), 3,95 (s, 3H), 3,73 (ddd, $J=2,9, 5,3, 10,9$ Гц, 1H), 2,15 (квин., $J=5,8$ Гц, 2H), 2,10 - 2,03 (m, 1H), 1,28 (s, 2H), 1,08 (d, $J=6,5$ Гц, 3H), 0,90 (d, $J=6,5$ Гц, 3H).

Стадия В.

Соединение 10-2 (100,00 мг, 237,04 мкмоль) растворяли в дихлорметане (20,00 мл) и добавляли окислитель Десса-Мартина (110,59 мг, 260,74 мкмоль) при 0°C. Смесь перемешивали при 20°C в течение 2 ч. К ней добавляли насыщенный бикарбонат натрия (20,00 мл) и тиосульфат натрия (20,00 мл) с последующей фильтрацией с получением фильтрата. Органическую фазу промывали насыщенным бикарбонатом натрия (20,00 мл \times 3). Органические фазы объединяли, высушивали над безводным сульфатом натрия и выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (элюент: дихлорметан/метанол = 10/1) с получением соединения 10-3.

Стадия С.

Соединение 10-3 (40,00 мг, 95,27 мкмоль) и гидрохлорид метоксиламина (9,55 мг, 114,33 мкмоль) растворяли в дихлорметане (10,00 мл) и к нему добавляли пиридин (9,04 мг, 114,33 мкмоль). Смесь перемешивали при 15°C в течение 12 ч и выпаривали посредством ротационного выпаривания для удаления растворителя, с последующим разбавлением с помощью 15,00 мл воды и экстрагированием с помощью 30,00 мл этилацетата (10,00 мл \times 3). Объединенные органические фазы затем высушивали над безводным сульфатом натрия и выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали с помощью пластины с силикагелем (элюент: дихлорметан/метанол = 10/1) с получением соединения 10-4.

Стадия D.

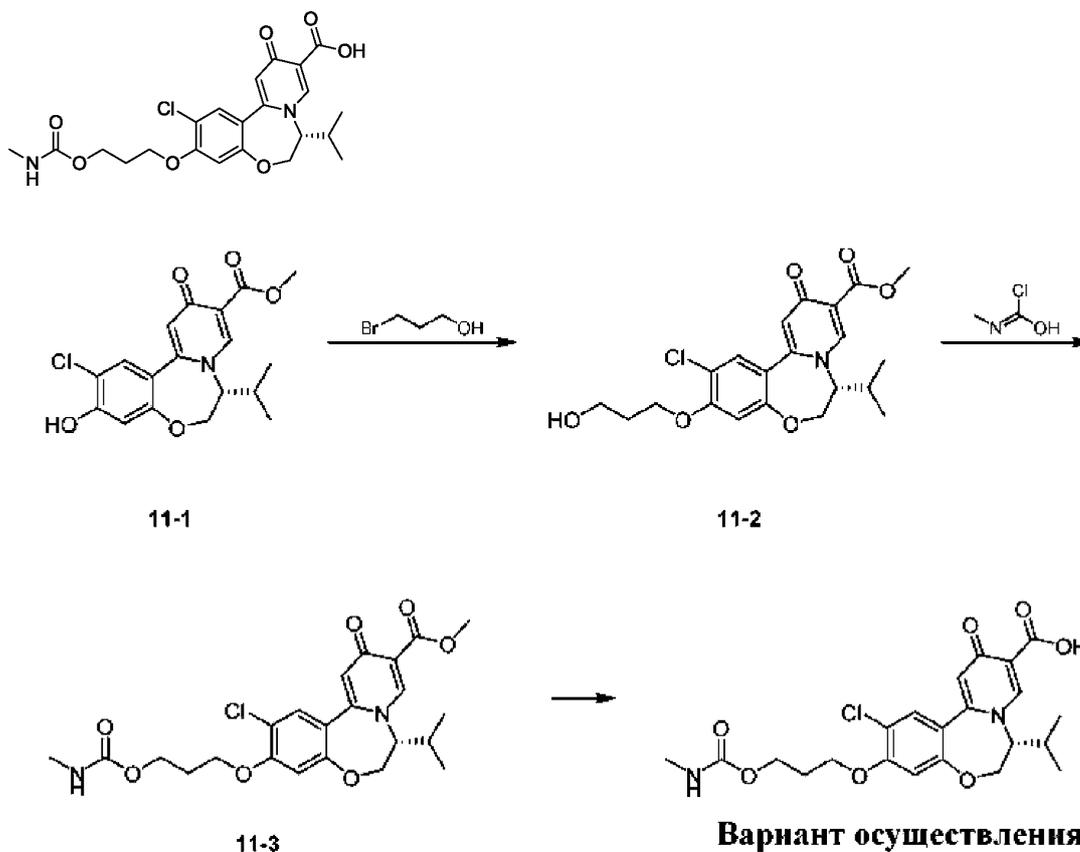
Соединение 10-4 (30,00 мг, 66,30 мкмоль) растворяли в метаноле (9,00 мл) и к нему добавляли раствор гидроксида натрия (4,00 моль, 3,00 мл). Смесь перемешивали при 15°C в течение 0,5 ч. pH реакционной смеси доводили до 3-4 и реакционную смесь очищали с помощью высокоэффективной препаративной жидкостной хроматографии (колонка: Boston Green ODS 150 × 30, 4 мкм; подвижная фаза: [вода (0,225% муравьиной кислоты)-ацетонитрил]; градиент элюирования: 50-74%, 10,5 мин) с получением соединения по варианту осуществления 10.

Значение ee (энантиомерный избыток): 5,8%.

Способ SFC (сверхкритическая жидкостная хроматография): колонка: Chiral OD-3 100 мм × 4,6 мм I.D., 3 мкм. Подвижная фаза: 5-40% метанол (0,05% диэтиламина) в диоксиде углерода. Скорость потока: 3 мл/мин. Длина волны: 220 нм.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 8,77 (br s, 1H), 7,74 (br s, 1H), 7,49 (t, J=5,8 Гц, 1H), 7,01 (br s, 1H), 6,94 - 6,86 (m, 1H), 4,69 (br s, 2H), 4,54 (br s, 1H), 4,36 - 4,20 (m, 2H), 3,83 - 3,71 (m, 3H), 2,78 - 2,61 (m, 2H), 1,83 (br s, 1H), 0,98 (d, J=6,4 Гц, 3H), 0,71 (br d, J=6,4 Гц, 3H).

Вариант осуществления 11.



Соединение 11-1 можно получать способом, относящимся к способу получения соединения 7-12.

Стадия А.

Соединение 11-1 (700,00 мг, 1,92 ммоль) растворяли в N,N-диметилформамиде (20,00 мл) с последующим добавлением карбоната калия (452,09 мг, 3,27 ммоль) и 3-бром-1-пропанола (401,13 мг, 2,89 ммоль). Смесь перемешивали при 50°C в течение 5 ч с последующим добавлением воды (45,00 мл) и экстрагированием с помощью 150,00 мл (50,00 мл × 3) дихлорметана. Объединенные органические фазы высушивали над безводным сульфатом натрия и выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали с помощью высокоэффективной препаративной жидкостной хроматографии (колонка: Boston Green ODS 250×50 мм, 10 мкм; подвижная фаза: [вода (0,225% муравьиной кислоты)-ацетонитрил]; градиент элюирования: 15%-45%; 30 мин.) с получением соединения 11-2.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8,21 (s, 1H), 7,53 (s, 1H), 6,73 (s, 1H), 6,64 (s, 1H), 4,68 - 4,46 (m, 2H), 4,28 - 4,20 (m, 2H), 3,95 (s, 3H), 3,73 (ddd, J=2,9, 5,3, 10,9 Гц, 1H), 2,15 (квин., J=5,8 Гц, 2H), 2,10 - 2,03 (m, 1H), 1,28 (s, 2H), 1,08 (d, J=6,5 Гц, 3H), 0,90 (d, J=6,5 Гц, 3H).

Стадия В.

Соединение 11-2 (80,00 мг, 189,63 мкмоль), 4-диметиламинопиридин (231,67 мкг, 1,90 мкмоль) и триэтиламин (57,57 мг, 568,89 мкмоль) растворяли в дихлорметане (20,00 мл) с последующим добавлением метиламиноформилхлорида (35,47 мг, 379,26 мкмоль). Смесь перемешивали при 15°C в течение 5 ч

с последующим добавлением воды (15,00 мл) и экстрагированием с помощью 45,00 мл (15,00 мл ×3) дихлорметана. Объединенные органические фазы затем высушивали над безводным сульфатом натрия и выпаривали при пониженном давлении с получением соединения 11-3.

Стадия С.

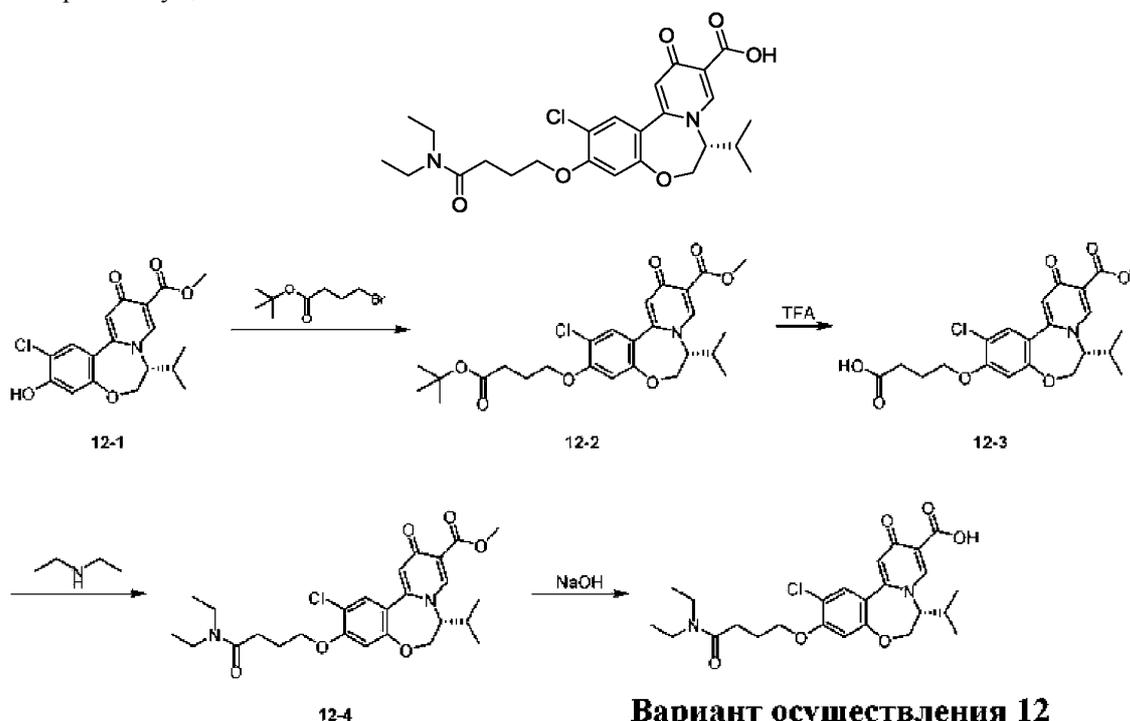
Соединение 11-3 (90,00 мг, 187,92 мкмоль) растворяли в метаноле (10,00 мл), тетрагидрофуране (10,00 мл) и воде (10,00 мл), и к нему добавляли моногидрат гидроксида лития (23,66 моль, 563,77 мкмоль). Смесь перемешивали при 20°C в течение 12 ч. pH реакционной смеси доводили до 3-4 и реакцию смесь разбавляли 20,00 мл воды, и экстрагировали с помощью 45,00 мл (15,00 мл ×3) дихлорметана. Объединенные органические фазы затем высушивали над безводным сульфатом натрия и выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали с помощью высокоэффективной препаративной жидкостной хроматографии (колонка: Boston Green ODS 150 ×30,4 мкм; подвижная фаза: [вода (0,225% муравьиной кислоты)-ацетонитрил]; градиент элюирования: 35%-65%, 10,5 мин.) с получением соединения по варианту осуществления 11.

Значение ee (энантиомерный избыток): 100%.

Способ SFC (сверхкритическая жидкостная хроматография): колонка: Chiral pak AD-3 100 мм ×4,6 мм внутренний диаметр, 3 мкм. Подвижная фаза: 5-40% метанол (0,05% диэтиламина) в диоксиде углерода. Скорость потока: 3 мл/мин. Длина волны: 220 нм.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 8,79 (s, 1H), 7,76 (s, 1H), 7,11 - 6,95 (m, 2H), 6,89 (s, 1H), 4,71 (br s, 2H), 4,56 (br d, J=7,5 Гц, 1H), 4,23 - 4,07 (m, 4H), 2,56 (d, J=4,5 Гц, 3H), 2,08 - 2,02 (m, 2H), 1,96 - 1,71 (m, 1H), 0,98 (d, J=6,5 Гц, 3H), 0,71 (br d, J=6,5 Гц, 3H).

Вариант осуществления 12.



Соединение 12-1 можно получать способом, относящимся к способу получения соединения 7-12.

Стадия А.

Соединение 12-1 (100,00 мг, 274,88 мкмоль) растворяли в N,N-диметилформамиде (2,00 мл) с последующим добавлением карбоната калия (49,39 мг, 357,34 мкмоль) и 4-бромбутил-трет-бутилового эфира (79,73 мг, 357,34 мкмоль). Смесь перемешивали при 100°C в течение 12 ч с последующим добавлением воды (30,00 мл) и экстрагированием с помощью 45,00 мл (15,00 мл ×3) дихлорметана. Объединенные органические фазы высушивали над безводным сульфатом натрия и выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта 12-2.

Стадия В.

Соединение 12-2 (128,00 мг, 252,97 мкмоль) растворяли в дихлорметане (3,00 мл) с последующим добавлением трифторуксусной кислоты (4,62 мг, 40,52 мкмоль). Смесь перемешивали при 15°C в течение 1 ч и выпаривали посредством ротационного выпаривания для удаления растворителя с получением неочищенного продукта 12-3.

Стадия С.

Соединение 12-3 (80,00 мг, 177,83 мкмоль) растворяли в дихлорметане (10,00 мл) с последующим добавлением гексафторфосфата 2-(7-азабензотриазол)-N,N,N',N'-тетраметилурония (НАТУ) (81,14 мг,

213,39 мкмоль) и триэтиламина (26,99 мг, 266,74 мкмоль). Смесь перемешивали при 25°C в течение 30 мин с последующим добавлением диэтиламина (15,61 мг, 213,39 мкмоль). Смесь перемешивали при 25°C в течение 12 ч с последующим добавлением воды (20,00 мл) и экстрагированием с помощью 45,00 мл (15,00 мл ×3) дихлорметана. Объединенные органические фазы затем высушивали над безводным сульфатом натрия и выпаривали при пониженном давлении с получением соединения 12-4.

Стадия D.

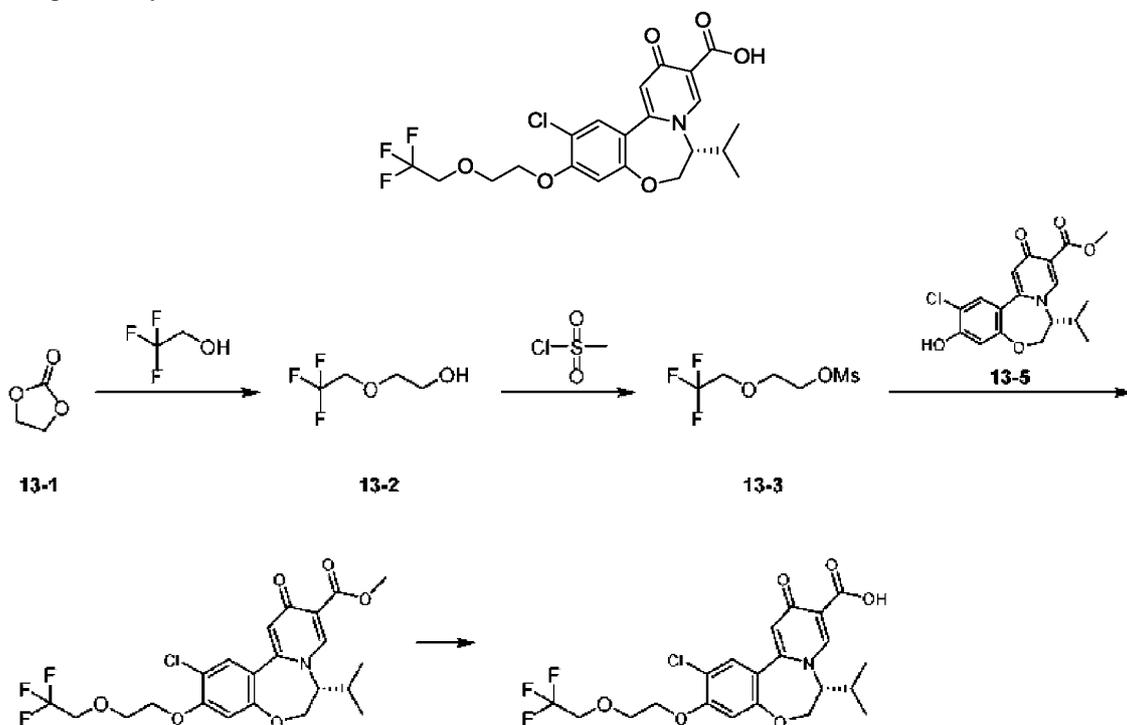
Соединение 12-4 (80,00 мг, 158,22 мкмоль) растворяли в метаноле (4,50 мл) и к нему добавляли раствор гидроксида натрия (4,00 моль, 1,71 мл). Смесь перемешивали при 20°C в течение 5 мин. pH реакционной смеси доводили до 2-3 и реакционную смесь очищали с помощью высокоэффективной препаративной жидкостной хроматографии (колонка: Boston Green ODS 150×25 мм, 10 мкм; подвижная фаза: [вода (0,225% муравьиной кислоты)-ацетонитрил]; градиент элюирования: 40-70%, 11 мин.) с получением соединения по варианту осуществления 12.

