



(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.03.03

(21) Номер заявки
202092923

(22) Дата подачи заявки
2019.05.30

(51) Int. Cl. C07D 471/14 (2006.01)
A61K 31/53 (2006.01)
A61P 31/18 (2006.01)

(54) ПОЛИЦИКЛИЧЕСКОЕ ПРОИЗВОДНОЕ ПИРИДОНА, ПОЛЕЗНОЕ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ, ЕГО ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ И ПРИМЕНЕНИЕ

(31) 2018-104160

(32) 2018.05.31

(33) JP

(43) 2021.04.09

(86) PCT/JP2019/021445

(87) WO 2019/230857 2019.12.05

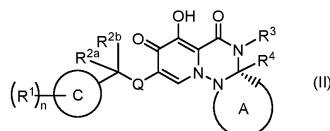
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
СИНОГИ ЭНД КО., ЛТД. (JP)

(72) Изобретатель:
Таода Йосиюки (JP)

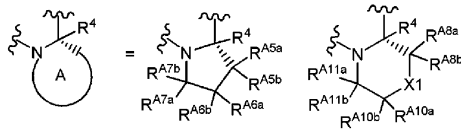
(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(56) WO-A1-2016027879
WO-A1-2014099586
WO-A1-2015089847
WO-A1-2015095258
WO-A1-2007049675

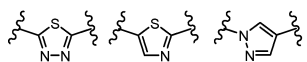
(57) Изобретение обеспечивает соединение, представленное следующей формулой (II):



где кольцо A представляет собой любое из следующих колец:



X1 представляет собой $CR^{A9a}R^{A9b}$ или O; R^{A5a} , R^{A5b} , R^{A6a} , R^{A6b} , R^{A7a} и R^{A7b} , каждый независимо, представляет собой водород, C_1 - C_4 алкил, C_1 - C_4 алкилокси или C_1 - C_4 алкилокси C_1 - C_4 алкил; R^{A8a} , R^{A8b} , R^{A9a} , R^{A9b} , R^{A10a} , R^{A10b} , R^{A11a} и R^{A11b} , каждый независимо, представляет собой водород, C_1 - C_4 алкил, C_1 - C_4 алкилокси или C_1 - C_4 алкилокси C_1 - C_4 алкил; R^{A8a} и R^{A10a} могут быть взяты вместе с образованием C_1 - C_3 поперечной связи; R^{2a} и R^{2b} , каждый независимо, представляет собой водород; кольцо C представляет собой бензольное кольцо; Q представляет собой любое из следующих колец:



каждый R^1 независимо представляет собой галоген; R^3 представляет собой C_1 - C_4 алкил или C_1 - C_4 галогеналкил; R^4 представляет собой водород и n представляет собой целое число от 1 до 3.

Область техники, к которой относится изобретение

Изобретение относится к новому соединению, обладающему противовирусным эффектом. Более конкретно, изобретение относится к полициклическому производному пиридона, обладающему ингибирующей активностью в отношении интегразы ВИЧ и к включающему его лекарственному средству, в частности к лекарственному средству против ВИЧ.

Предпосылки создания изобретения

Среди вирусов известен вирус иммунодефицита человека (далее сокращенно ВИЧ), один из типов ретровирусов, как вызывающий синдром приобретенного иммунодефицита (далее сокращенно СПИД). В настоящее время различные руководящие принципы рекомендуют пациентам, ранее не получавшим лечение, комбинацию ингибитора интегразы (долутегравира и т.д.) в качестве основного лекарственного средства, с двумя нуклеозидными ингибиторами обратной транскриптазы (ABC+3ТС, FTC+TAF и т.д.), различающимися профилем резистентности, в качестве терапевтического лекарственного средства для лечения СПИДа. Благодаря высокой эффективности и высокой безопасности эти комбинации имеют высокий уровень удовлетворенности по сравнению с исходными терапевтическими лекарственными средствами. Между тем, рекомендуют начинать лечение при обнаружении ВИЧ-инфекции в связи с появлением такого безопасного лекарственного средства и хорошим прогнозом. Кроме того, период приема лекарств удлиняется, поскольку средняя продолжительность жизни людей, инфицированных ВИЧ, приближается к средней продолжительности жизни здоровых людей. Если возникают побочные реакции нуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы или появляется устойчивость к вирусу из-за длительного приема лекарств, дальнейшего удобного метода лечения не существует. Таким образом, наблюдается тенденция к отказу от нуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы. Следовательно, желательно установить двухкомпонентное лечение двумя основными лекарственными средствами. Таким образом, желательна разработка основного лекарственного средства, которое можно комбинировать с ингибитором интегразы. Кроме того, желательна разработка терапевтического лекарственного средства с более длительным интервалом введения лекарства, т.е. инъекции длительного действия, когда лечение осуществляют путем введения только одной инъекции с интервалом в 1 месяц или более, для снижения усталости от приема лекарств, приписываемой длительному лечению, и улучшения QOL (качества жизни) пациентов таким образом, чтобы пациенты получали больше удовольствия от повседневной жизни.

Чтобы удовлетворить такие требования, ингибитор интегразы каботегравир находится в стадии разработки в виде инъекции длительного действия на Ph3. Кроме того, ненуклеозидный ингибитор обратной транскриптазы рилпивириин также находится в стадии разработки в виде инъекции длительного действия. Предпринимаются попытки создания метода лечения с использованием этих двух лекарственных средств. Однако эти лекарственные средства вводят один раз в месяц или в два месяца, и необходимо вводить в общей сложности в 3 или 4 места с болью. Следовательно, для дальнейшего улучшения качества жизни пациентов желательна разработка лекарственного средства, лечение которым осуществляют введением одной инъекции в 3 месяца с меньшей болью при более низкой дозе.

Ралтегравир и элвитегравир в качестве пероральных препаратов первого поколения и долутегравири в качестве перорального препарата второго поколения уже выведены на рынок в качестве ингибиторов интегразы. Когда пациент, ранее не получавший лечение, принимает долутегравири, никакие резистентные мутации не появляются. Однако долутегравири, когда его используют для лечения пациента, инфицированного вирусом, резистентным к ингибитору интегразы первого поколения, может оказаться неэффективным из-за дальнейшего добавления мутации резистентности. Следовательно, также желательна разработка ингибитора, имеющего более высокий барьер резистентности, чем у долутегравира. Производные пиридона, имеющие гетероцикл в качестве боковой цепи, известны как одно из лекарственных средств против ВИЧ, обладающих интегразо-ингибирующим эффектом (патентные документы 1-13). Среди них патентный документ 6 описывает конденсированное трициклическое производное пиридопиразина. Патентный документ 4 описывает конденсированное трициклическое производное пиридопиразина и конденсированное трициклическое производное пиридопиазина.

Ссылочные документы предшествующего уровня техники

Патентный документ

- Патентный документ 1. Международная публикация № WO 2005/016927.
- Патентный документ 2. Международная публикация № WO 2011/105590.
- Патентный документ 3. Международная публикация № WO 2013/054862.
- Патентный документ 4. Международная публикация № WO 2014/099586.
- Патентный документ 5. Международная публикация № WO 2014/183532.
- Патентный документ 6. Международная публикация № WO 2014/200080.
- Патентный документ 7. Международная публикация № WO 2015/089847.
- Патентный документ 8. Международная публикация № WO 2015/095258.
- Патентный документ 9. Международная публикация № WO 2016/027879.
- Патентный документ 10. Международная публикация № WO 2016/094197.

Патентный документ 11. Международная публикация № WO 2016/187788.

Патентный документ 12. Международная публикация № WO 2016/191239.

Патентный документ 13. Международная публикация № WO 2017/106071.

Сущность изобретения

Задачи, решаемые изобретением

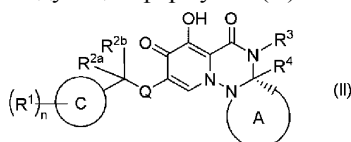
Целью настоящего изобретения является обеспечение нового соединения длительного действия, обладающего ингибирующей активностью против интегразы с высоким барьером резистентности.

Способы решения задачи

Авторы настоящего изобретения провели тщательные исследования и в результате обнаружили, что новое производное пиридона обладает ингибирующим действием на интегразу с высоким барьером резистентности. Авторы настоящего изобретения также обнаружили, что соединение по настоящему изобретению и лекарственное средство, включающее его, полезны в качестве противовирусного лекарственного средства (например, антиретровирусного лекарственного средства, лекарственного средства против ВИЧ, анти-HTLV-1 (вирус Т-клеточного лейкоза человека типа 1) лекарственного средства, анти-FIV (вирус иммунодефицита кошек) лекарственного средства и анти-SIV (вирус иммунодефицита обезьян) лекарственного средства), в частности, лекарственного средства против ВИЧ, лекарственного средства против СПИДа или терапевтического лекарственного средства для связанных с ними заболеваний и т.д., создав настоящее изобретение, приведенное ниже.

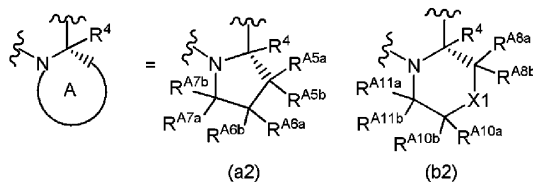
Настоящее изобретение обеспечивает аспекты, указанные ниже.

1. Соединение, представленное следующей формулой (II):



Химическая формула 4

где кольцо А представляет собой любое из следующих колец:



Химическая формула 5

X1 представляет собой CR^{A9a}R^{A9b} или O;

R^{A5a}, R^{A5b}, R^{A6a}, R^{A6b}, R^{A7a} и R^{A7b}, каждый независимо, представляет собой водород, алкил, алкилокси или алкилоксиалкил;

R^{A8a}, R^{A8b}, R^{A9a}, R^{A9b}, R^{A10a}, R^{A10b}, R^{A11a} и R^{A11b}, каждый независимо, представляет собой водород, алкил, алкилокси или алкилоксиалкил;

R^{A8a} и R^{A10a} могут быть взяты вместе с образованием C₁-C₃ поперечной связи;

кольцо С представляет собой бензольное кольцо;

Q представляет собой 5-членный ароматический гетероцикл;

каждый R¹ независимо представляет собой галоген;

R^{2a} и R^{2b}, каждый независимо, представляет собой водород, алкил или галогеналкил;

R³ представляет собой алкил или галогеналкил;

R⁴ представляет собой водород и

n представляет собой целое число от 1 до 3.

2. Соединение по п.1 или его фармацевтически приемлемая соль, где R³ представляет собой алкил.

3. Соединение по п.1 или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение выбрано из группы, состоящей из соединений I-2, I-6 и I-8.

4. Соединение по п.1 или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение выбрано из группы, состоящей из соединений II-3, II-18, II-23, II-24, II-27, II-29, II-33, II-37, II-38, II-44, II-48, II-50, II-51, II-52, II-54, II-55, II-56, II-57, II-58, II-61, II-62, II-63, II-65, II-67 и II-68.

5. Фармацевтическая композиция, включающая соединение по любому из пп.1-4 или его фармацевтически приемлемую соль.

6. Фармацевтическая композиция по п.5, где фармацевтическая композиция представляет собой средство против ВИЧ.

7. Ингибитор интегразы ВИЧ, включающий соединение по любому из пп.1-4 или его фармацевтически приемлемую соль.

8. Способ лечения и/или профилактики ВИЧ-инфекции, включающий введение соединения по любому из пп.1-4 или его фармацевтически приемлемой соли.

9. Соединение по любому из пп.1-4 или его фармацевтически приемлемая соль для применения в

лечении и/или профилактике ВИЧ-инфекции.

Настоящее изобретение также относится к способу профилактики или лечения ВИЧ, включающему введение человеку эффективного количества соединения.

Настоящее изобретение также обеспечивает соединение для применения в качестве лекарственного средства против ВИЧ.