Значение ee (энантиомерный избыток): 99,5%.

Способ SFC (сверхкритическая жидкостная хроматография): колонка: Chiralcel OD-3100 мм ×4,6 мм внутренний диаметр, 3 мкм. Подвижная фаза: 5-40% метанол (0,05% диэтиламина) в диоксиде углерода. Скорость потока: 3 мл/мин. Длина волны: 220 нм.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 8,77 (br s, 1H), 7,74 (s, 1H), 7,12 - 6,79 (m, 2H), 4,77 - 4,48 (m, 1H), 4,80 - 4,45 (m, 2H), 4,22 - 4,10 (m, 2H), 3,29 (br dd, J=7,0, 11,7 Гц, 4H), 2,49 - 2,45 (m, 2H), 1,98 (квин., J=6,6 Гц, 2H), 1,82 (br s, 1H), 1,10 (t, J=7,1 Гц, 3H), 1,04 - 0,96 (m, 6H), 0,71 (br d, J=6,4 Гц, 3H).

Вариант осуществления 13.



Вариант осуществления 13

Соединение 13-5 можно получать способом, относящимся к способу получения соединения 7-12.

Стадия А.

Смесь соединения 13-1 (13,20 г, 150,00 ммоль), 2,2,2-трифторэтанола (10,00 г, 99,96 ммоль), триэтиламина (10,11 г, 100,00 ммоль) и йодида тетрабутиламмония (738,24 мг, 2,00 ммоль) продували газообразным азотом. Смесь перемешивали при 100°C в течение 24 ч. Реакционную смесь перегоняли с получением соединения 13-2.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 3,91 (q, J=8,74 Гц, 2H), 3,72-3,82 (m, 4H), 2,21 (br s, 1H).

Стадия В.

Соединение 13-2 (1,00 г, 6,94 ммоль) растворяли в дихлорметане (15,00 мл) и добавляли триэтиламин (912,94 мг, 9,02 ммоль) с последующим добавлением к нему по каплям метансульфонилхлорида (1,15 г, 10,04 ммоль) при 0°C. Смесь перемешивали при 20°C в течение 2 ч. Реакционную смесь непосредственно применяли на следующей стадии без очистки. Реакционную смесь гасили насыщенным карбонатом натрия (20,00 мл), разбавляли водой (10,00 мл), экстрагировали с помощью 60,00 мл (20,00 мл ×3) дихлорметана, высушивали над безводным сульфатом натрия и перегоняли при пониженном давлении с получением соединения 13-3.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 4,43 - 4,39 (m, 2H), 3,96 - 3,88 (m, 4H), 3,07 (s, 3H).

Стадия С.

Соединение 13-3 (85,50 мг, 384,84 мкмоль) растворяли в *N,N*-диметилформамиде (2,00 мл) с последующим добавлением карбоната калия (53,19 мг, 384,84 мкмоль). Смесь перемешивали при 100°C в течение 12 ч с получением соединения 13-4. Реакционную смесь непосредственно применяли на следующей стадии без очистки.

Стадия D.

Соединение 13-4 (94,26 мг, 192,22 мкмоль) растворяли в воде (0,50 мл) и смесь перемешивали при 100°C в течение 12 ч. pH реакционной смеси доводили до 3-4 и реакционную смесь очищали с помощью высокоэффективной препаративной жидкостной хроматографии (колонка: Boston Green ODS 150 \times 30,4 мкм; подвижная фаза: [вода (0,225% муравьиной кислоты)-ацетонитрил]; градиент элюирования: 50-80%, 10,5 мин) с получением соединения по варианту осуществления 13.

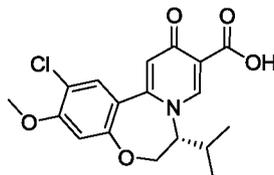
Значение ee (энантиомерный избыток): 83,8%.

Способ SFC (сверхкритическая жидкостная хроматография): колонка: Chiral pak AD-3 100 мм \times 4,6 мм внутренний диаметр, 3 мкм. Подвижная фаза: 5-40% метанол (0,05% диэтиламина) в диоксиде углерода. Скорость потока: 3 мл/мин. Длина волны: 220 нм.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 8,76 (s, 1H), 7,75 (s, 1H), 6,99 (br s, 1H), 6,92 (s, 1H), 4,75 - 4,63 (m, 2H), 4,53 (br d, $J=9,8$ Гц, 1H), 4,36 - 4,27 (m, 2H), 4,19 (q, $J=9,3$ Гц, 2H), 3,98 (t, $J=4,2$ Гц, 2H), 1,93 - 1,74 (m, 1H), 0,98 (d, $J=6,4$ Гц, 3H), 0,71 (d, $J=6,5$ Гц, 3H).

Варианты осуществления от 14 до 21 можно получать способом, относящимся к способу получения по варианту осуществления 7.

Вариант осуществления 14.

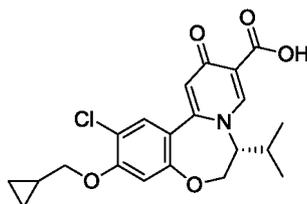


Значение ee (энантиомерный избыток): 67,6%.

Способ SFC (сверхкритическая жидкостная хроматография): колонка: Chiral pak AD-3 100 мм \times 4,6 мм внутренний диаметр, 3 мкм. Подвижная фаза: 5-40% метанол (0,05% диэтиламина) в диоксиде углерода. Скорость потока: 3 мл/мин. Длина волны: 220 нм.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 8,78 (s, 1H), 7,75 (s, 1H), 7,02 (s, 1H), 6,89 (s, 1H), 4,71 (br d, $J=3,4$ Гц, 2H), 4,55 (br d, $J=10,4$ Гц, 1H), 3,92 (s, 3H), 1,91 - 1,71 (m, 1H), 0,99 (d, $J=6,5$ Гц, 3H), 0,71 (d, $J=6,5$ Гц, 3H).

Вариант осуществления 15.

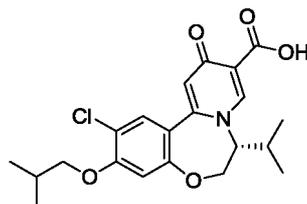


Значение ee (энантиомерный избыток): 100%.

Способ SFC (сверхкритическая жидкостная хроматография): колонка: Chiral pak AD-3 100 мм \times 4,6 мм внутренний диаметр, 3 мкм. Подвижная фаза: 5-40% метанол (0,05% диэтиламина) в диоксиде углерода. Скорость потока: 3 мл/мин. Длина волны: 220 нм.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 8,76 (br s, 1H), 7,73 (s, 1H), 7,11 - 6,75 (m, 2H), 4,73 - 4,47 (m, 3H), 3,98 (dd, $J=4,7, 6,8$ Гц, 2H), 1,99 - 1,67 (m, 1H), 1,32 - 1,22 (m, 1H), 0,97 (d, $J=6,5$ Гц, 3H), 0,71 (br d, $J=6,5$ Гц, 3H), 0,60 (br dd, $J=1,5, 7,9$ Гц, 2H), 0,37 (q, $J=4,5$ Гц, 2H).

Вариант осуществления 16.



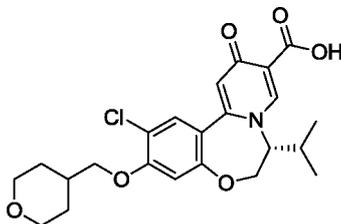
Значение ee (энантиомерный избыток): 100%.

Способ SFC (сверхкритическая жидкостная хроматография): колонка: Chiral pak AD-3 100 мм \times 4,6 мм внутренний диаметр, 3 мкм. Подвижная фаза: 5-40% метанол (0,05% диэтиламина) в диоксиде углерода.

Скорость потока: 3 мл/мин. Длина волны: 220 нм.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 8,76 (s, 1H), 7,73 (s, 1H), 6,99 (br s, 1H), 6,87 (s, 1H), 4,69 (br d, J=2,9 Гц, 2H), 4,53 (br d, J=11,3 Гц, 1H), 3,90 (dd, J=2,7, 6,5 Гц, 2H), 2,10 - 2,04 (m, 1H), 1,92 - 1,75 (m, 1H), 1,01 (d, J=6,7 Гц, 6H), 0,98 (d, J=6,5 Гц, 3H), 0,71 (d, J=6,5 Гц, 3H).

Вариант осуществления 17.

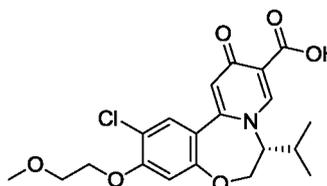


Значение ee (энантиомерный избыток): 100%.

Способ SFC (сверхкритическая жидкостная хроматография): колонка: Chiral pak AD-3 100 мм × 4,6 мм внутренний диаметр, 3 мкм. Подвижная фаза: 5-40% метанол (0,05% диэтиламина) в диоксиде углерода. Скорость потока: 3 мл/мин. Длина волны: 220 нм.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 8,76 (s, 1H), 7,73 (s, 1H), 6,98 (br s, 1H), 6,89 (s, 1H), 4,71 - 4,49 (m, 3H), 4,00 (br d, J=5,7 Гц, 2H), 3,91 - 3,87 (m, 2H), 3,35 (br s, 2H), 2,12 - 2,01 (m, 2H), 1,73 - 1,62 (m, 2H), 1,43 - 1,32 (m, 2H), 0,98 (br d, J=6,5 Гц, 3H), 0,71 (br d, J=6,5 Гц, 3H).

Вариант осуществления 18.

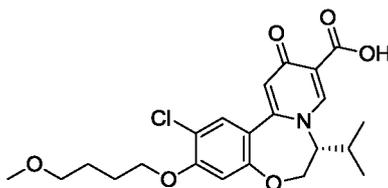


Значение ee (энантиомерный избыток): 100%.

Способ SFC (сверхкритическая жидкостная хроматография): колонка: Chiral pak AD-3 100 мм × 4,6 мм внутренний диаметр, 3 мкм. Подвижная фаза: 5-40% метанол (0,05% диэтиламина) в диоксиде углерода. Скорость потока: 3 мл/мин. Длина волны: 220 нм.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 8,76 (br s, 1H), 7,74 (s, 1H), 7,16 - 6,83 (m, 2H), 4,70 (br s, 2H), 4,52 (br s, 1H), 4,31 - 4,21 (m, 2H), 3,70 (t, J=4,4 Гц, 2H), 3,34 (s, 3H), 1,94 - 1,68 (m, 1H), 0,98 (d, J=6,4 Гц, 3H), 0,71 (d, J=6,5 Гц, 3H).

Вариант осуществления 19.

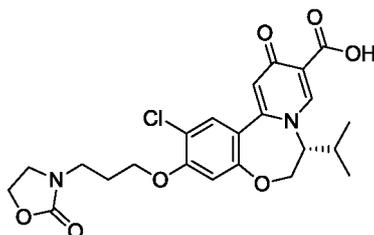


Значение ee (энантиомерный избыток): 100%.

Способ SFC (сверхкритическая жидкостная хроматография): колонка: Chiral pak AD-3 100 мм × 4,6 мм внутренний диаметр, 3 мкм. Подвижная фаза: 5-40% метанол (0,05% диэтиламина) в диоксиде углерода. Скорость потока: 3 мл/мин. Длина волны: 220 нм.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 8,78 (s, 1H), 7,74 (s, 1H), 7,01 (br s, 1H), 6,88 (s, 1H), 4,70 (br d, J=2,4 Гц, 2H), 4,55 (br d, J=8,9 Гц, 1H), 4,21 - 4,06 (m, 2H), 3,40 (br s, 2H), 3,24 (s, 3H), 1,90 - 1,72 (m, 3H), 1,71 - 1,63 (m, 2H), 0,98 (d, J=6,5 Гц, 3H), 0,71 (br d, J=6,5 Гц, 3H).

Вариант осуществления 20.



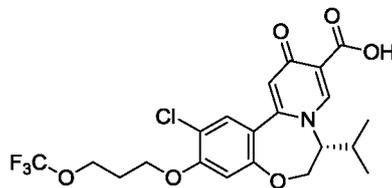
Значение ee (энантиомерный избыток): 100%.

Способ SFC (сверхкритическая жидкостная хроматография): колонка: Chiral pak AD-3 100 мм × 4,6 мм

внутренний диаметр, 3 мкм. Подвижная фаза: 5-40% метанол (0,05% диэтиламина) в диоксиде углерода. Скорость потока: 3 мл/мин. Длина волны: 220 нм.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 8,78 (s, 1H), 7,76 (s, 1H), 7,03 (s, 1H), 6,88 (s, 1H), 4,70 (br d, $J=2,8$ Гц, 2H), 4,55 (br d, $J=8,4$ Гц, 1H), 4,30 - 4,23 (m, 2H), 4,21 - 4,11 (m, 2H), 3,69 - 3,50 (m, 2H), 3,35 - 3,33 (m, 2H), 2,00 (квин., $J=6,4$ Гц, 2H), 1,94 - 1,73 (m, 1H), 0,98 (d, $J=6,5$ Гц, 3H), 0,71 (br d, $J=6,5$ Гц, 3H).

Вариант осуществления 21.

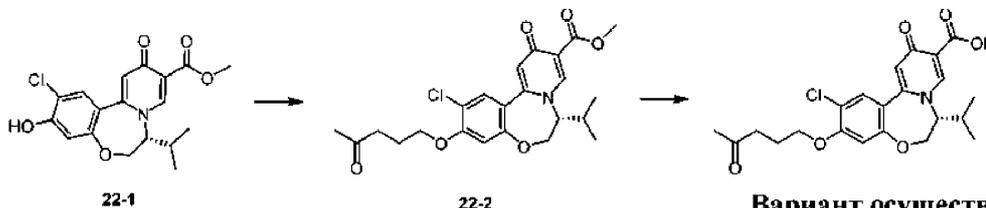
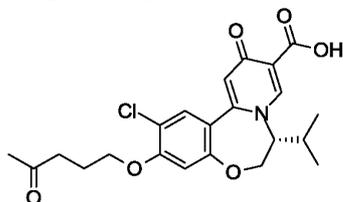


Значение ee (энантиомерный избыток): 100%.

Способ SFC (сверхкритическая жидкостная хроматография): колонка: Chiral pak AD-3 100 мм \times 4,6 мм внутренний диаметр, 3 мкм. Подвижная фаза: 5-40% метанол (0,05% диэтиламина) в диоксиде углерода. Скорость потока: 3 мл/мин. Длина волны: 220 нм.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 8,78 (s, 1H), 7,76 (s, 1H), 7,03 (s, 1H), 6,93 (s, 1H), 4,70 (br d, $J=3,1$ Гц, 2H), 4,55 (br d, $J=10,0$ Гц, 1H), 4,29 - 4,20 (m, 4H), 2,18 (квин., $J=6,0$ Гц, 2H), 1,83 (br s, 1H), 0,98 (d, $J=6,4$ Гц, 3H), 0,71 (d, $J=6,5$ Гц, 3H).

Вариант осуществления 22.



Соединение 22-1 можно получать способом, относящимся к способу получения соединения 7-12.

Стадия А.

Карбонат калия (182,36 мг, 1,32 ммоль, 1,60 экв.) добавляли к раствору соединения 22-1 (300,00 мг, 824,65 мкмоль, 1,00 экв.) и 5-бром-2-пентанона (176,92 мг, 1,07 ммоль, 1,30 экв.) в N,N -диметилформамиде (3,00 мл) одной порцией. Раствор перемешивали при 110°C в течение 10 ч и к нему добавляли 1,00 моль/л разбавленной хлористоводородной кислоты (5,00 мл). Смесь перемешивали при 10°C в течение 10 мин и экстрагировали этилацетатом (30,00 мл \times 3). Объединенные органические фазы промывали водой (10,00 мл \times 3) и насыщенным солевым раствором (10,00 мл \times 3), высушивали над безводным сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении с получением желтого твердого вещества, которое отделяли с помощью хроматографии на пластине с силикагелем (дихлорметан/метанол 10/1) дважды, с получением соединения 22-2.

Стадия В.

4 моль/л водного раствора гидроксида натрия (0,50 мл) добавляли к раствору соединения 22-2 (50,00 мг, 111,63 мкмоль, 1,00 экв.) в метаноле (3,00 мл) одной порцией. Смешанный раствор перемешивали при 40°C в течение 10 мин с последующим добавлением 1,00 мл разбавленного водного раствора хлористоводородной кислоты с концентрацией 1,00 моль/л и концентрированием при пониженном давлении с получением желтого твердого вещества. Желтое твердое вещество очищали с помощью высокоэффективной препаративной жидкостной хроматографии (колонка: Phenomenex Gemini 150 мм \times 25 мм \times 10 мкм; подвижная фаза: [вода (0,05% аммиака)-ацетонитрил]; градиент элюирования: 9-39%, 10 мин) с получением соединения по варианту осуществления 22.

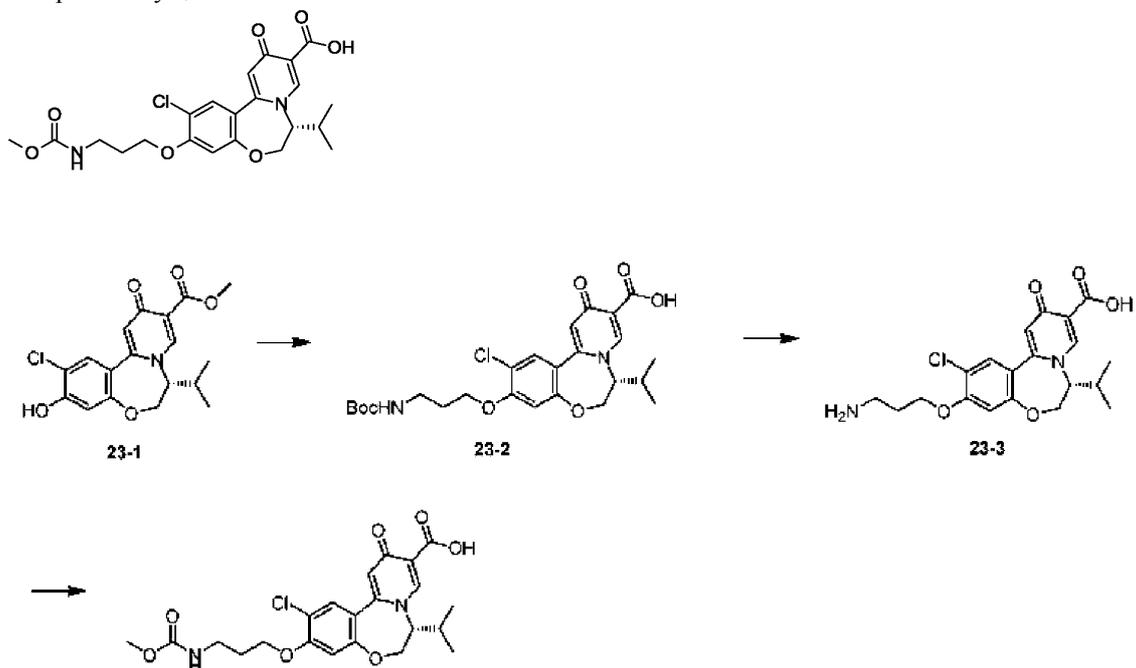
Значение ee (энантиомерный избыток): 93%.

Способ SFC (сверхкритическая жидкостная хроматография): колонка: Chiral pak AD-3 100 мм \times 4,6 мм внутренний диаметр, 3 мкм. Подвижная фаза: 5-40% метанол (0,05% диэтиламина) в диоксиде углерода.

Скорость потока: 3 мл/мин. Длина волны: 220 нм.

^1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD) δ = 8,43 (br s, 1H), 7,57 (br s, 1H), 6,84 - 6,67 (m, 2H), 4,75 - 4,51 (m, 2H), 4,13 (br d, $J=5,6$ Гц, 3H), 2,75 (br t, $J=6,8$ Гц, 2H), 2,20 (s, 3H), 2,13 - 2,08 (m, 2H), 1,95 (br s, 1H), 1,07 (br d, $J=6,2$ Гц, 3H), 0,82 (br d, $J=6,0$ Гц, 3H).

Вариант осуществления 23.



Вариант осуществления 23

Соединение 23-1 можно получать способом, относящимся к способу получения соединения 7-12.

Стадия А.

Карбонат калия (121,57 мг, 879,63 мкмоль, 1,60 экв.) добавляли к раствору соединения 23-1 (200,00 мг, 549,77 мкмоль, 1,00 экв.) в *N,N*-диметилформамиде (8,00 мл). Раствор перемешивали при 110°C в течение 1 ч. К раствору добавляли 3,00 мл воды и суспензию фильтровали с получением коричневого твердого вещества. Коричневое твердое вещество дважды отделяли с помощью препаративной пластины с силикагелем (дихлорметан/метанол 10/1) с получением соединения 23-2.

Стадия В.

Трифторуксусную кислоту (950,29 мг, 8,33 ммоль, 617,07 мкл, 48,91 экв.) добавляли по каплям к раствору соединения 23-2 (84,00 мг, 170,40 мкмоль, 1,00 экв.) в дихлорметане (2,00 мл). Полученный раствор перемешивали при 10°C в течение 3 мин и концентрировали при пониженном давлении с получением соединения 23-3.

Стадия С.

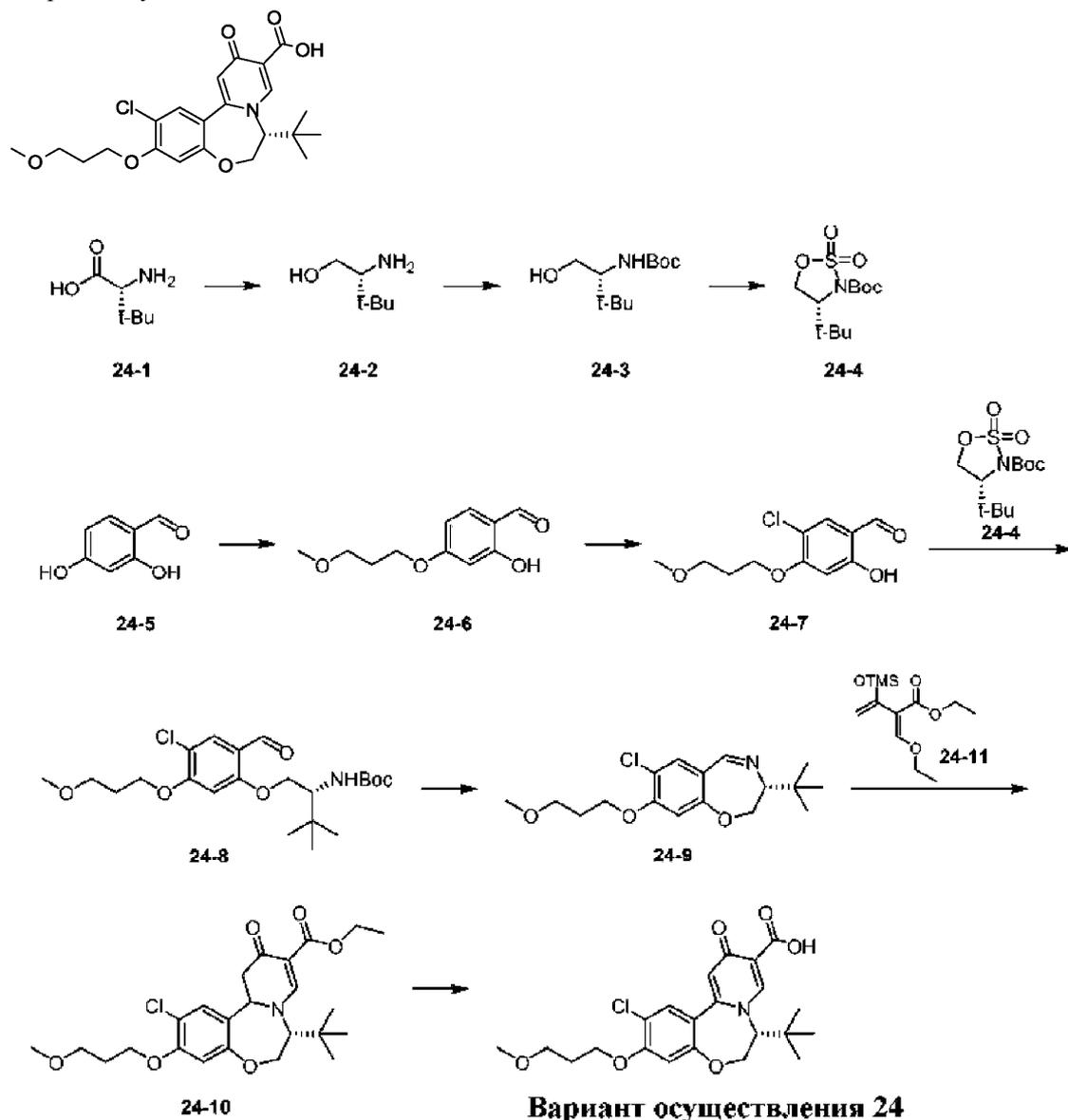
Метилхлорформиат (37,16 мг, 393,26 мкмоль, 30,46 мкл, 2,00 экв.) медленно по каплям добавляли к раствору соединения 23-3 (80,00 мг, 196,63 мкмоль, 1,00 экв.) и триэтиламина (50,74 мг, 501,41 мкмоль, 69,50 мкл, 2,55 экв.) в дихлорметане (2,00 мл) при 0°C в атмосфере азота в течение 5 мин. Полученный раствор перемешивали при 0-14°C в течение 30 мин и разделяли с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (колонка: Phenomenex Synergi C18 150 мм × 25 мм × 10 мкм; подвижная фаза: [вода (0,225% муравьиной кислоты)-ацетонитрил]; градиент элюирования: 33-53%, 10 мин) с получением соединения по варианту осуществления 23.

Значение *ee* (энантиомерный избыток): 100%.

Способ SFC (сверхкритическая жидкостная хроматография): колонка: Chiral pak AD-3 100 мм × 4,6 мм внутренний диаметр, 3 мкм. Подвижная фаза: 5-40% метанол (0,05% диэтиламина) в диоксиде углерода. Скорость потока: 3 мл/мин. Длина волны: 220 нм.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ = 15,61 (br s, 1H), 8,38 (br s, 1H), 7,45 (s, 1H), 6,78 (s, 1H), 6,56 (s, 1H), 5,08 (br s, 1H), 4,65 - 4,45 (m, 2H), 4,07 (br s, 2H), 3,79 (br s, 1H), 3,61 (s, 3H), 3,39 (br d, $J=5,1$ Гц, 2H), 2,04 (br s, 2H), 1,18 (s, 1H), 1,02 (br d, $J=5,9$ Гц, 3H), 0,81 (br d, $J=6,1$ Гц, 3H).

Вариант осуществления 24.



Соединение 24-4 можно получать способом, относящимся к способу получения соединения 6-4. Стадия А.

Соединение 24-5 (100,00 г, 724,01 ммоль, 1,00 экв.) растворяли в N,N-диметилформамиде (600,00 мл). После охлаждения до 0°C к нему добавляли карбонат калия (100,06 г, 724,01 ммоль, 1,00 экв.). После нагревания смеси до 90°C к раствору в течение 1 ч медленно добавляли 1-бром-3-метоксипропан (110,79 г, 724,01 ммоль, 1,00 экв.) в N,N-диметилформамиде (400,00 мл). Смешанный раствор дополнительно перемешивали при 90°C в течение 1 ч. Затем раствор выливали в 400,00 мл воды и экстрагировали этилацетатом (800,00 мл ×3). Органические фазы объединяли, промывали водой (500,00 мл) и насыщенным соевым раствором (200,00 мл ×2), концентрировали при пониженном давлении с получением белого твердого вещества и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (силикагель, петролейный эфир/этилацетат = от 100/1 до 80/1) с получением соединения 24-6.

Стадия В.

Соединение 24-6 (50,00 г, 237,84 ммоль, 1,00 экв.) растворяли в ацетонитриле (300,00 мл) и охлаждали до 0°C с последующим добавлением хлорсукцинимиды (32,08 г, 240,22 ммоль, 1,01 экв.). Смесь нагревали до 25°C и перемешивали в течение 10 ч. Раствор концентрировали при пониженном давлении с получением бесцветной жидкости. 500 мл этилацетата выливали в жидкость и смесь промывали водой (100,00 мл ×3) и насыщенным соевым раствором (100,00 мл ×3). Органическую фазу высушивали над безводным сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении с получением белого твердого вещества. Полученное белое твердое вещество растирали с метанолом с получением соединения 24-7.

Стадия С.

Карбонат калия (21,59 г, 156,21 ммоль, 2,00 экв.) добавляли к раствору соединения 24-7 (19,11 г,

78,10 ммоль, 1,00 экв.) и соединения 24-4 (24,00 г, 85,91 ммоль, 1,10 экв.) в N,N-диметилформамиде (300,00 мл) одной порцией. Раствор перемешивали при 50°C в течение 2 ч. Реакционную смесь выливали в 100,00 мл воды и экстрагировали этилацетатом (1000,00 мл). Органическую фазу отделяли, промывали водой (100,00 мл) и насыщенным соевым раствором (100,00 мл), высушивали над безводным сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении с получением соединения 24-8.

Стадия D.

Трифторуксусную кислоту (68,68 г, 602,31 ммоль, 44,59 мл, 8,10 экв.) добавляли к раствору соединения 24-8 (33,00 г, 74,33 ммоль, 1,00 экв.) в дихлорметане (30,00 мл) одной порцией. Раствор перемешивали при 10°C в течение 1 ч и концентрировали при пониженном давлении с получением коричневого масла. К нему добавляли 100,00 мл насыщенного водного раствора бикарбоната натрия, затем смесь перемешивали при 10°C в течение 1 ч и экстрагировали с помощью 600,00 мл этилацетата. Органическую фазу отделяли, высушивали над безводным сульфатом натрия и концентрировали с получением соединения 24-9.

Стадия E.

Соединение 24-9 (10,00 г, 30,69 ммоль, 1,00 экв.) добавляли к раствору соединения 24-11 (15,86 г, 61,38 ммоль, 2,00 экв.) в толуоле (100,00 мл) одной порцией. После того как суспензию несколько раз продували газообразным азотом, ее нагревали до 120°C и перемешивали в течение 28 ч. Раствор концентрировали при пониженном давлении с получением коричневого масла. Коричневое масло подвергали колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (ISCO®; флэш-колонокка с силикагелем SepaFlash®, 330 г, 5% трифторуксусная кислота/ацетонитрил в качестве элюента, скорость потока: 100 мл/мин.) с получением соединения 24-10.

Стадия E.