Эффект изобретения

Соединение по настоящему изобретению обладает ингибирующей активностью в отношении интегразы и/или активностью, направленной на ингибирование клеточного роста, против вируса, в частности ВИЧ или его резистентного вируса. Соответственно, соединение по настоящему изобретению полезно для профилактики или лечения различных заболеваний, вирусных инфекций (например, СПИДа) и т.п. с участием интегразы. Более предпочтительно, соединение по настоящему изобретению полезно в качестве ингибитора интегразы длительного действия. Кроме того, соединение по настоящему изобретению также имеет превосходный профиль резистентности, поэтому соединение не может легко вызвать новый ВИЧ-резистентный вирус и т.п. Еще более предпочтительно, соединение по настоящему изобретению также демонстрирует профилактический или терапевтический эффект на вирус, резистентный к лекарственному средству против ВИЧ. Еще более предпочтительно, соединение по настоящему изобретению имеет небольшой клиренс, длительный период полужизни *in vivo* и отличную растворимость, метаболическую стабильность или биодоступность и т.д., а также полезно в качестве лекарственного средства, которое вызывает меньшую обеспокоенность из-за цитотоксичности или побочных эффектов (например, мутагенности, удлинения интервала QT на электрокардиограмме и аритмии).

Способ осуществления изобретения

Значение каждого термина, используемого в настоящем описании, объяснено ниже. Каждый термин используется в одном и том же смысле, когда он используется отдельно или когда используется в сочетании с другими терминами, если не указано иное.

Термин "состоящий из" означает содержащий только компоненты.

Термин "включающий" означает не ограничивающийся компонентами и не исключающий неопределенных факторов.

Термин "галоген" включает атом фтора, атом хлора, атом брома и атом йода. В частности, предпочтительны атом фтора и атом хлора.

Термин "алкил" включает C_1 - C_{15} , предпочтительно C_1 - C_{10} , более предпочтительно C_1 - C_6 и еще более предпочтительно C_1 - C_4 линейную или разветвленную углеводородную группу. Примеры включают метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, изобутил, втор-бутил, трет-бутил, н-пентил, изопентил, неопентил, н-гексил, изогексил, н-гептил, изогептил, н-октил, изооктил, н-нонил, н-децил и т.д.

Предпочтительной формой "алкила" является метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, изобутил, втор-бутил, трет-бутил или н-пентил. Более предпочтительная форма представляет собой метил, этил, н-пропил, изопропил или трет-бутил.

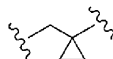
Термин "алкенил" включает C_2 - C_{15} , предпочтительно C_2 - C_{10} , более предпочтительно C_2 - C_6 и еще более предпочтительно C_2 - C_4 линейную или разветвленную углеводородную группу, имеющую одну или несколько двойных связей в любом положении(положениях). Примеры включают винил, аллил, пропенил, изопропенил, бутенил, изобутенил, пренил, бутаденил, пентенил, изопентенил, пентаденил, гексенил, изогексенил, гексаденил, гептенил, октенил, ноненил, деценил, ундеценил, додеценил, тридеценил, тетрадеценил, пентадеценил и т.д.

Предпочтительной формой "алкенила" является винил, аллил, пропенил, изопропенил или бутенил.

Термин "алкилен" включает C_1 - C_{15} , предпочтительно C_1 - C_{10} , более предпочтительно C_1 - C_6 и еще более предпочтительно C_1 - C_4 линейную или разветвленную двухвалентную углеводородную группу. Примеры включают метилен, этилен, триметилен, пропилен, тетраметилен, пентаметилен, гексаметилен и т.д.

Кроме того, "алкилен" также включает группу с поперечной связью, как показано ниже.

Химическая формула 12



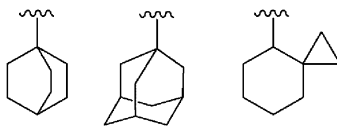
Термин "ароматический карбоцикл" означает циклическую ароматическую углеводородную группу, которая является моноциклической или бициклической или с большим количеством циклов. Например, он включает фенил, нафтил, антрил, фенантрил и т.д.

Предпочтительной формой "ароматического карбоцикла" является фенил.

Термин "неароматический карбоцикл" означает циклическую насыщенную углеводородную группу или циклическую неароматическую ненасыщенную углеводородную группу, которая является моноциклической или бициклической или с большим количеством циклов. "Неароматический карбоцикл", который является бициклическим или полициклическим, включает конденсированную кольцевую группу, где неароматический карбоцикл, который является моноциклическим или бициклическим или полициклическим, конденсирован с кольцом указанного выше "ароматического карбоцикла".

Кроме того, "неароматический карбоциклил" также включает группу с поперечной связью или группу, образующую спирокольцо, как показано ниже.

Химическая формула 13



Неароматический карбоциклил, который является моноциклическим, предпочтительно содержит 3-16 атомов углерода, более предпочтительно 3-12 атомов углерода и еще более предпочтительно 4-8 атомов углерода. Его примеры включают циклопропил, циклобутил, цикlopентил, циклогексил, циклогептил, циклооктил, циклононил, циклодецил, циклопропенил, циклобутенил, цикlopентенил, циклогексенил, циклогептенил и циклогексадиенил.

Бициклический или полициклический неароматический карбоциклил предпочтительно имеет 8-20 атомов углерода, более предпочтительно 8-16 атомов углерода. Его примеры включают инданил, инденил, аценафтил, тетрагидронафтил и флуоренил.

Термин "ароматический гетероциклил" означает моноциклическую или бициклическую или полициклическую ароматическую циклическую группу, имеющую один или несколько одинаковых или разных гетероатомов в кольце, произвольно выбранных из O, S и N.

Бициклический или полициклический ароматический гетероциклил также включает моноциклический или бициклический или полициклический ароматический гетероциклил, конденсированный с кольцом "ароматического карбоциклила", описанного выше. Связь может присутствовать на любом из колец.