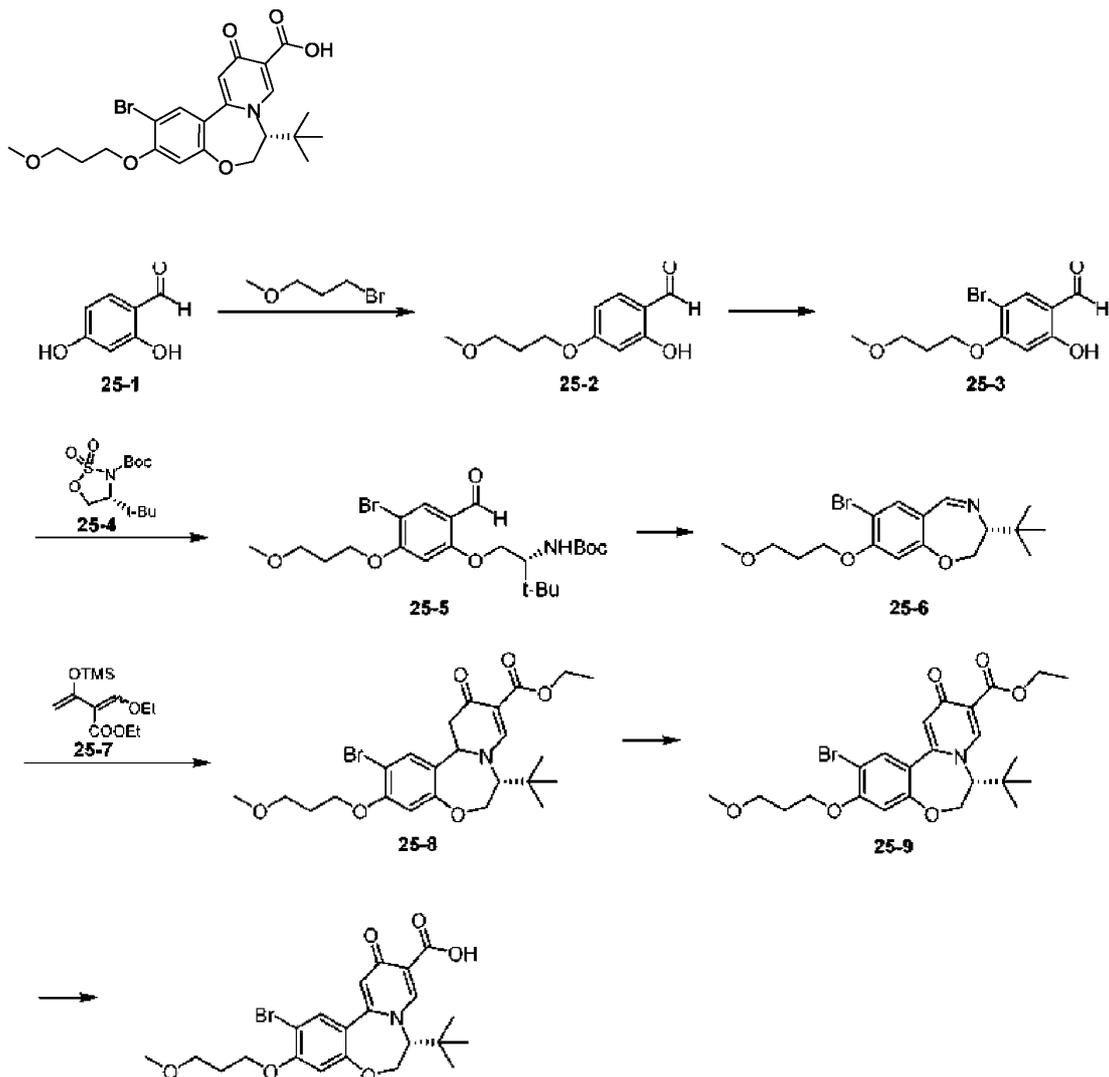
Раствор соединения 24-10 (4,20 г, 9,01 ммоль, 1,00 экв.) и тетрахлорбензохинона (5,54 г, 22,53 ммоль, 2,50 экв.) в толуоле (60,00 мл) и диметиловом эфире гликоля (60,00 мл) перемешивали при 120°C в течение 2 ч. Раствор концентрировали при пониженном давлении с получением коричневого масла. Коричневое масло подвергали колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (ISCO®; флэш-колонокка с силикагелем SepaFlash®, 330 г, подвижная фаза: 0-70% ацетонитрил/5% трифторуксусная кислота, скорость потока: 100 мл/мин) с получением коричневого масла. Остаток подвергали высокоэффективной жидкостной колоночной хроматографии (колонокка: Phenomenex luna C18 250×50 мм ×10 мкм; подвижная фаза: [вода (0,225% муравьиной кислоты)-ацетонитрил]; градиент элюирования: 38-68%, 30 мин) с получением соединения по варианту осуществления 24.

Значение ee (энантиомерный избыток): 100%.

Способ SFC (сверхкритическая жидкостная хроматография): колонокка: Chiral pak AD-3 100 мм ×4,6 мм внутренний диаметр, 3 мкм. Подвижная фаза: 5-40% метанол (0,05% диэтиламина) в диоксиде углерода. Скорость потока: 3 мл/мин. Длина волны: 220 нм.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ = 9,04 - 8,37 (m, 1H), 7,66 - 7,51 (m, 1H), 7,07 - 6,54 (m, 2H), 4,90 - 4,48 (m, 2H), 4,18 (br s, 3H), 3,62 (br s, 2H), 3,39 (s, 3H), 2,15 (квин., J=5,9 Гц, 2H), 1,30 - 0,91 (m, 9H).

Вариант осуществления 25.



Вариант осуществления 25

Соединение 25-4 можно получать способом, относящимся к способу получения соединения 6-4. Стадия А.

Смесь соединения 25-1 (140,00 г, 1,01 моль), карбоната калия и N,N-диметилформамида (500,00 мл) нагревали при 90°C в течение 1 ч. Затем к смеси по каплям добавляли раствор 1-бром-3-метоксипропанола (147,34 г, 962,93 ммоль) в N,N-диметилформамиде (100,00 мл) при 90°C и затем перемешивали при 90°C в течение 5 ч. Смесь выливали в воду (1500,00 мл) и экстрагировали этилацетатом (1000,00 мл × 2). Органические фазы объединяли, промывали насыщенным солевым раствором (1000,00 мл × 3), высушивали над безводным сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении при 45°C с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (петролейный эфир/этилацетат = от 50/1 до 10/1) с получением соединения 25-2.

Стадия В.

Раствор брома (33,34 г, 208,65 ммоль, 10,76 мл) в дихлорметане (100,00 мл) по каплям добавляли к раствору соединения 25-2 (40,00 г, 189,68 ммоль) в дихлорметане (300,00 мл) при 0°C в атмосфере азота. После перемешивания смеси при 15°C в течение 1 ч смесь гасили насыщенным раствором тиосульфата натрия (200,00 мл) и экстрагировали этилацетатом (100,00 мл × 2). Органические фазы объединяли, промывали насыщенным солевым раствором (100,00 мл × 2), высушивали над безводным сульфатом натрия, концентрировали при пониженном давлении при 45°C с получением соединения 25-3.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ = 11,43 (s, 1H), 9,78 - 9,63 (m, 1H), 7,69 (s, 1H), 6,50 (s, 1H), 4,20 (t, J=6,1 Гц, 2H), 3,73 - 3,52 (m, 2H), 3,39 (s, 3H), 2,23 - 2,08 (m, 2H).

Стадия С.

Карбонат калия (26,77 г, 193,69 ммоль) и соединение 25-4 добавляли к раствору соединения 25-3 (28,20 г, 96,84 ммоль) в диметилформамиде (280,00 мл) при 15°C. Смесь перемешивали при 50°C в течение

2 ч. Смесь выливали в насыщенный водный раствор хлорида аммония (300,00 мл) и экстрагировали этилацетатом (200,300 мл ×2). Органическую фазу промывали насыщенным соевым раствором (100,00 мл ×2), высушивали над безводным сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении при 45°C с получением соединения 25-5.

Стадия D.

Трифторуксусную кислоту (229,01 г, 2,01 моль, 148,71 мл) добавляли к раствору соединения 25-5 (45,00 г, 91,34 ммоль) в дихлорметане (150,00 мл) при 0°C. Смесь перемешивали в течение 20 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении при 45°C. Неочищенный продукт растворяли в насыщенном растворе бикарбоната натрия (400,00 мл), экстрагировали этилацетатом (200,00 мл ×4). Органические фазы объединяли, промывали насыщенным соевым раствором (200,00 мл ×3), высушивали над безводным сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении при 45°C с получением соединения 25-6.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ = 8,91 (s, 1H), 7,80 (s, 1H), 6,59 (s, 1H), 4,69 (br d, J=10,6 Гц, 1H), 4,16 (dt, J=1,3, 6,2 Гц, 2H), 4,04 - 3,98 (m, 1H), 3,85 (br d, J=2,7 Гц, 1H), 3,53 (t, J=5,9 Гц, 2H), 3,29 (s, 3H), 2,13 - 2,02 (m, 2H), 1,05 (s, 9H).

Стадия E.

Соединение 25-7 (34,73 г, 134,40 ммоль) добавляли к раствору соединения 25-6 в толуоле (120,00 мл) при 15°C. После перемешивания смеси при 120°C в течение 12 ч дополнительно добавляли соединение 25-7 (9,98 г, 38,64 ммоль) и полученную смесь перемешивали при 120°C в течение еще 20 ч. Затем к реакционной смеси добавляли трифторуксусную кислоту (76,62 г, 672,00 ммоль, 49,76 мл) и реакционную смесь перемешивали при 40°C в течение 3 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении при 45°C, pH доводили до 9-10 с помощью насыщенного раствора карбоната натрия (300,00 мл) с последующим экстрагированием этилацетатом (200,00 мл ×2). Органические фазы объединяли, промывали насыщенным соевым раствором (200,00 мл ×1), высушивали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении при 45°C. Неочищенный продукт подвергли колоночной хроматографии на силикагеле (петролейный эфир/этилацетат = от 10/1 до 1/1) с получением соединения 25-8.

Стадия F.

Раствор соединения 25-8 (3,88 г, 7,37 ммоль) и 2,3,5,6-тетрахлор-1,4-бензохинона (2,18 г, 8,85 ммоль) в толуоле (20,00 мл) и диметиловом эфире гликоля (20,00 мл) нагревали до 70°C и перемешивали в течение 3 ч. Смесь выпаривали до сухого состояния при пониженном давлении при 45°C для удаления растворителя с последующим добавлением насыщенного водного раствора карбоната натрия (300,00 мл) и экстрагированием этилацетатом (100,00 мл ×3) для удаления кислотных примесей. Органические фазы объединяли, добавляли разбавленную хлористоводородную кислоту с концентрацией 2,00 моль/л (200,00 мл) и перемешивали в течение 1 ч. После отделения водной фазы значение pH доводили до 10 с помощью раствора гидроксида натрия с концентрацией 2,00 моль/л с последующим экстрагированием дихлорметаном (100,00 мл ×3). Органическую фазу промывали водой (150,00 мл ×1) и насыщенным соевым раствором (150,00 мл ×2), высушивали над безводным сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении при 45°C с получением соединения 25-9.

Стадия G.

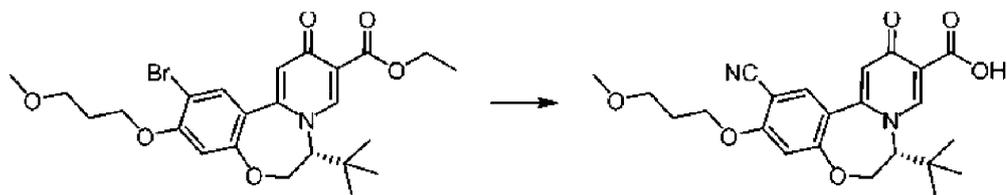
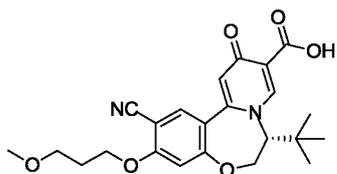
Раствор гидроксида натрия (494,58 мкл) с концентрацией 4,00 моль/л добавляли к раствору соединения 25-9 (60,00 мг, 116,74 мкмоль) в метаноле (1,00 мл) при 15°C. Смесь перемешивали при 15°C в течение 0,5 ч. Смесь концентрировали при пониженном давлении при 45°C. pH неочищенного продукта доводили до 6-7 с помощью раствора хлористоводородной кислоты с концентрацией 1,00 моль/л и затем концентрировали при пониженном давлении при 45°C. Полученный неочищенный продукт очищали с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (в присутствии хлористоводородной кислоты; колонка: Phenomenex Synergi C18 150×25×10 мкм; подвижная фаза: [вода (0,225% муравьиной кислоты)-ацетонитрил]; градиент элюирования: 40%-70%, 10 мин) с получением соединения по варианту осуществления 25.

Значение ee (энантиомерный избыток): 96,654%.

Способ SFC (сверхкритическая жидкостная хроматография): колонка: Chiral pak AD-3 100 мм ×4,6 мм внутренний диаметр, 3 мкм. Подвижная фаза: 5-40% метанол (0,05% диэтиламина) в диоксиде углерода. Скорость потока: 3 мл/мин. Длина волны: 220 нм.

¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD) δ = 8,63 (br s, 1H), 8,44 (s, 1H), 7,86 (br s, 1H), 6,73 (br s, 1H), 4,62 (br s, 3H), 4,20 (br s, 2H), 3,64 (t, J=6,1 Гц, 2H), 3,38 (s, 3H), 2,17 - 2,04 (m, 2H), 1,38 - 0,85 (m, 9H).

Вариант осуществления 26.



26-1

Вариант осуществления 26

Соединение 26-1 можно получать способом, относящимся к способу получения соединения 25-9. Стадия А.

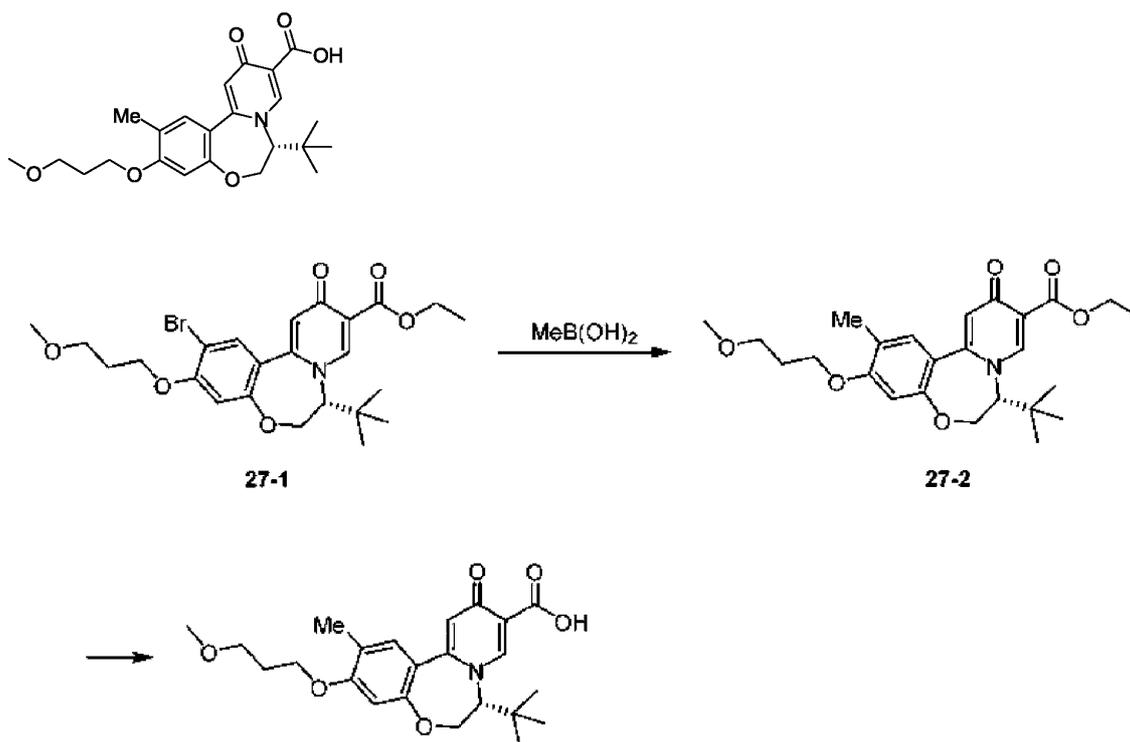
При 10°C цианид меди (I) (27,88 мг, 311,30 мкмоль, 68,00 мкл, 2,00 экв.) добавляли к раствору соединения 26-1 (80 мг, 155,65 мкмоль, 1,00 экв.) в N,N-диметилформамиде (2,00 мл). Смесь перемешивали при 140°C в течение 12 ч. Смесь промывали этилацетатом (20,00 мл) и 15% разбавленным водным раствором аммиака. Органическую фазу концентрировали при пониженном давлении и при 45°C. Неочищенный продукт очищали с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (в присутствии хлористоводородной кислоты; колонка: Phenomenex Synergi C18 150×25×10 мкм; подвижная фаза: [вода (0,05% хлористоводородная кислота)-ацетонитрил]; градиент элюирования: 45-65%, 7,8 мин) с получением соединения по варианту осуществления 26.

Значение ee (энантиомерный избыток): 100%.

Способ SFC (сверхкритическая жидкостная хроматография): колонка: Chiral pak AD-3 100 мм ×4,6 мм внутренний диаметр, 3 мкм. Подвижная фаза: 5-40% метанол (0,05% диэтиламина) в диоксиде углерода. Скорость потока: 3 мл/мин. Длина волны: 220 нм.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ = 9,07 - 8,18 (m, 1H), 7,74 (br s, 1H), 7,06 - 6,32 (m, 2H), 5,01 - 4,41 (m, 2H), 4,14 (br s, 3H), 3,53 (br s, 2H), 3,30 (s, 3H), 2,07 (br s, 2H), 1,30 -0,76 (m, 9H).

Вариант осуществления 27.



Вариант осуществления 27

Соединение 27-1 можно получать способом, относящимся к способу получения соединения 25-9. Стадия А.