Моноциклический ароматический гетероциклил предпочтительно имеет 5-8 членов, более предпочтительно 5 или 6 членов. Примеры 5-членного ароматического гетероциклила включают пирролил, имидазолил, пиразолил, триазолил, тетразолил, фурил, тиенил, изоксазолил, оксазолил, оксадиазолил, изотиазолил, тиазолил и тиадиазолил. Примеры 6-членного ароматического гетероциклила включают пиридил, пиридазинил, пиримидинил, пиазинил и триазинил.

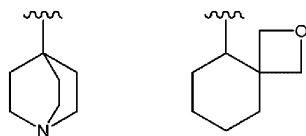
Бициклический ароматический гетероциклил предпочтительно имеет 8-10 членов, более предпочтительно 9 или 10 членов. Его примеры включают индолил, изоиндолил, индазолил, индолизинил, хинолинил, изохинолинил, циннолинил, фталазинил, хиназолинил, нафтиридинил, хиноксалинил, пуринил, птеридинил, бензимидазолил, бензизоксазолил, бензоксазолил, бензоксадиазолил, бензизотиазолил, бензотиазолил, бензотиадиазолил, бензофурил, изобензофурил, бензотиенил, бензотриазолил, имидазопиридил, триазолопиридил, имидазотиазолил, пиразинопиридазинил, оксазолопиридил и тиазолопиридил.

Трициклический или имеющий большее число циклов ароматический гетероциклил предпочтительно имеет 13-15 членов. Его примеры включают карбазолил, акридинил, ксантенил, фенотиазинил, феноксатиинил, феноксазинил и дибензофурил.

Термин "неароматический гетероциклил" означает моноциклическую или бициклическую или полициклическую неароматическую циклическую группу, имеющую один или несколько одинаковых или разных гетероатомов в кольце, произвольно выбранных из O, S и N. Бициклический или полициклический неароматический гетероциклил также включает моноциклический или бициклический или полициклический неароматический гетероциклил, конденсированный с кольцом "ароматического карбоциклила", "неароматического карбоциклила" и/или "ароматического гетероциклила", описанного выше, и моноциклический или бициклический или полициклический неароматический карбоциклил, конденсированный с кольцом "ароматического гетероциклила", описанного выше. Связь может присутствовать на любом из колец.

"Неароматический гетероциклил" также включает группу с поперечной связью или группу, образующую спирокольцо, как показано ниже.

Химическая формула 14



Моноциклический неароматический гетероциклил предпочтительно имеет 3-8 членов, более предпочтительно 5 или 6 членов.

Примеры 3-членного неароматического гетероциклила включают тиранил, оксиранил и азиридирил. Примеры 4-членного неароматического гетероциклила включают оксетанил и азетидинил. Примеры 5-членного неароматического гетероциклила включают оксатиоланил, тиазолидинил, пирролидинил, пирролинил, имидазолидинил, имидазолинил, пиразолидинил, пиразолинил, тетрагидрофурил, дигидротиазолил, тетрагидроизотиазолил, диоксоланил, диоксолил и тиоланил. Примеры 6-членного неароматического гетероциклила включают диоксанил, тианил, пиперидинил, пиперазинил, морфолинил, морфолино, тиоморфолинил, тиоморфолино, дигидропиридил, тетрагидропиридил, тетрагидропиранил, дигидрооксазинил, тетрагидропиридазинил, гексагидропиримидинил, диоксазинил, тиинил и тиазинил. При-

меры 7-членного неароматического гетероцикла включают гексагидроазепинил, тетрагидродиазепинил и оксепанил.

Бициклический или полициклический неароматический гетероцикл предпочтительно имеет 8-20 членов, более предпочтительно 8-10 членов. Его примеры включают индолинил, изоиндолинил, хроманил и изохроманил.

Термины "ароматический карбоцикл", "неароматический карбоцикл", "ароматический гетероцикл" и "неароматический гетероцикл" означают кольца, производные от "ароматического карбоцикла", "неароматического карбоцикла", "ароматического гетероцикла" и "неароматического гетероцикла", соответственно, описанные выше.

Термин "карбоцикл" означает "ароматический карбоцикл" или "неароматический карбоцикл", описанный выше.

Термин "гетероцикл" означает "ароматический гетероцикл" или "неароматический гетероцикл", описанный выше.

Термин "спирокольцо" означает "неароматический карбоцикл" или "неароматический гетероцикл", описанный выше.

В настоящем описании фраза "необязательно замещенный группой заместителей α " означает "необязательно замещенный одной или несколькими группами, выбранными из группы заместителей α ". То же самое относится к фразам "необязательно замещенный группой заместителей β ", "необязательно замещенный группой заместителей γ " и "необязательно замещенный группой заместителей γ' ".

Примеры заместителей для "замещенного алкила", "замещенного алкилокси", "замещенного алкилкарбонила", "замещенного алкилоксикарбонила", "замещенной C_1 - C_4 поперечной связи", "замещенной C_2 - C_4 поперечной связи" и "замещенного алкилена" включают группу заместителей А, указанную ниже. Атом углерода в произвольном положении может быть связан с одной или несколькими группами, выбранными из следующей группы заместителей А.