Суспензию соединения 27-1 (100,00 мг, 194,56 мкмоль), метилбороновой кислоты (13,98 мг, 233,47 мкмоль), карбоната натрия (20,62 мг, 194,56 мкмоль) и комплекса бис(дифенилфосфино)ферроцен]дихлорпалладия с дихлорметаном (31,78 мг, 38,91 мкмоль) в диоксане (1,00 мл) и воде (0,20 мл) перемешивали при 80°C в течение 12 ч в атмосфере азота. Смесь фильтровали и фильтрат экстрагировали этилацетатом (10,00 мл ×3). Органическую фазу промывали насыщенным солевым раствором (20,00 мл ×1) и концентрировали при 45°C при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали с помощью препаративной тонкослойной хроматографии (силикагель, дихлорметан: метанол = 15:1) с получением соединения 27-2.

Стадия В.

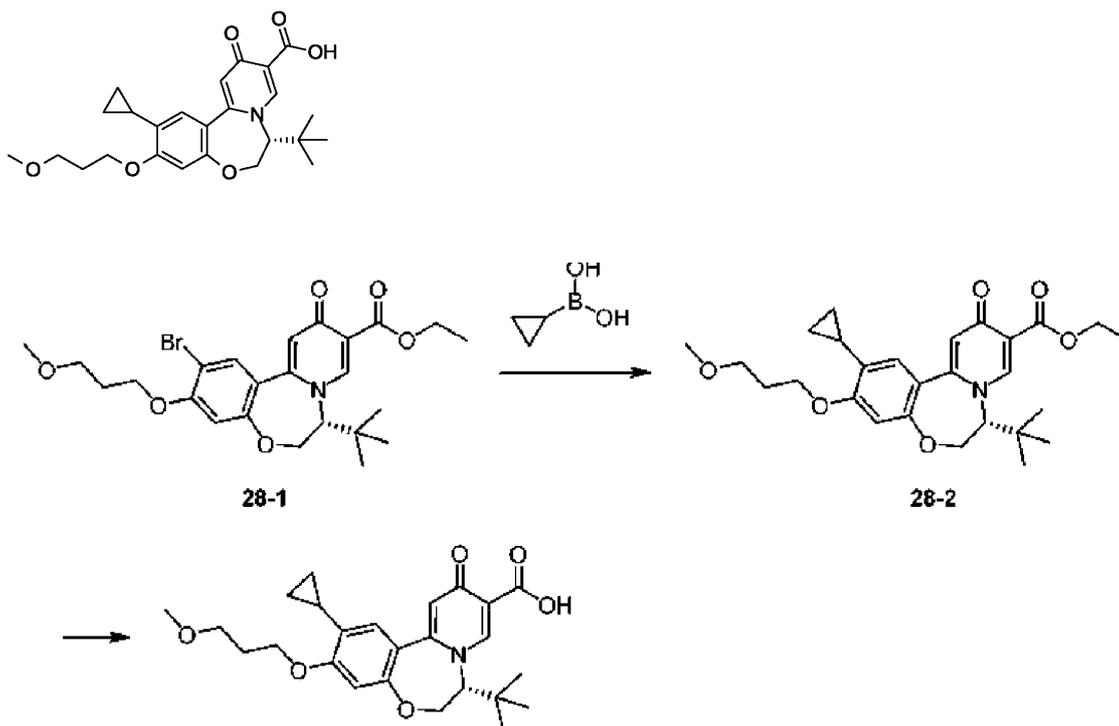
Раствор гидроксида натрия (4,00 М, 443,78 мкл) с концентрацией 4,00 моль/л добавляли к раствору соединения 27-2 (55,00 мг, 110,06 мкмоль) в метаноле (2,00 мл) при 15°C. Смесь перемешивали при 15°C в течение 0,5 ч. Смесь концентрировали при пониженном давлении при 45°C. pH неочищенного продукта доводили до 6-7 с помощью раствора хлористоводородной кислоты с концентрацией 1 моль/л и затем концентрировали при пониженном давлении при 45°C. Неочищенный продукт очищали с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (в присутствии муравьиной кислоты; колонка: Phenomenex Synergi C18 150×25×10 мкм; подвижная фаза: [вода (0,225% хлористоводородная кислота)-ацетонитрил]; градиент элюирования: 40-70%, 10 мин) с получением соединения по варианту осуществления 27.

Значение ee (энантиомерный избыток): 96,852%.

Способ SFC (сверхкритическая жидкостная хроматография): колонка: Chiral pak AD-3 100 мм ×4,6 мм внутренний диаметр, 3 мкм. Подвижная фаза: 5-40% метанол (0,05% диэтиламина) в диоксиде углерода. Скорость потока: 3 мл/мин. Длина волны: 220 нм.

¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD) δ = 8,73 (br s, 1H), 7,48 (s, 1H), 7,20 (s, 1H), 6,63 (s, 1H), 4,82 (br s, 1H), 4,70 - 4,54 (m, 2H), 4,15 (br s, 2H), 3,62 (t, J=6,1 Гц, 2H), 3,38 (s, 3H), 2,23 (s, 3H), 2,10 (квин., J=6,1 Гц, 2H), 1,22 - 0,83 (m, 9H).

Вариант осуществления 28.



Соединение 28-1 можно получать способом, относящимся к способу получения соединения 25-9.

Стадия А.

Суспензию соединения 28-1 (100,00 мг, 194,56 мкмоль), циклопропилбороновой кислоты (33,42 мг, 389,12 мкмоль), фосфата калия (123,90 мг, 583,68 мкмоль), ацетата палладия (218,40 мкг, 9,73e-1 мкмоль) и бис(1-адамantanил)бутилфосфана (697,58 мкг, 1,95 мкмоль) в толуоле (2,50 мл) и воде (1,00 мл) перемешивали при 90°C в течение 12 ч в атмосфере азота. Смесь разбавляли этилацетатом (20,00 мл) и фильтровали через диатомовую землю с последующим добавлением 20,00 мл воды. Органическую фазу отделяли и концентрировали при пониженном давлении при 45°C. Неочищенный продукт очищали с помощью препаративной тонкослойной хроматографии (силикагель, дихлорметан: метанол = 20:1) с получением соединения 28-2.

Стадия В.

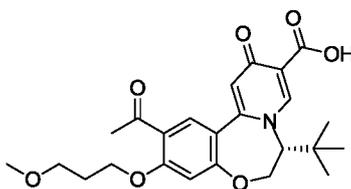
Раствор гидроксида натрия (4,00 М, 516,43 мкл) с концентрацией 4,00 моль/л добавляли к раствору соединения 28-2 (55,00 мг, 103,29 мкмоль) в метаноле (2,00 мл) при 15°C. Смесь перемешивали при 15°C в течение 0,5 ч. pH смеси доводили до 6-7 с помощью раствора хлористоводородной кислоты с концентрацией 1,00 моль/л, и смесь концентрировали при пониженном давлении при 45°C. Неочищенный продукт очищали с помощью колоночной хроматографии с обращенной фазой (в присутствии муравьиной кислоты; от 5% ацетонитрила/воды до 40% ацетонитрила/воды) с получением соединения по варианту осуществления 28.

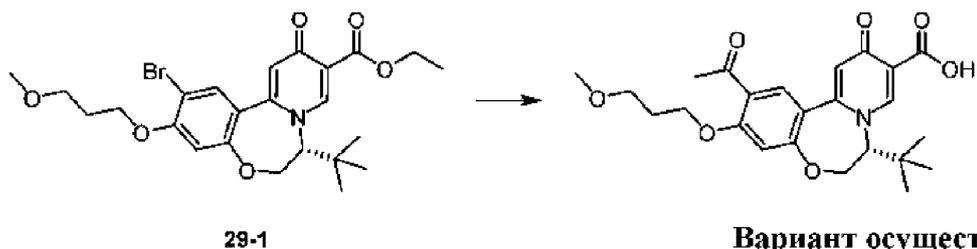
Значение ee (энантиомерный избыток): 99,202%.

Способ SFC (сверхкритическая жидкостная хроматография): колонка: Chiral pak AD-3 100 мм × 4,6 мм внутренний диаметр, 3 мкм. Подвижная фаза: 5-40% метанол (0,05% диэтиламина) в диоксиде углерода. Скорость потока: 3 мл/мин. Длина волны: 220 нм.

¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD) δ = 8,72 - 8,49 (m, 1H), 7,15 (s, 1H), 7,00 (br s, 1H), 6,89 - 6,47 (m, 1H), 4,62 (s, 3H), 4,16 (br s, 2H), 3,65 (t, J=6,2 Гц, 2H), 3,38 (s, 3H), 2,16 - 2,00 (m, 2H), 1,33 - 1,18 (m, 2H), 1,01 - 0,88 (m, 9H), 0,77 - 0,62 (m, 2H).

Вариант осуществления 29.





Соединение 29-1 можно получать способом, относящимся к способу получения соединения 25-9. Стадия А.

Раствор соединения 29-1 (200,00 мг, 389,12 мкмоль), трибутил(1-этоксивинил)станнана (0,29 г, 802,99 мкмоль, 271,03 мкл) и дихлорида бис(трифенилфосфин)палладия (10,92 мг, 15,56 мкмоль) в диоксане (2,00 мл) продували газообразным азотом три раза. Смесь перемешивали при 90°C в течение 12 ч и концентрировали при пониженном давлении при 45°C с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали с помощью колоночной хроматографии с обращенной фазой (в присутствии хлористоводородной кислоты, 5% ацетонитрила/воды (0,05% хлористоводородной кислоты) = от 5% до 60%) и затем очищали с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (в присутствии основания; колонка: Phenomenex Gemini 150×25 мм ×10 мкм; подвижная фаза: [вода (0,05% аммиака)-ацетонитрил]; градиент элюирования: 11%-38%, 12 мин.) с получением соединения по варианту осуществления 29.

Значение ее (энантиомерный избыток): 92,56%.

Способ SFC (сверхкритическая жидкостная хроматография): колонка: Chiral pak AD-3 100 мм ×4,6 мм внутренний диаметр, 3 мкм. Подвижная фаза: 5-40% метанол (0,05% диэтиламина) в диоксиде углерода. Скорость потока: 3 мл/мин. Длина волны: 220 нм.

¹H ЯМР (400 МГц, CD₃CD) δ = 8,59 (br s, 1H), 8,16 (s, 1H), 7,14 (br s, 1H), 6,77 (s, 1H), 5,04 - 4,95 (m, 1H), 4,76 - 4,51 (m, 2H), 4,35 - 4,22 (m, 2H), 3,63 (t, J=6,1 Гц, 2H), 3,38 (s, 3H), 2,64 (s, 3H), 2,17 (квин., J=6,1 Гц, 2H), 1,02 (s, 9H).

Экспериментальный вариант осуществления 1: тест HBV in vitro

1. Цель эксперимента.

Содержание ДНК HBV в супернатанте культуры клеток HepG2.2.15 определяли с помощью количественного qPCR-анализа в реальном времени (qPCR в реальном времени), а содержание поверхностного антигена HBV определяли с помощью твердофазного иммуоферментного анализа (ELISA). Ингибирующий эффект соединения на HBV оценивали по значению EC₅₀ соединения.

2. Экспериментальные материалы.

2.1 Клеточная линия: клетки HepG2.2.15.

Среда для культивирования клеток HepG2.2.15 (DMEM/F12, Invitrogen-11330032; 10% сыворотка, Invitrogen-10099141; 100 ед./мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина, Hyclone-SV30010; 1% заменимых аминокислот, Invitrogen-11140050; 2 mM Z-глутамин, Invitrogen-25030081; 300 мкг/мл генетицина, Invitrogen-10131027).

2.2 Реагенты.

Трипсин (Invitrogen-25300062);

DPBS(Corning-21031CVR);

DMSO(Sigma-D2650-100 мл).

Набор для очистки ДНК с высокой пропускной способностью (QIAamp 96 DNA Blood Kit, Qiagen-51162).

Универсальный реагент для зонда FastStart для количественного определения (FastStart Universal Probe Master, Roche-04914058001).

Набор для количественного определения поверхностного антигена вируса гепатита В (Autobio Diagnostics Co., Ltd., CL 0310).

2.3 Расходные материалы и оборудование.

96-луночный планшет для культивирования клеток (Corning-3599).

CO₂-инкубатор (HERA-CELL-240).

Оптически прозрачная герметизирующая мембрана (ABI-4311971).

96-луночный планшет для количественной ПЦР (Applied Biosystems-4306737).

Система для количественной ПЦР с флуоресцентной детекцией (система для ПЦР в режиме реального времени Applied Biosystems-7500).

3. Экспериментальные процедуры и способы.

3.1 Клетки HepG2.2.15 (4×10⁴ клеток/луночка) высевали в 96-луночный планшет и инкубировали в течение ночи при 37°C в атмосфере с 5% CO₂.

3.2 На 2-й день соединение разбавляли до 8 концентраций с 3-кратным градиентом. Соединения с

различными концентрациями добавляли в лунки с культурой в двух повторностях. Конечная концентрация DMSO в культуральной среде составляла 0,5%. 10 мкМ ETV применяли в качестве контроля со 100% ингибированием, и 0,5% DMSO применяли в качестве контроля с 0% ингибированием.

3.3 На 5-й день культуральную среду заменяли свежей средой, содержащей соединение.

3.4 На 8-й день культуральную среду в лунке с культурой собирали и часть образца отбирали для ELIS A для определения содержания антигена S вируса гепатита В, часть образца отбирали для экстрагирования ДНК с помощью набора для очистки ДНК с высокой пропускной способностью (Qiagen-51162).

3.5 Получение реакционного раствора для ПЦР показано в табл.1.

Таблица 1. Получение реакционного раствора для ПЦР

Элемент	Объем для получения 1 лунки (мкл)	Объем для получения 80 лунок (мкл)
Универсальный реагент для зонда FastStart для количественного определения	12,5	1000
Прямой праймер (10 мкмоль)	1	80
Обратный праймер (10 мкмоль)	1	80
Зонд (10 мкмоль)	0,5	40

Последовательность прямого праймера: GTGTCTGCGGCGTTTTATCA.

Последовательность обратного праймера: GACAAACGGGCAACATACCTT.

Последовательность зонда:

5'+FAM+CCTCTKCATCCTGCTGCTATGCCTCATC+TAMRA-3'.

3.6 15 мкл реакционной смеси добавляли в каждую лунку 96-луночного планшета для ПЦР с последующим добавлением в каждую лунку 10 мкл ДНК образца или стандартных ДНК HBV.

3.7 Условия реакции ПЦР нагревание при 95°C в течение 10 мин; затем денатурация при 95°C в течение 15 с, удлинение при 60°C в течение 1 мин, всего 40 циклов.

3.8 Определение содержания антигена S вируса гепатита В с помощью ELISA.

50 мкл образца и стандартного образца отбирали и добавляли в реакционный планшет, соответственно, с последующим добавлением 50 мкл конъюгата фермента в каждую лунку, смесь встряхивали, тщательно перемешивали и помещали на баню при 37°C на 60 мин. Затем планшет 5 раз промывали промыочным раствором с последующим добавлением в каждую лунку 50 мкл светящегося субстрата, смесь тщательно перемешивали и обеспечивали протекание реакции при комнатной температуре в течение 10 мин в темноте. Интенсивность хемилюминесценции определяли с помощью ELISA.

3.9 Анализ данных.

Расчет процента ингибирования:

$$\% \text{ инг.} = (1 - \text{значение образца/значение контроля DMSO}) \times 100$$

Расчет EC₅₀: значение 50% ингибирующей концентрации (EC₅₀) соединения в отношении HBV рассчитывали с помощью программного обеспечения GraphPad Prism.

4. Результаты эксперимента показаны в табл.2 и табл.3.

Таблица 2. Результаты эксперимента в отношении ДНК HBV

Вариант осуществления	EC₅₀ (нМ)	Вариант осуществления	EC₅₀ (нМ)
1	44,68	16	11,41
2	8,75	17	4,77
3	104,7	18	34,73
4	11,15	19	11,73
5	21,46	20	44,97
6	2,55	21	23,20
7	35,31	22	11,16
8	22,21	23	24,07
9	16,23	24	0,457
10	3,668	25	<0,457
11	14,25	26	2,187
12	19,09	27	1,103
13	24,07	28	0,508
14	23,43	29	0,507
15	8,66		

Заключение: соединения по настоящему изобретению эффективны для ингибирования ДНК HBV in vitro.

Таблица 3. Результаты эксперимента в отношении HBsAg

Вариант осуществления	EC₅₀ (нМ)	Вариант осуществления	EC₅₀ (нМ)
1	47,22	16	9,73

2	6,59	17	5,05
3	66,2	18	34,78
4	65,77	19	8,155
5	28,82	20	41,90
6	3,88	21	25,94
7	59,77	22	11,36
8	18,03	23	33,59
9	22,37	24	0,743
10	5,047	25	0,769
11	15,51	26	3,327
12	25,5	27	2,507
13	43,93	28	0,718
14	22,75	29	1,342
15	10,4		

Заключение: соединения по настоящему изобретению эффективны для ингибирования поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg).