Группа заместителей А: галоген, гидроксид, карбоксид, формил, формилоксид, сульфанил, сульфино, сульфо, тиоформил, тиокарбоксид, дитиокарбоксид, тиокарбамоил, циано, нитро, нитрозо, азид, гидразино, уреидо, амидино, гуанидино, алкилоксид, необязательно замещенный группой заместителей α ; алкенилоксид, необязательно замещенный группой заместителей α ; алкилкарбонилоксид, необязательно замещенный группой заместителей α ; алкенилкарбонилоксид, необязательно замещенный группой заместителей α ; алкилкарбонил, необязательно замещенный группой заместителей α ; алкенилкарбонил, необязательно замещенный группой заместителей α ; алкилоксикарбонил, необязательно замещенный группой заместителей α ; алкенилоксикарбонил, необязательно замещенный группой заместителей α ; алкилсульфанил, необязательно замещенный группой заместителей α ; алкенилсульфанил, необязательно замещенный группой заместителей α ; алкилсульфинил, необязательно замещенный группой заместителей α ; алкенилсульфинил, необязательно замещенный группой заместителей α ; алкилсульфонил, необязательно замещенный группой заместителей α ; алкенилсульфонил, необязательно замещенный группой заместителей α ; амино, необязательно замещенный группой заместителей β ; имино, необязательно замещенный группой заместителей β ; карбамоил, необязательно замещенный группой заместителей β ; сульфоамидо, необязательно замещенный группой заместителей β ; уреидо, необязательно замещенный группой заместителей β ; ароматический карбоцикл, необязательно замещенный группой заместителей γ ; неароматический карбоцикл, необязательно замещенный группой заместителей γ ; ароматический гетероцикл, необязательно замещенный группой заместителей γ ; неароматический гетероцикл, необязательно замещенный группой заместителей γ ; ароматический карбоциклоксид, необязательно замещенный группой заместителей γ ; неароматический карбоциклоксид, необязательно замещенный группой заместителей γ ; ароматический гетероциклоксид, необязательно замещенный группой заместителей γ ; неароматический гетероциклоксид, необязательно замещенный группой заместителей γ ; ароматический карбоциклилоксид, необязательно замещенный группой заместителей γ ; неароматический карбоциклилоксид, необязательно замещенный группой заместителей γ ; ароматический гетероциклилоксид, необязательно замещенный группой заместителей γ ; неароматический гетероциклилоксид, необязательно замещенный группой заместителей γ ; ароматический карбоциклилкарбонил, необязательно замещенный группой заместителей γ ; неароматический карбоциклилкарбонил, необязательно замещенный группой заместителей γ ; ароматический гетероциклилкарбонил, необязательно замещенный группой заместителей γ ; неароматический гетероциклилкарбонил, необязательно замещенный группой заместителей γ ; ароматический карбоциклилоксикарбонил, необязательно замещенный группой заместителей γ ; неароматический карбоциклилоксикарбонил, необязательно замещенный группой заместителей γ ; ароматический гетероциклилоксикарбонил, необязательно замещенный группой заместителей γ ; неароматический гетероциклилоксикарбонил, необязательно замещенный группой заместителей γ ; ароматический карбоциклилалкилоксид, необязательно замещенный группой заместителей γ ; неароматический карбоциклилалкилоксид, необязательно замещенный группой заместителей γ ; ароматический ге-

[illegible]

Группа заместителей γ' : группа заместителей γ и оксо.

Примеры заместителей на кольце "ароматического карбоцикла" и "ароматического гетероцикла" у "замещенного карбоцикла", "замещенного гетероцикла", "замещенного ароматического карбоциклила", "замещенного ароматического гетероциклила", "замещенного ароматического карбоциклилокси", "замещенного ароматического гетероциклилокси", "замещенного ароматического карбоциклилкарбонила",

- 7 -

неароматический карбоциклисульфинил, необязательно замещенный группой заместителей γ' ; ароматический гетероциклисульфинил, необязательно замещенный группой заместителей γ ; неароматический гетероциклисульфинил, необязательно замещенный группой заместителей γ' ; ароматический карбоциклисульфонил, необязательно замещенный группой заместителей γ ; неароматический карбоциклисульфонил, необязательно замещенный группой заместителей γ' ; ароматический гетероциклисульфонил, необязательно замещенный группой заместителей γ , и неароматический гетероциклисульфонил, необязательно замещенный группой заместителей γ' .

Примеры заместителей на кольце "неароматического карбоцикла" и "неароматического гетероцикла" у "замещенного карбоцикла", "замещенного гетероцикла", "замещенного неароматического карбоцикла", "замещенного неароматического гетероцикла", "замещенного неароматического карбоциклокси", "замещенного неароматического гетероциклокси", "замещенного неароматического карбоциклкарбонила", "замещенного неароматического гетероциклкарбонила", "замещенного неароматического карбоциклоксикарбонила" и "замещенного неароматического гетероциклоксикарбонила" включают группу заместителей С, указанную ниже. Атом в произвольном положении на кольце может быть связан с одной или несколькими группами, выбранными из следующей группы заместителей С.

Группа заместителей С: группа заместителей В и оксо.

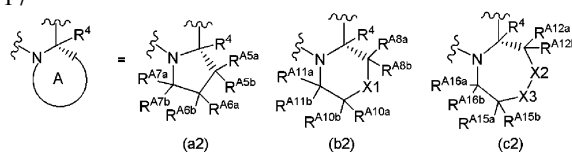
Примеры заместителей для "замещенного амина", "замещенного карбамоила" и "замещенного уре-идо" включают группу заместителей D, указанную ниже. Такой фрагмент необязательно замещен 1 или 2 группами, выбранными из группы заместителей D.

[illegible]

Предпочтительная форма каждого символа в соединении, представленном формулой (II), будет описана ниже. Примеры соединения, представленного формулой (II), включают формы, имеющие все комбинации конкретных примеров, приведенных ниже.

Кольцо А включает следующие кольца.

Химическая формула 17



Примеры X1 включают $CR^{A9a}R^{A9b}$ или O.

Примеры R^{A5a} , R^{A5b} , R^{A6a} , R^{A6b} , R^{A7a} и R^{A7b} , каждый независимо, включают водород, алкил, алкилокси и алкилоксиалкил.

Один предпочтительный вариант осуществления R^{A5a} представляет собой водород или алкил, предпочтительно водород.

Один предпочтительный вариант осуществления R^{A5b} представляет собой водород или алкил, предпочтительно водород.

Один предпочтительный вариант осуществления R^{A6a} представляет собой водород, алкил или алкилоксиалкил, предпочтительно водород.

Один предпочтительный вариант осуществления R^{A6b} представляет собой водород.

Один предпочтительный вариант осуществления R^{A7a} представляет собой водород, алкил или алкилоксиалкил, предпочтительно алкилоксиалкил.

Один предпочтительный вариант осуществления R^{A7b} представляет собой водород.