Экспериментальный вариант осуществления 2:
исследование степени связывания белка в плазме крови

Определяли степень связывания белка по варианту осуществления 6 в плазме крови человека, мыши линии CD-1 и крысы линии SD. Отбирали 796 мкл контрольных образцов плазмы крови у человека и мышей линии CD-1, а также крыс линии SD и добавляли 4 мкл рабочего раствора тестируемого соединения (400 мкМ) или рабочего раствора варфарина (400 мкМ) с достижением конечной концентрации тестируемого соединения и варфарина в образцах плазмы крови, составляющей 2 мкМ. Образцы тщательно смешивали. Конечная концентрация органической фазы DMSO составляла 0,5%. Переносили 50 мкл образцов с тестируемым соединением и варфарином в плазме крови в планшеты для приема образцов (три параллели) и немедленно добавляли относительный объем соответствующих контрольных образцов плазмы крови или буфера с обеспечением того, чтобы конечный объем каждого образца в лунке составлял 100 мкл, и объемное соотношение плазмы крови и буфера для диализа составляло 1:1. К данным образцам добавляли 400 мкл останавливающего раствора, который применяли в качестве образца T₀ для определения извлечения и стабильности. Образец T₀ хранили при 2-8°C, ожидая последующей обработки с другими диализированными образцами. 150 мкл образцов с тестируемым соединением и варфарином в плазме крови добавляли в часть каждой лунки для диализа, предназначенную для доставки лекарственного средства и 150 мкл контрольного буфера для диализа добавляли в принимающую часть лунки для диализа.

за. Планшет для диализа затем накрывали газопроницаемой мембраной, помещали в инкубатор с увлажненной атмосферой с 5% CO₂ и инкубировали при 37°C при встряхивании при приблизительно 100 об/мин в течение 4 ч. После завершения диализа 50 мкл диализированного образца буфера и диализированного образца плазмы крови вносили пипеткой в новый планшет для приема образцов. Относительный объем соответствующих контрольных образцов плазмы крови или буфера добавляли к образцу с обеспечением того, чтобы конечный объем каждого образца в лунке составлял 100 мкл, и объемное соотношение плазмы крови и буфера для диализа составляло 1:1. Все образцы подвергали процедуре осаждения белка с последующим LC/MS/MS-анализом. Степень связывания белка и степень извлечения рассчитывали с помощью формул:

% степени диссоциации белка (%) = 100 x концентрация лекарственного средства, прошедшего через диализную мембрану/концентрация лекарственного средства, не прошедшего через диализную мембрану;

степень связывания белка (%) = 100 - % степень диссоциации белка;

% извлечения = 100 x (концентрация лекарственного средства, прошедшего через диализную мембрану + концентрация лекарственного средства, не прошедшего через диализную мембрану)/общая концентрация лекарственного средства до диализа.

Рассчитывали степень связывания белка и степень извлечения.

Результаты эксперимента.

Степень связывания белка по варианту осуществления 6 в плазме крови человека, мыши линии CD-1 и крысы линии SD составляла 55,7, 50,2 и 59,4% соответственно.

Заключение: соединение по настоящему изобретению имеет умеренную степень связывания с белками плазмы крови, и большая часть лекарственного средства не связывается с белками, тем самым проявляя более высокое содержание в плазме крови.

Экспериментальный вариант осуществления 3:

исследование ингибирования изофермента цитохрома P450

Определяли ингибирующий эффект тестируемого соединения на различные подтипы изофермента цитохрома P450 человека. Получали рабочие растворы тестируемого соединения, стандартного ингибитора (100 × конечная концентрация) и смешанного субстрата. Размораживали микросомы, замороженные в холодильнике при -80°C. 2 мкл тестируемого соединения и раствора стандартного ингибитора добавляли в соответствующие лунки, в то время как 2 мкл соответствующего растворителя добавляли в контрольную лунку без ингибитора (NIC) и холостую контрольную лунку (пустую). 20 мкл смешанного раствора субстрата добавляли в соответствующие лунки, за исключением пустой лунки (20 мкл РВ добавляли в пустую лунку). Получали раствор микросом печени человека (после использования его немедленно помещали в холодильник и отмечали дату) и во все лунки немедленно добавляли 158 мкл раствора микросом печени человека. Планшет с образцами предварительно инкубировали на водяной бане при 37°C, во время чего немедленно получали раствор кофермента (NADPH). Через 10 мин во все лунки добавляли 20 мкл раствора кофермента (NADPH). После равномерного встряхивания планшета с образцами его инкубировали на водяной бане при 37°C в течение 10 мин. Добавляли 400 мкл холодного раствора ацетонитрила (внутренний стандарт представлял собой 200 нг/мл толбутамида и лабеталола) для остановки реакции в соответствующее время. После тщательного перемешивания планшета с образцами его центрифугировали при 4000 об/мин в течение 20 мин для осаждения белка. 200 мкл супернатанта собирали и добавляли к 100 мкл воды и подвергали измерению посредством LC/MS/MS после равномерного встряхивания.

Результаты эксперимента показаны в табл. 4.

Заключение: тестируемые соединения не имеют ингибирующего эффекта на фермент CYP.

Таблица 4. Результаты эксперимента в отношении ингибирования изофермента цитохрома P450

Соединение	IC ₅₀ (мкМ)				
	CYP1A2	CYP2C9	CYP2C19	CYP2D6	CYP3A4-M
Вариант осуществления 6	>50	>50	>50	>50	>50

Экспериментальный вариант осуществления 4: стабильность микросомального метаболизма

Цель эксперимента. Определяли стабильность микросомального метаболизма тестируемого соединения (вариант осуществления 6) у трех видов.

Экспериментальные процедуры. 1 мкМ тестируемого соединения и микросом (0,5 мг/мл), дополненных системой восстановления NADPH, инкубировали при 37°C. Положительные контроли представ-

ляли собой тестостерон (субстрат 3A4), пропafenон (субстрат 2D6) и диклофенак (субстрат 2C9) соответственно. Положительный контроль и микросомы (0,5 мг/мл), дополненные системой восстановления NADPH, инкубировали при 37°C. Образцы в разные моменты времени (0, 5, 10, 20, 30 и 60 мин) смешивали непосредственно с холодным ацетонитрилом, содержащим внутренний стандарт, для остановки реакции. Соединение и микросомы инкубировали в течение 60 мин без системы восстановления NADPH. Одну параллель устанавливали в каждый момент времени (n=1). Образцы анализировали с помощью LC/MS/MS. Концентрацию соединения обозначали соотношением площади пика анализируемого вещества и площади пика внутреннего стандарта.

Результаты эксперимента. Оставшееся соотношение соединения по настоящему изобретению в микросомах печени крысы, человека и мыши при T=60 мин составляло 113,0, 109,1 и 102,5% соответственно.

Заключение эксперимента: соединение по настоящему изобретению имеет хорошую стабильность у всех трех видов: крыс, людей и мышей.

Экспериментальный вариант осуществления 5: фармакокинетическое исследование однократной дозы на мышах/крысах

Цель эксперимента.

Самцов мышей линии C57BL/6 или крыс линии SD использовали в качестве тестируемых животных, и концентрации лекарственного средства в плазме крови, печени и спинномозговой жидкости определяли после введения однократной дозы и оценивали фармакокинетическое поведение.

Экспериментальные процедуры.

Отбирали здоровых взрослых самцов мышей линии C57BL/6 или крыс линии SD и лекарственное средство вводили внутривенно. Соединение-кандидат смешивали с соответствующим количеством 5% DMSO/95% (10% гидроксипропил-β-циклодекстрина), перемешивали вихревым способом и подвергали воздействию ультразвука с получением прозрачного раствора с концентрацией 0,2 мг/мл для применения. После перорального введения мышам дозы 2 мг/кг цельную кровь собирали в течение определенного периода времени для получения плазмы крови и собирали печеночную и спинномозговую жидкости. После предварительной обработки образца концентрацию лекарственного средства анализировали способом LC-MS/MS. Программное обеспечение Phoenix WinNonlin применяли для расчета фармакокинетических параметров.

Результаты эксперимента: табл. 5.

Заключение эксперимента: тестируемое соединение по варианту осуществления 5 имеет хорошую AUC_{0-посл.} и биодоступность как у мышей, так и у крыс.

Таблица 5. Результаты эксперимента в отношении фармакокинетики тестируемого соединения на мышах и крысах

Вариант осуществления 6 (IV: 1 мг/кг PO: 2 мг/кг)	Мышь	Крыса
Уровень клиренса (мл/мин./кг)	75,0	28,1
Кажущийся объем распределения (л/кг)	5,79	1,72
AUC _{0-посл.} (внутривенная инъекция,	502	1365

нМ, ч.)		
AUC _{0-посл.} (перорально, нМ, ч.)	876	1832
Период полувыведения (ч.)	2,46	1,98
Наивысшая концентрация (нМ)	1055	659
Биодоступность (%)	91,6	71,1

Экспериментальный вариант осуществления б: фармакодинамическое исследование *in vivo* гидродинамической инъекции в хвостовую вену на мышинной модели HBV (HDI-HBV)

Цель эксперимента.

Активность соединения против вируса гепатита В по варианту осуществления оценивали *in vivo* с помощью мышинной модели HDI.

Экспериментальные материалы: мыши линии Balb/c, 10% HP-β-CD в качестве среды-носителя, тестируемое соединение, RG7834, ETV (энтекавир), плаزمида pAAV2-HBV1,3mer (экстрагированная с помощью набора Qiagen EndoFree Plasmid Giga), основные реагенты, включая набор QIAamp96 DNA и FastStart Universal Probe Mast (ROX). Основные инструменты, которые применяли в данном эксперименте, включали центрифугу (Beckman Allegra X-15R), измельчитель тканей (QIAGEN-Tissue luser II) и спектрофотометр (Thermo-NANODROP 1000).

Экспериментальные способы.

а) Схема эксперимента показана в табл. 6 ниже.

Таблица 6. Схема эксперимента *in vivo*

Группа	Количество животных	Соединение	Доза (мг/кг)	Объем дозы (мл/кг)	Режим дозирования	Время сбора крови
1	5	Контрольный образец	/	10	Зонд для перорального введения, с 1-го по 7-й день, один раз в день	4 часа после введения в 1-й день, 3-й день, 5-й день и 7-й день
2		RG7834	30			
3		Вариант осуществления 6	30			
4		Энтекавир	0,1			

б) В день 0 всех мышей подвергали гидродинамической инъекции раствора плазмидной ДНК HBV в хвостовую вену. Плазмидную ДНК перед инъекцией предварительно обрабатывали стерильным физиологическим раствором и хранили при 4°C до применения. Раствор плазмидной ДНК вводили в хвостовую вену при дозе 8% от веса тела мыши в течение 5 с.

с) С 1-го по 7-й день мышам ежедневно вводили соединение или растворитель с помощью зонда для перорального введения в течение 7 дней. Конкретные способы введения показаны в табл.15-16.

д) В 1-й, 3-й и 5-й день кровь собирали из подчелюстной вены мышей и в качестве антикоагулянта

применяли гепарин натрия. Образец крови центрифугировали при 7000×g при 4°C для получения плазмы крови для определения ДНК HBV.

е) На 7-й день всех мышей умерщвляли с помощью CO₂. Кровь собирали из сердца для получения плазмы крови, и собирали ткань печени. Выделяли две левые доли печени, вес которых составлял 70-100 мг, и замораживали их жидким азотом немедленно после сбора. Одну из долей печени применяли для выявления ДНК HBV, а другую применяли в качестве резервной.

ф) Все образцы плазмы крови и образцы печени хранили в холодильнике при -80°C перед отправкой на анализ.

Обработка образца. Содержание HBsAg в сыворотке крови мышей определяли с помощью ELISA (твердофазный иммуноферментный анализ). Экспериментальная процедура относится к описанию набора HBsAg ELISA.

Результаты эксперимента. Ингибирующую активность тестируемого соединения в отношении репликации HBV на мышинной модели HDI определяли посредством измерения содержания HBsAg в плазме крови мышей. Содержание HBsAg в плазме крови мышей при различном времени дозирования показано в табл. 7 и на фиг. 1.

Таблица 7. Содержание HBsAg в плазме крови мышей после дозирования в различные дни

Группа	Время дозирования	Log HBsAg (МЕ/мл) (среднее значение)
1 Контрольный образец QD	1	3,57
	3	4,30
	5	4,20
	7	2,22
2	1	3,75
RG7834 30 мг/кг QD	3	4,08
	5	3,59
	7	1,10
3 Вариант осуществления 6 30 мг/кг QD	1	3,86
	3	4,09
	5	3,27
	7	1,07
4 Энтекавир 0,1 мг/кг QD	1	3,66
	3	4,32
	5	4,01
	7	2,46

Заключение: исходя из данных о содержании HBsAg на 5-й день, соединение по варианту осуществления 6 демонстрирует лучший эффект в снижении уровня поверхностного антигена, чем RG7834 и энтекавир в той же дозе, проявляя лучшую эффективность.

Экспериментальный вариант осуществления 7: активность против HBV на мышинной модели вируса гепатита В (AAV-HBV), опосредованная рекомбинантными векторами на основе аденоассоциированного вируса типа 8

Цель эксперимента.

Опосредованная вектором на основе AAV инфицированная HBV мышинная модель представляет собой быструю и эффективную модель HBV. Применяя высокий гепатотропизм вектора на основе AAV, рекомбинантный аденоассоциированный вирус типа 8, несущий 1,3 копии генома HBV (rAAV8-1,3HBV), вводили в хвостовую вену мышей, которые способны эффективно вводить переносимую 1,3-копию генома HBV в геном гепатоцитов. Из-за характеристик вирусного вектора на основе AAV опосредованный им вектор способен экспрессироваться в течение длительного времени. Модель AAV/HBV способна непрерывно реплицировать ДНК HBV и экспрессировать HBsAg и HBeAg в печени мышей.

Эффективность тестируемого соединения против HBV *in vivo* оценивали на мышинной модели AAV/HBV посредством определения содержания HBsAg в сыворотке крови мышей после обработки тестируемым соединением.

Экспериментальные материалы: мыши линии C57BL/6, 10% HP-β-CD в качестве среды-носителя, эталонное соединение TDF (тенофовир), тестируемое соединение, рекомбинантный вирус rAAV8-1,3HBV, основные реагенты для проведения эксперимента, включая набор QIAamp96 DNA и универсальную смесь для ПЦР TaqMan®, набор для выявления поверхностного антигена вируса гепатита В, инструменты, включая: центрифугу (Beckman Allegra X-15R), измельчитель тканей (QIAGEN-Tissue lysis II) и спектрофотометр (Thermo-NANODROP 1000).

Экспериментальные процедуры.

а) Всем мышам осуществляли пероральное введение на 28-й день после инъекции вируса, и этот день был установлен как день 0. Подчелюстную кровь у всех мышей собирали для сбора сыворотки крови перед введением. Мышам осуществляли введение один раз в день в течение четырех недель. Конкретный режим дозирования показан в таблице 8.

б) Подчелюстную кровь у всех мышей собирали для сбора сыворотки крови два раза в неделю, объем крови, собираемый каждый раз, составлял приблизительно 100 мкл. Конкретное время сбора крови показано в табл.8.

в) На 28-й день всех мышей умерщвляли и кровь собирали из сердца для сбора сыворотки крови.

д) Все образцы сыворотки крови отправляли на анализ.

Таблица 8. Схема эксперимента in vivo

Группа	Кол- ичество мышей	Схема дозирования				Режим сбора сыворотки крови
		Соединение	Доза (мг/кг)	Объем дозы (мл/кг)	Режим дозирования	
1	5	Среда-носитель	/	10	28-й день после инъекции вируса был установлен как день 0. Введение один раз в день в течение четырех	28-й день после инъекции вируса был установлен как день 0. Кровь собирали два раза в неделю и объем крови, собираемый каждый раз, составлял приблизительно
2	5	Тенофовир	1			
3	5	RG7834	10			
4	5	Вариант осуществлен	3			
5	5	Вариант осуществлен	10			
6	5	Вариант осуществлен ия 6	30			
7	5	Вариант осуществлен ия 6 + TDF	(10 мг/кг + 1 мг/кг)	недель, то есть каждый период введения составлял от 0-го дня до 27-го дня.	100 мкл. Кровь собирали на 3-й день, 7-й день, 10-й день, 14-й день, 17-й день, 21-й день, 24-й день, 28-й день.	

Анализ образца.

Содержание HBsAg в сыворотке крови мышей определяли с помощью ELISA. Экспериментальная процедура относится к описанию набора HBsAg ELISA.

Результаты эксперимента.

а) Активность тестируемого соединения против HBV на мышинной модели AAV/HBV оценивали посредством определения содержания HBsAg в плазме крови мышей. Результаты показаны в табл.9 и на фиг. 2.