Примеры R^{A8a} , R^{A8b} , R^{A9a} , R^{A9b} , R^{A10a} , R^{A10b} , R^{A11a} и R^{A11b} , каждый независимо, включают водород, алкил, галогеналкил, алкилокси или алкилоксиалкил.

Один предпочтительный вариант осуществления R^{A8a} представляет собой водород или алкил, предпочтительно водород.

Один предпочтительный вариант осуществления R^{A8b} представляет собой водород или алкил, предпочтительно водород.

Один предпочтительный вариант осуществления R^{A9a} представляет собой водород, алкил или алкилоксиалкил.

Один предпочтительный вариант осуществления R^{A9b} представляет собой водород или алкил, предпочтительно водород.

Один предпочтительный вариант осуществления R^{A10a} представляет собой водород, алкил или алкилокси, предпочтительно водород.

Один предпочтительный вариант осуществления R^{A10b} представляет собой водород.

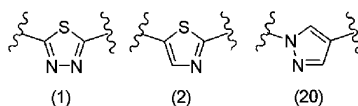
Один предпочтительный вариант осуществления R^{A11a} представляет собой водород или алкил, предпочтительно водород.

Один предпочтительный вариант осуществления R^{A11b} представляет собой водород.

R^{A8a} и R^{A10a} или R^{A8a} и R^{A11a} могут быть взяты вместе с образованием C_1 - C_3 поперечной связи.

Q представляет собой следующие кольца.

Химическая формула 21



Более предпочтительный вариант осуществления Q представляет собой кольцо, показанное в п. 1.

R^1 представляет собой галоген.

R^3 представляет собой алкил или галогеналкил.

R^3 предпочтительно представляет собой алкил.

R^4 представляет собой водород.

Примеры n включают целые числа от 1 до 3.

Один предпочтительный вариант осуществления n представляет собой целое число от 2 или 3.

Более предпочтительный вариант осуществления n представляет собой целое число от 1 или 2.

Атом углерода, смежный с R^4 , имеет следующую конфигурацию.

Химическая формула 22



где каждый символ имеет значение, определенное выше.

Примеры кольца C включают бензольное кольцо.

Особенностью соединения по настоящему изобретению является то, что кольцо А образовано в формуле (II) для достижения превосходного профиля резистентности, кинетики *in vivo* и безопасности. Другой особенностью соединения по настоящему изобретению является то, что конфигурация кольца А определена так, чтобы обеспечить превосходный профиль резистентности.

Соединение по настоящему изобретению не ограничено конкретным изомером и включает все возможные изомеры (например, кето-енольные изомеры, имин-енаминовые изомеры, диастереомеры, оптические изомеры и поворотные изомеры), рацематы или их смеси, если не указано иное.

Фармацевтически приемлемые соли соединений по настоящему изобретению включают, например, соли соединений по настоящему изобретению с щелочными металлами (например, литием, натрием, калием), щелочно-земельными металлами (например, кальцием, барием, магнием), переходными металлами (например, цинком, железом), аммиаком, органическими основаниями (например, такими как триметиламин, триэтиламин, дициклогексиламин, этаноламин, диэтанолламин, триэтанолламин, меглумин, этилендиамин, пиридин, пиколин, хинолин) или аминокислотами, или соли соединений по настоящему изобретению с неорганическими кислотами (например, хлористоводородной кислотой, серной кислотой, азотной кислотой, угольной кислотой, бромистоводородной кислотой, фосфорной кислотой, йодистоводородной кислотой) или органическими кислотами (например, муравьиной кислотой, уксусной кислотой, пропионовой кислотой, трифторуксусной кислотой, лимонной кислотой, молочной кислотой, винной кислотой, щавелевой кислотой, малеиновой кислотой, фумаровой кислотой, миндальной кислотой, глутаровой кислотой, яблочной кислотой, бензойной кислотой, фталевой кислотой, аскорбиновой кислотой, бензолсульфоновой кислотой, п-толуолсульфоновой кислотой, метансульфоновой кислотой, этансульфоновой кислотой). Эти соли можно получить обычными способами.

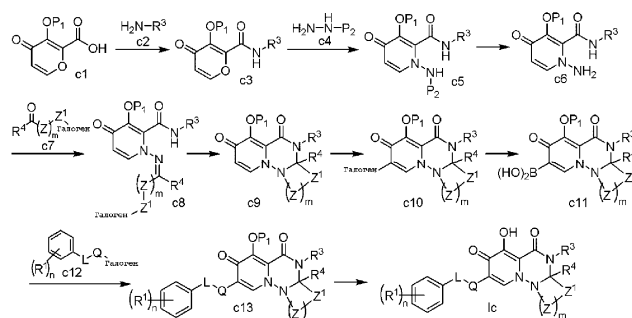
Способ получения соединения по настоящему изобретению

Соединение по настоящему изобретению можно получить, например, с использованием общих способов синтеза, показанных ниже. Способы экстракции, очистки и т.п. можно осуществить с использованием обычных экспериментов органической химии.

Соединение по настоящему изобретению можно синтезировать в соответствии с подходами, известными в данной области.

Способ 1.

Химическая формула 24



где P^1 представляет собой гидроксизащитную группу;

P^2 представляет собой аминозащитную группу;

Z представляет собой Z^2 , Z^3 , Z^4 или Z^5 ;

m представляет собой целое число от 1 до 4;

Hal представляет собой галоген; каждый из P^1 и P^2 может быть группой, которую можно защитить и/или снять защиту методом, описанным, например, в *Protective Groups in Organic Synthesis*, Theodora W Green (John Wiley & Sons Inc.), и, например, P^1 представляет собой ароматический карбоциклизалкил или т.п., а P^2 представляет собой алкилоксикарбонил или т.п.; и другие символы определены выше.

Стадия 1.

Соединение c3 можно получить путем добавления конденсирующего агента, такого как HATU, WSC-HCl или PyBOP, к соединению c1, которое может быть коммерчески доступным или получено известным способом, в присутствии растворителя, такого как DMF, DMA, NMP, THF, хлороформ или дихлорметан, добавляя к этому соединению c2, которое может быть коммерчески доступным или получено известным способом, и третичный амин, такой как триэтиламин, N-метилморфолин, пиридин или диизопропилэтиламин, и взаимодействия смеси при температуре 10-60°C, предпочтительно 20-40°C, в течение 0,1-24 ч, предпочтительно от 1 до 12 ч.