Таблица 9. Содержание HBsAg в плазме крови мышей после введения в различные дни (МЕ/мл)

Дата (день)	Контроль (образец (PO, QD))	TDF (1 мг/кг, PO, QD)	RG78 (34 (10 мг/кг, PO))	Вариант осуществления б (3 мг/кг, PO)	Вариант осуществления б (10 мг/кг, PO)	Вариант осуществления б (30 мг/кг, PO)	Вариант осуществления б (10 мг/кг, PO) + TDF (1 мг/кг, PO, QD)
-1	4,54	4,59	4,56	4,54	4,51	4,48	4,48
4	4,27	4,56	3,54	3,68	3,56	3,38	3,62
7	4,46	4,59	3,58	3,70	3,69	3,44	3,76
11	4,52	4,66	3,70	3,76	3,92	3,64	3,82
14	4,41	4,50	3,49	3,70	3,61	3,40	3,59
18	4,56	4,61	3,70	3,85	3,90	3,55	3,61
21	4,58	4,52	3,52	3,78	3,75	3,46	3,58
25	4,52	4,33	3,50	3,76	3,83	3,37	3,50
28	4,34	4,34	3,66	3,96	3,87	3,53	3,76

б) Изменения веса тела мышей показаны на фиг. 3.

Заключение эксперимента: в данном эксперименте тестируемое соединение варианта осуществления б было способно существенно снизить содержание HBsAg на мышинной модели AAV/HBV и проявляло определенное соотношение доза-эффект. В течение курса обработки по варианту осуществления б мыши демонстрировали хорошую переносимость, и изменения веса тела были лучше, чем во время обработки с помощью RG7834.

Экспериментальный вариант осуществления 8: 14-дневный тест на токсикологическую переносимость на крысах

В данном эксперименте тестируемое соединение RG7834 и соединение по варианту осуществления б вводили внутривенно один раз в день в течение 14 последовательных дней для теста потенциальной токсичности. Схема эксперимента показана в табл.10.

Таблица 10. Экспериментальная схема группы и дозировки

Группа	Количество животных (пол)	Тестируемое соединение	Доза (мг/кг)	Объем (мл/кг)	Концентрация (мг/мл)	Растворитель
1	3 (самцы)	Растворитель	0	10	0	0,5% гидрокси пропилметилцеллюлозы/0,2% Tween 80, растворенный в воде, pH 8-9
2	3 (самцы)	RG7834	100	10	10	
3	3 (самцы)	RG7834	300	10	30	
4	3 (самцы)	RG7834	1000	10	100	
5	3 (самцы)	Вариант осуществления б	100	10	10	
6	3 (самцы)	Вариант осуществления б	300	10	30	
7	3 (самцы)	Вариант осуществления б	1000	10	100	

Всего 21 животное в данном эксперименте было произвольным образом разделено на 7 групп. Животным перорально вводили тестируемые соединения один раз в день в течение 14 последовательных дней и оценивали токсичность. Проводили вскрытие животных, и ткани животных отбирали с фиксатором, восстанавливали, обезвоживали, заключали, делали срезы, окрашивали и исследовали под микроскопом. Эти ткани включали ткани печени, сердца и легких всех животных, а также селезенки, желудка, двенадцатиперстной кишки, тощей кишки, подвздошной кишки и почки некоторых животных.

Результаты эксперимента.

RG7834. Только сердце, печень и легкие исследовали в группах со средней и низкой дозами, и никаких гистопатологических изменений, связанных с тестируемым соединением, не наблюдалось. Группа с высокой дозой показала, что гистопатологические изменения, связанные с тестируемым соединением, проявляются как незначительная миокардиальная дегенерация в сердце, незначительная дегенерация клеток печени в центральной части небольших долей печени, незначительное снижение количества лимфоцитов белой пульпы в селезенке и умеренное острое воспаление слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки.

Вариант осуществления б.

Только сердце, печень и легкие исследовали в группах со средней и низкой дозой, и никаких гистопатологических изменений, связанных с тестируемым соединением, не наблюдалось. Группа с высокой дозой показала, что гистопатологические изменения, связанные с тестируемым соединением, проявляются как небольшое или незначительное снижение количества лимфоцитов белой пульпы в селезенке.

Заключение эксперимента: из результатов эксперимента видно, что вариант осуществления б имеет более высокий уровень безопасности, чем RG7834.

Экспериментальный вариант осуществления 9:

тест однократной дозы на нейротоксичность на крысах

Цель эксперимента. В данном эксперименте крысам линии SD внутрижелудочно вводили RG7834 и соединение по варианту осуществления 6 в однократной дозе, и потенциальную нейроповеденческую токсичность для крыс линии SD оценивали посредством комбинированного теста функционального наблюдения (FOB).

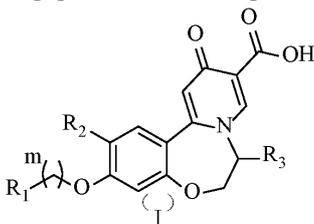
Экспериментальные материалы и процедуры. Всего в данном эксперименте использовали 25 самцов крыс линии SD. В начале введения возраст животных составлял приблизительно от 7 до 8 недель, самцы весили от 225,50 до 285,70 г, а самки весили от 177,68 до 219,89 г. Животным в группе обработки тестируемым соединением внутрижелудочно вводили 300 или 1000 мг/кг RG7834 и 300 или 1000 мг/кг соединения по варианту осуществления 6, растворенного в растворителе: 0,5% (вес./об.) гидроксипропилметилцеллюлозы/0,2% (об./об.) очищенного водного раствора Tween 80 (pH 8,0-9,0). Животным в контрольной группе вводили растворитель. Всем животным осуществляли введение в объеме 10 мл/кг и всех животных подвергали тесту FOB.

Результаты эксперимента. Крысам линии SD внутрижелудочно вводили RG7834 и соединение по варианту осуществления 6 в однократной дозе 0, 300, 1000 мг/кг. Через 24 ч после введения у самцов животных, которым вводили 1000 мг/кг и 300 мг/кг RG7834A, возникало увеличение зрачка, связанное с тестируемым соединением. Увеличение зрачка, связанное с тестируемым соединением, не возникало у самцов животных, которым вводили 1000 мг/кг и 300 мг/кг соединения по варианту осуществления 6.

Заключение эксперимента: RG7834 имеет определенный нейротоксический эффект при высоких дозах. Напротив, соединение по настоящему изобретению имеет более высокий уровень безопасности.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

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



где

R_1 представляет собой H, OH, CN, NH_2 или выбран из группы, состоящей из C_{1-6} алкила, C_{1-6} гетероалкила, C_{2-5} алкенила, C_{2-5} гетероалкенила, C_{3-6} циклоалкила и 3-6-членного гетероциклоалкила, каждый из которых необязательно замещен 1, 2 или 3 R;

R_2 представляет собой H, OH, CN, NH_2 , галоген или выбран из группы, состоящей из C_{1-3} алкила, C_{1-3} гетероалкила, C_{3-6} циклоалкила и 3-6-членного гетероциклоалкила, каждый из которых необязательно замещен 1, 2 или 3 R;

R_3 выбран из группы, состоящей из C_{1-6} алкила и C_{3-6} циклоалкила, каждый из которых необязательно замещен 1, 2 или 3 R;

m равняется 0, 1, 2, 3, 4 или 5;

R_1 не является OH, CN, NH_2 при условии, что m равняется 0;

R представляет собой H, галоген, OH, CN, NH_2 или выбран из группы, состоящей из C_{1-3} алкила и C_{1-3} гетероалкила, каждый из которых необязательно замещен 1, 2 или 3 R';

R' выбран из группы, состоящей из F, Cl, Br, I, OH, CN, NH_2 , CH_3 , CH_3CH_2 , CH_3O , CF_3 , CHF_2 и CH_2F ;

"гетеро" относится к гетероатому или гетероатомной группе;

при этом "гетеро" в C_{1-6} гетероалкиле, C_{2-5} гетероалкениле, 3-6-членном гетероциклоалкиле, C_{1-3} гетероалкиле независимо выбран из группы, состоящей из $-C(=O)N(R)-$, $-N(R)-$, $-C(=NR)-$, $-(R)C=N-$, $-S(=O)_2N(R)-$, $-S(=O)N(R)-$, N, -O-, -S-, =O, =S, $-C(=O)O-$, $-C(=O)-$, $-C(=S)-$, $-S(=O)-$, $-S(=O)_2-$ и $-N(R)C(=O)N(R)-$;

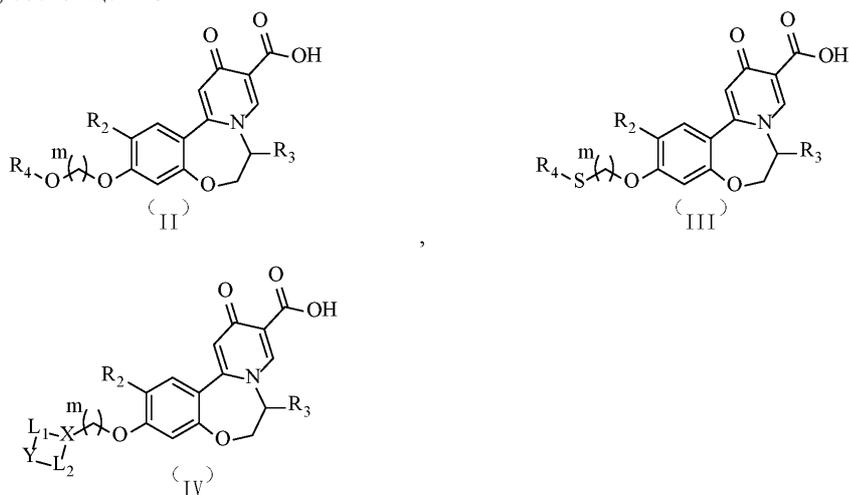
в любом из вышеуказанных случаев число гетероатомов или гетероатомных групп независимо равняется 1, 2 или 3.

2. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль по п.1, где R представляет собой H, F, Cl, Br, I, OH, CN, NH_2 , CH_3 , CH_3CH_2 , CH_3O , CF_3 , CHF_2 или CH_2F .

3. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль по п.1 или 2, где R_1 представляет собой H, OH, CN, NH_2 или выбран из группы, состоящей из C_{1-3} алкила, C_{1-3} гетероалкила, C_{2-3} алкенила, C_{2-3} гетероалкенила, C_{3-6} циклоалкила и 3-6-членного гетероциклоалкила, каждый из которых необязательно замещен 1, 2 или 3 R,

или R_1 представляет собой H, OH, CN, NH_2 или выбран из группы, состоящей из CH_3 ,

8. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль по любому из пп.1-6, которые выбраны из группы, состоящей из



где

R_4 представляет собой H или выбран из группы, состоящей из C_{1-3} -алкила и C_{1-3} -гетероалкила, каждый из которых необязательно замещен 1, 2 или 3R;

X выбран из группы, состоящей из CH и N;

Y выбран из группы, состоящей из O и CH_2 ;

каждый из L_1 и L_2 независимо выбран из группы, состоящей из одинарной связи, $-(CH_2)_n-$ и $-C(=O)-$; при условии, что оба L_1 и L_2 не являются одинарной связью;

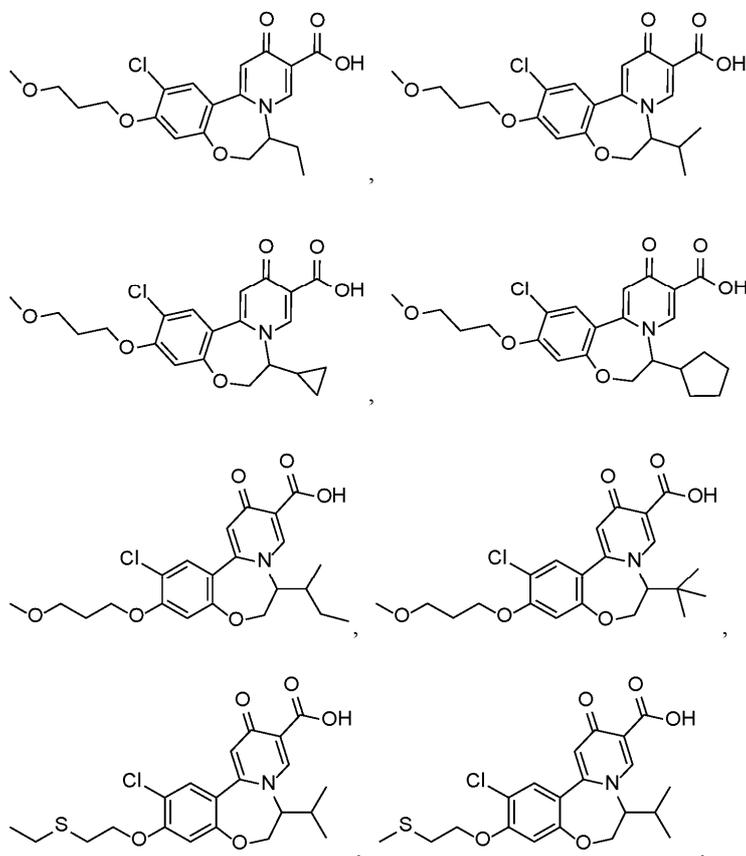
n равняется 1 или 2;

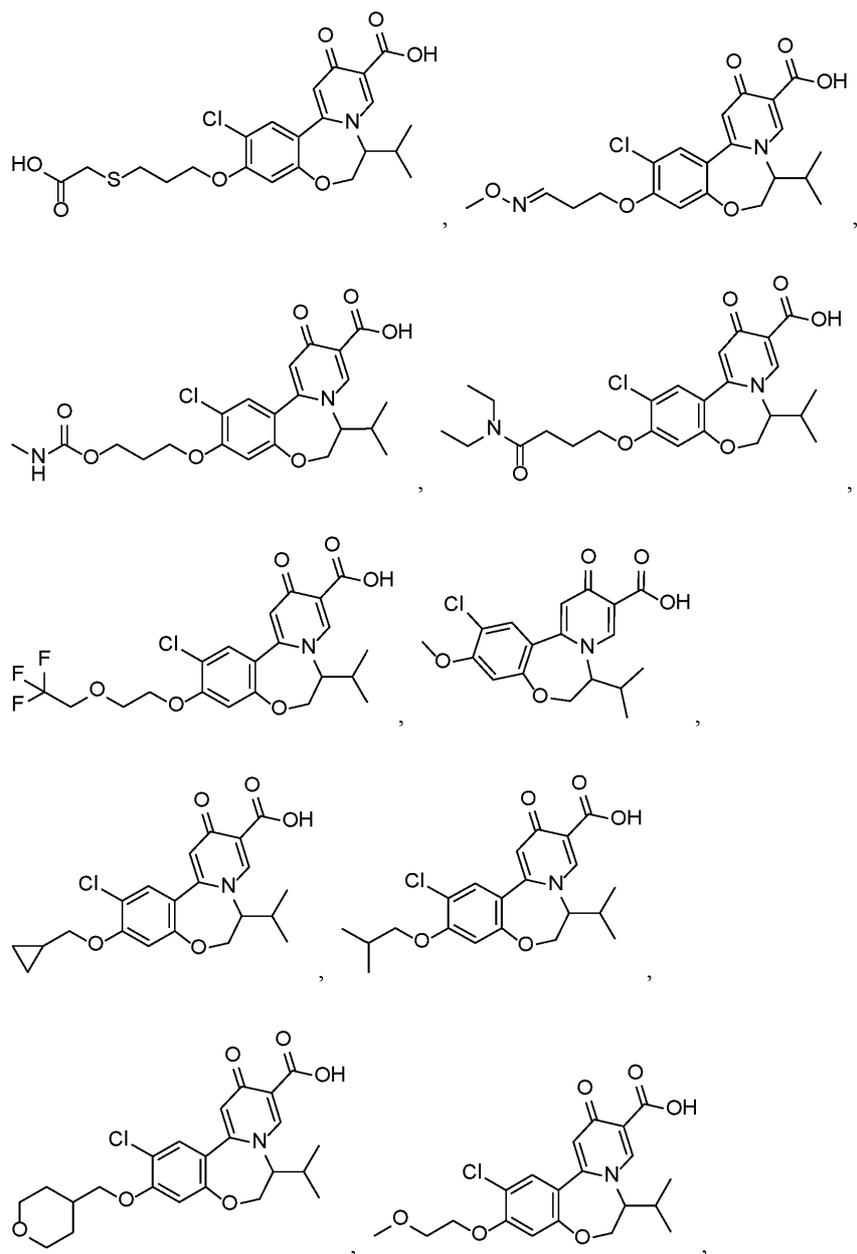
m, R, R_2 , R_3 и "гетеро" в C_{1-3} -гетероалкиле являются такими, как определено в пп.1-6;