Стадия 2.

Соединение c5 можно получить путем добавления соединения c4, которое может быть коммерчески доступным или получено известным способом, и кислоты, такой как уксусная кислота, пиридиний п-толуолсульфонат, п-толуолсульфоновая кислота или метансульфоновая кислота, к соединению c3 в присутствии растворителя, такого как DMF, DMA или NMP, и взаимодействия смеси при температуре 20-120°C, предпочтительно 60-100°C, в течение 0,1-24 ч, предпочтительно от 1 до 12 ч.

Стадия 3.

Соединение c6 можно получить, подвергая соединение c5 известной общей реакции удаления аминозащитных групп.

Стадия 4.

Соединение с8 можно получить путем добавления соединения с7, которое может быть коммерчески доступным или получено известным способом, и кислоты, такой как уксусная кислота, п-толуолсульфоновая кислота или метансульфоновая кислота, к соединению с6 в присутствии растворителя, такого как дихлорметан, дихлорэтан, хлороформ, метанол, этанол, толуол, DMF, DMA или THF, и взаимодействия смеси при температуре 20-130°C, предпочтительно 20-100°C, в течение 0,1-24 ч, предпочтительно от 1 до 12 ч.

Стадия 5.

Соединение с9 можно получить путем добавления основания, такого как карбонат цезия или карбонат калия, и соли, такой как йодид натрия или йодид калия, к соединению с8 в присутствии растворителя, такого как DMF, DMA, NMP или THF, и взаимодействия смеси при температуре 0-60°C, предпочтительно 0-40°C, в течение 0,1-24 ч, предпочтительно от 1 до 12 ч.

Стадия 6.

И можно получить путем добавления галогенирующего реагента, такого как бром, NBS, NCS или NIS, к соединению с9 в растворителе, таком как дихлорметан, дихлорэтан, ацетонитрил или DMF, и, когда Hal представляет собой бром, осуществления взаимодействия смеси при температуре -30-50°C, предпочтительно -10-20°C, в течение 0,1-10 ч, предпочтительно 0,5-2 ч. Когда Hal представляет собой хлор или йод, соединение с10 можно получить взаимодействием смеси при температуре 10-150°C, предпочтительно 60-120°C, в течение 0,5-24 ч, предпочтительно 1-6 ч.

Стадия 7.

Соединение с11 можно получить путем добавления палладиевого катализатора, такого как Pd(PPh₃)₄, Pd(OAc)₂, Pd(PPh₃)₂Cl₂, Pd(dppf)₂Cl₂ или Pd(dtbpf), основания, такого как ацетат калия, ацетат натрия, карбонат калия или фосфат калия, и бис-(пинаcolato)дибора к соединению с10 в растворителе, таком как диоксан, DMF, DME, THF или DMSO или смешанный растворитель, и взаимодействия смеси при температуре 0-150°C, предпочтительно 60-120°C, в течение 0,5-24 ч, предпочтительно от 1 до 12 ч, в атмосфере азота.

Стадия 8.

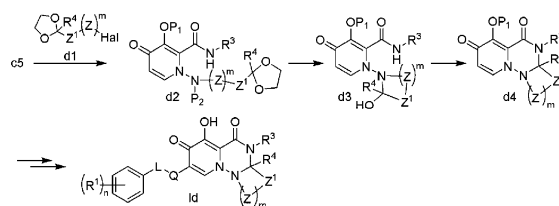
Соединение с13 можно получить путем добавления палладиевого катализатора, такого как Pd(PPh₃)₄, Pd(OAc)₂, Pd(PPh₃)₂Cl₂, Pd(dppf)₂Cl₂ или Pd(dtbpf), основания, такого как карбонат калия, карбонат натрия, карбонат цезия или фосфат калия, и соединения с12, которое является коммерчески доступным или получено известным способом, к соединению с11 в растворителе, таком как диоксан, DMF, DME, THF или вода или смешанный растворитель, и взаимодействия смеси при температуре 0-150°C, предпочтительно 60-120°C, в течение 0,5-24 ч, предпочтительно от 1 до 12 ч, в атмосфере азота.

Стадия 9.

Соединение Ic можно получить, подвергая соединение с13 известной общей реакции удаления гидроксизащитных групп.

Способ 2.

Химическая формула 25



где каждый символ имеет значение, определенное выше.

Стадия 1.

Соединение d2 можно получить путем добавления основания, такого как карбонат цезия, карбонат калия или триэтиламин, и соединения d1, которое может быть коммерчески доступным или получено известным способом, к соединению с5 в присутствии растворителя, такого как DMF, DMA, NMP или THF, дополнительного добавления к этой смеси, когда Hal представляет собой хлор, соли, такой как йодид натрия или йодид калия, и взаимодействия смеси при температуре 0-60°C, предпочтительно 20-40°C, в течение 0,1-24 ч, предпочтительно от 1-12 ч.

Стадия 2.

Соединение d3 можно получить, подвергая соединение d2 известной общей реакции удаления защитных групп ацеталей.

Стадия 3

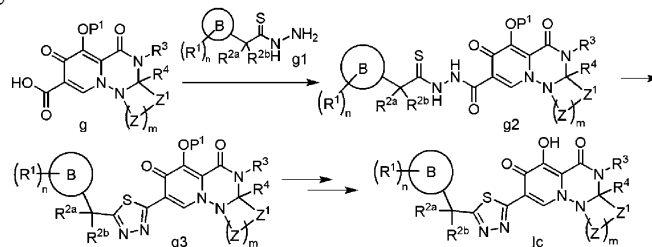
Соединение d4 можно получить путем добавления кислоты, такой как уксусная кислота, п-толуолсульфоновая кислота или мезиловая кислота, к соединению d3 в присутствии растворителя, такого как дихлорметан, дихлорэтан, хлороформ, метанол, этанол, толуол, DMF, DMA или THF, и взаимодействия смеси при температуре 20-130°C, предпочтительно 80-120°C, в течение 0,1-24 ч, предпочтительно от 1-12 ч.