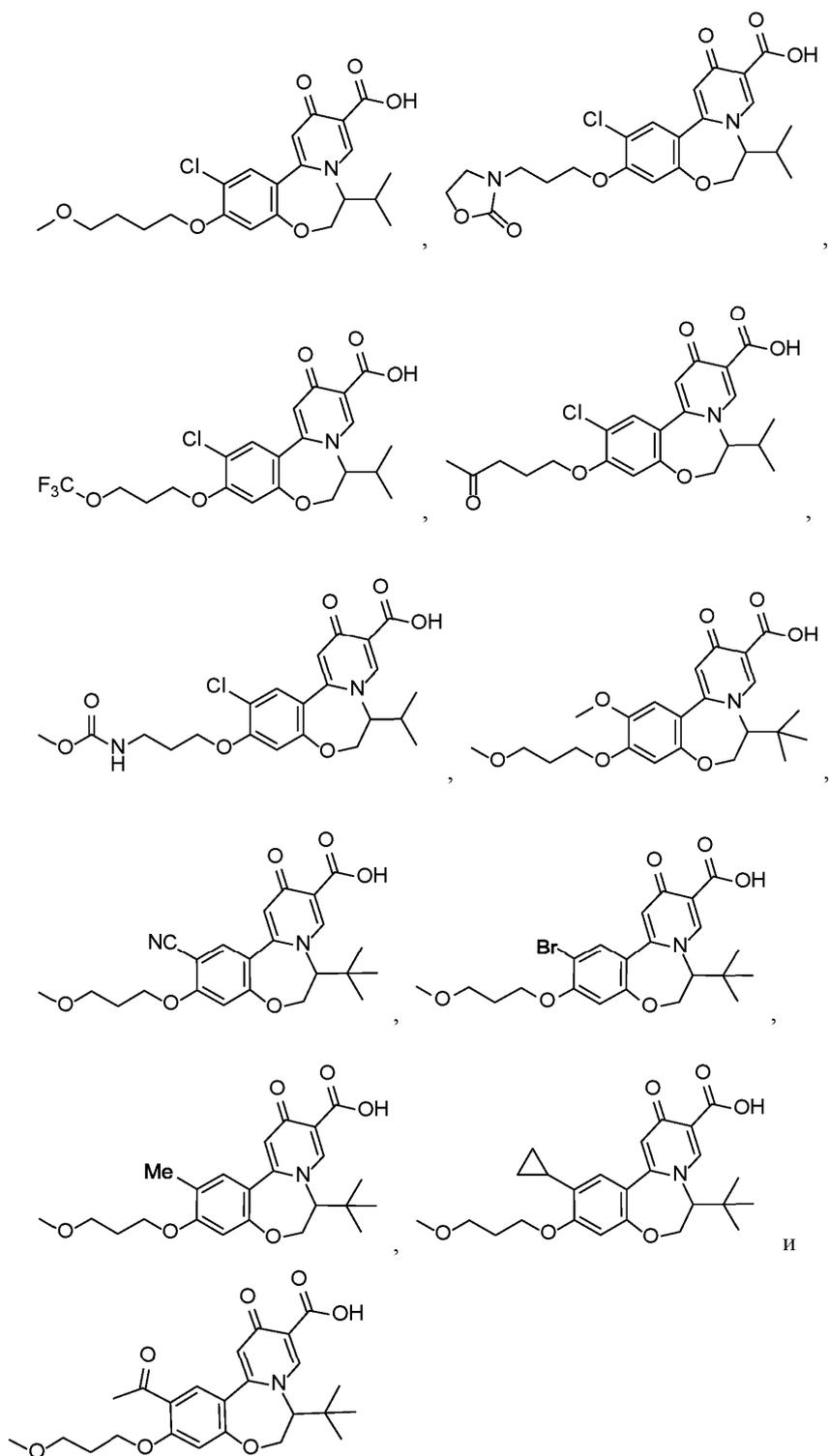
число гетероатомов или гетероатомных групп независимо равняется 1 или 2; и

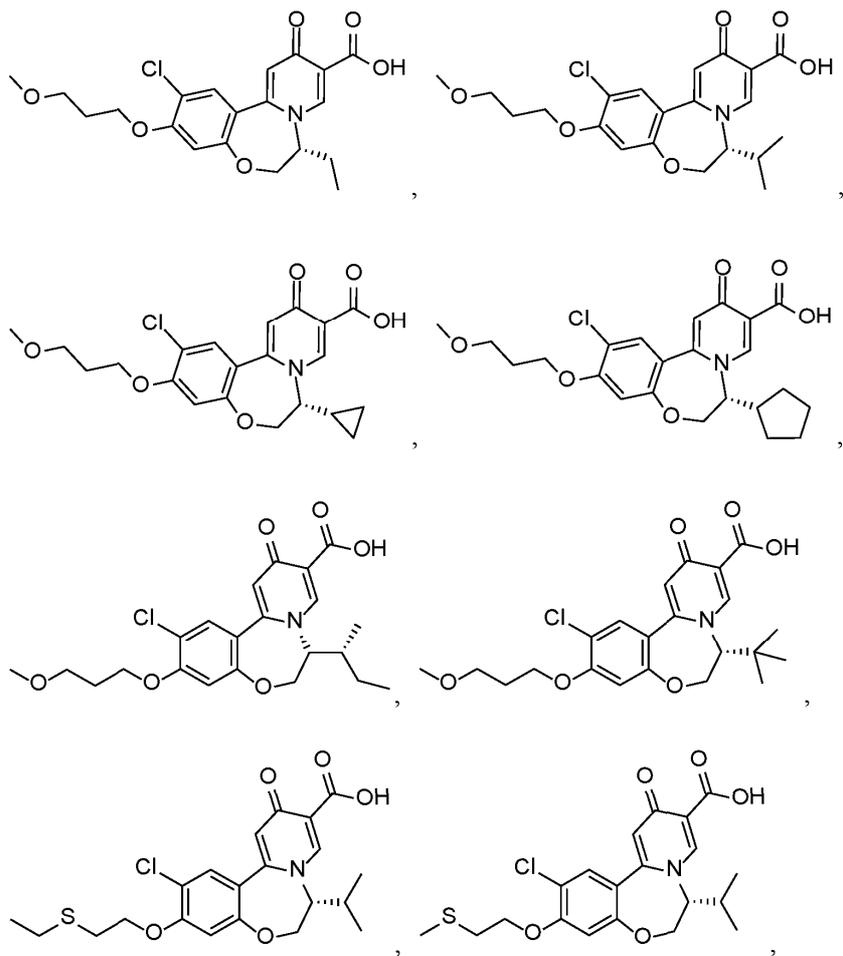
R_4 не является H при условии, что m равняется 0.

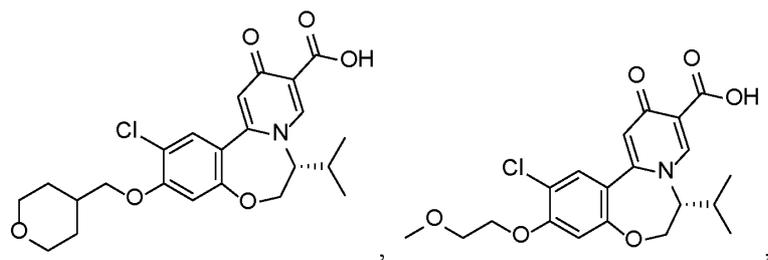
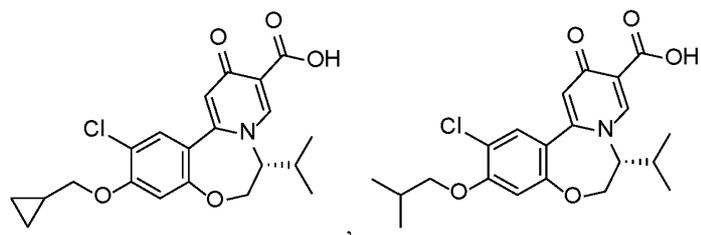
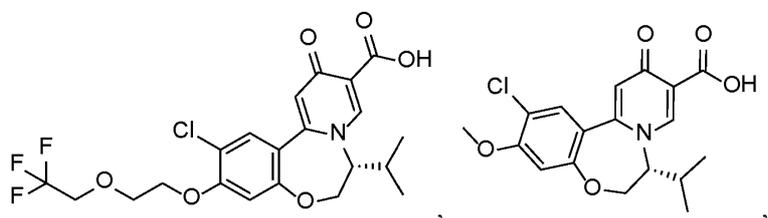
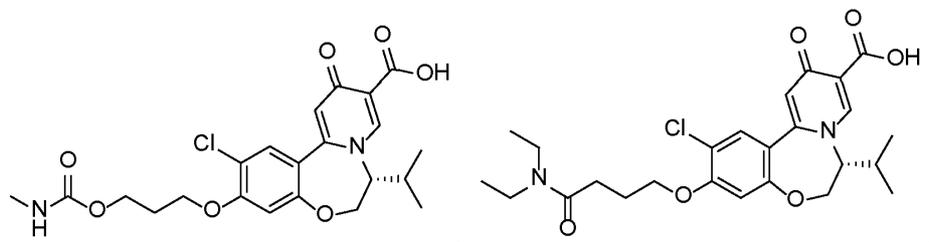
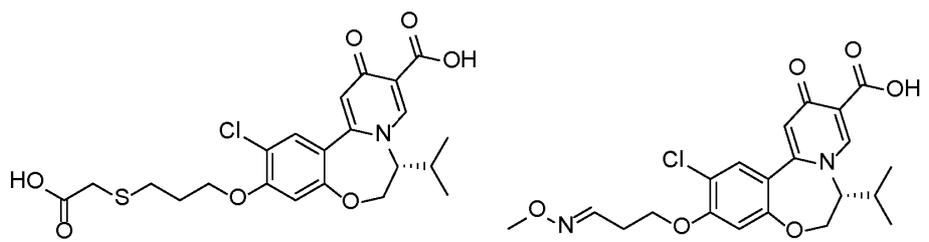
9. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, как определено в п.1, где соединение выбрано из группы, состоящей из

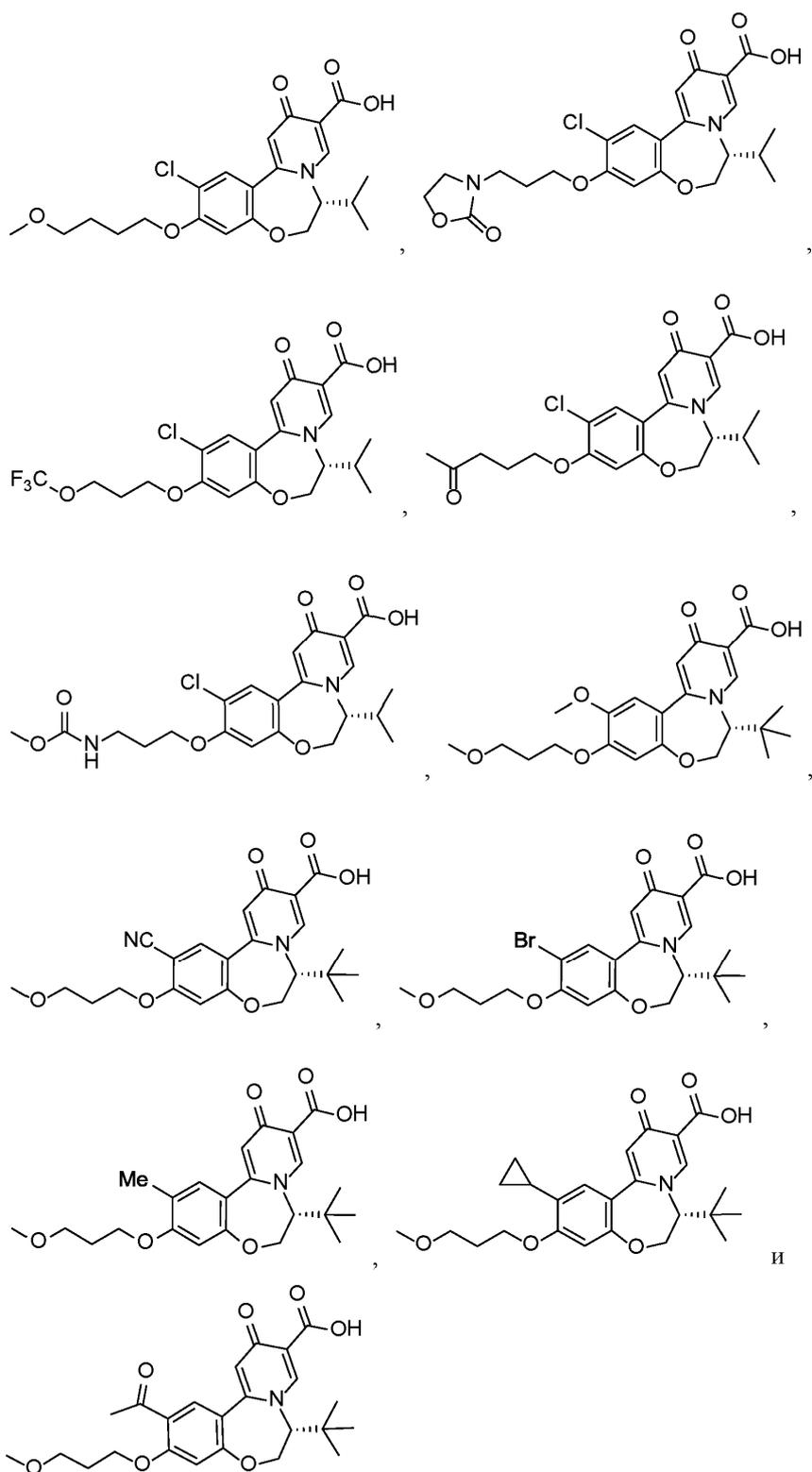








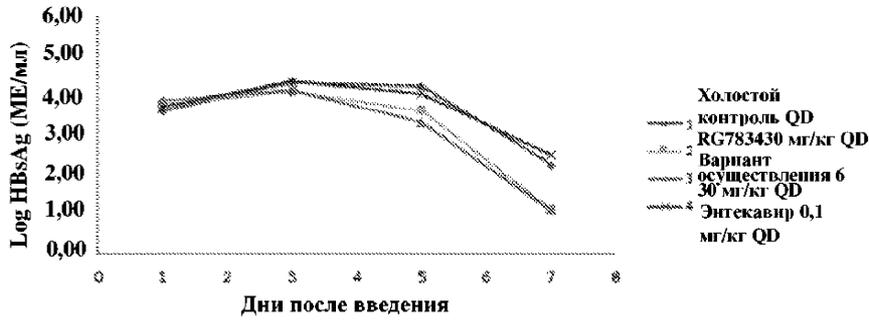




11. Фармацевтическая композиция, содержащая терапевтически эффективное количество соединения или его фармацевтически приемлемой соли по любому из пп.1-10 и фармацевтически приемлемый носитель.

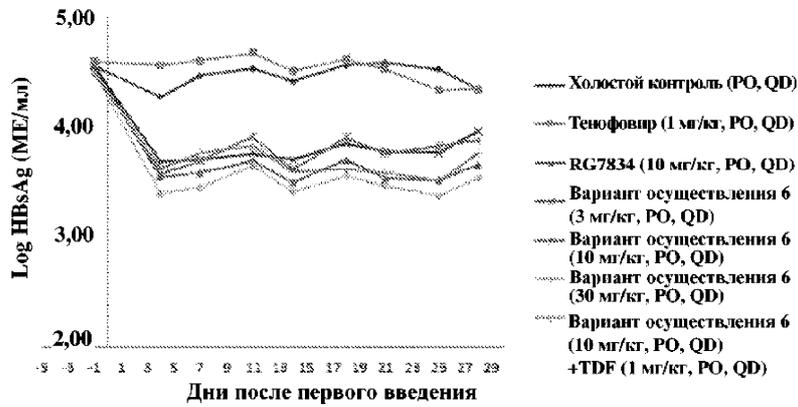
12. Применение соединения или его фармацевтически приемлемой соли по любому из пп.1-10 или фармацевтической композиции по п.11 для лечения гепатита В.

Изменения содержания HBsAg в плазме крови
мышей в различные дни после введения



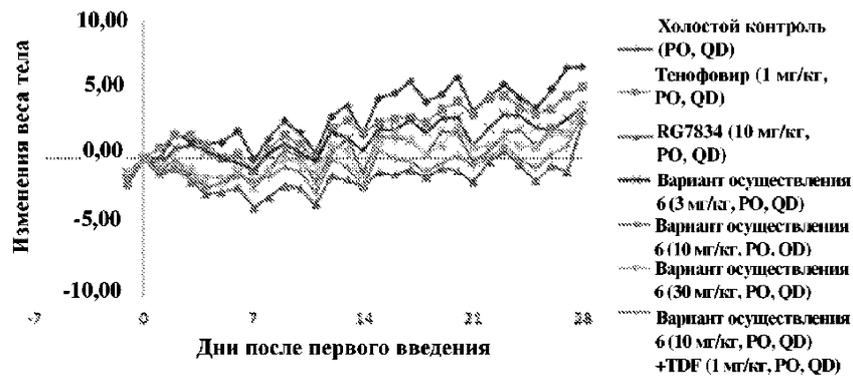
Фиг. 1

Содержание HBsAg в различные дни после введения
(ME/мл)



Фиг. 2

Изменения веса тела



Фиг. 3



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

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