Стадия 4.

Соединение Id можно синтезировать в соответствии со стадиями 6-9 способа 1, описанного выше.

Способ 3.

Химическая формула 26



где другие символы определены выше.

Стадия 1.

Соединение g2 можно получить путем добавления основания, такого как триэтиламин или диизопропилэтиламин и этилхлороформат, с образованием хлорангидрида кислоты, затем добавления соединения g1, которое может быть коммерчески доступным или получено известным способом, к соединению g в присутствии растворителя, такого как дихлорметан, дихлорэтан, хлороформ, DMF, DMA, NMP или THF, и взаимодействия смеси при температуре 0-60°C, предпочтительно 0-20°C, в течение 0,1-24 ч, предпочтительно от 1-12 ч.

Стадия 2.

Соединение g3 можно получить, давая кислоте, такой как ТЗР, трифторуксусная кислота, фосфорная, хлористоводородная кислота, серная кислота или бромистоводородная кислота, воздействовать на соединение g2 в присутствии растворителя, такого как этилацетат, дихлорметан, дихлорэтан, хлороформ, диоксан, DMF, DMA или THF, и осуществляя взаимодействие смеси при температуре 20-130°C, предпочтительно 60-100°C, в течение 0,1-24 ч, предпочтительно от 1-12 ч.

Стадия 3.

Соединение Ic можно синтезировать в соответствии со стадией 9 способа 1.

Полученное таким образом соединение настоящего изобретения может быть дополнительно химически модифицировано для синтеза другого соединения. Когда реакционноспособная функциональная группа (например, OH, COOH и NH₂) присутствует в группе боковой цепи или т.п. во время реакции, эту функциональную группу можно защитить до реакции и удалить защиту после реакции, если желательно.

Примеры защитных групп (аминозащитная группа, гидроксизащитная группа и т.д.) могут включать защитные группы, описанные, например, в *Protective Groups in Organic Synthesis*, T.W. Greene, John Wiley & Sons Inc. (1991), такие как этоксикарбонил, трет-бутоксикарбонил, ацетил и бензил. Способы введения и удаления защитных групп можно осуществлять способами, обычно используемыми в химии органического синтеза [см., например, *Protective Groups in Organic Synthesis*, T.W. Greene, John Wiley & Sons Inc. (1991)] или эквивалентными им способами. Преобразование функциональной группы, содержащейся в каждом заместителе, также можно осуществить известным способом [например, *Comprehensive Organic Transformations*, R.C. Larock (1989)], не считая способов получения, описанных выше. Некоторые соединения по настоящему изобретению могут быть дополнительно преобразованы в новые производные с использованием соединений в качестве промежуточных продуктов для синтеза. Промежуточное соединение и представляющее интерес соединение в каждом способе получения, описанном выше, можно подвергнуть очистки способом, обычно используемым в химии органического синтеза, например путем нейтрализации, фильтрования, экстракции, промывки, сушки, концентрирования, перекристаллизации или различными хроматографическими методами, и таким образом их можно выделить или очистить. Альтернативно, промежуточное соединение можно подвергнуть следующей реакции без дополнительной очистки, в частности.

Соединение по настоящему изобретению полезно в качестве лекарственного средства, например, противовирусного лекарственного средства. Соединение по настоящему изобретению оказывает заметное ингибирующее действие на интегразу вируса. Соответственно, можно ожидать, что соединение по настоящему изобретению будет иметь профилактический или терапевтический эффект в отношении различных заболеваний, вызываемых вирусами, которые растут путем продуцирования, по меньшей мере, интегразы во время инфицирования в клетках животных, и может быть полезным, например, в качестве ингибитора интегразы ретровируса (например, HIV-1, HIV-2, HTLV-1, SIV или FIV) и в качестве лекарственного средства против ВИЧ. Предпочтительное соединение также имеет следующие фармакокинетические характеристики в организме: высокая концентрация в крови; большая длительность эффекта; замечательная транзитивность к тканям; и/или т.п. Кроме того, предпочтительное соединение безопасно, что касается побочных эффектов (например, ингибирования ферментов CYP, мутагенности, удлинения интервала QT на электрокардиограмме и аритмии).

Соединение по настоящему изобретению также можно использовать в комбинированной терапии с

лекарственным средством против ВИЧ, имеющим другой механизм действия, таким как ингибитор обратной транскриптазы, ингибитор протеазы и/или ингибитор проникновения в клетку.

Описанное выше применение включает не только применение в виде анти-ВИЧ комбинации, но и применение в качестве сопутствующего средства, которое повышает анти-ВИЧ активность другого лекарственного средства против ВИЧ, например, в коктейльной терапии или т.п.

Соединение по настоящему изобретению можно использовать для предотвращения распространения инфекции ретровирусным вектором на ткани, отличные от представляющей интерес ткани, когда ретровирусный вектор на основе ВИЧ или MLV используют в области генной терапии. В частности, когда клетки или т.п. инфицируют вектором *in vitro* и возвращают в организм, предварительное введение соединения по настоящему изобретению может предотвратить ненужное инфицирование организма.

Фармацевтическую композицию по настоящему изобретению можно вводить перорально или парентерально. Способы для парентерального введения включают кожное, подкожное, внутривенное, внутриартериальное, внутримышечное, интраперитонеальное, трансмукозальное, ингаляцию, трансназальное, офтальмологическое, внутриушное или вагинальное введение и т.д.

В случае перорального введения, любые композиции, которые обычно используют, такие как твердые пероральные композиции (например, таблетки, порошки, гранулы, капсулы, пилюли, пленки или т.п.), жидкие пероральные композиции (например, суспензии, эмульсии, эликсир, сироп, лимонад, спирт, ароматическая вода, экстракт, отвар, настойка или т.п.) и т.д. можно получить и вводить обычным способом. Таблетки могут представлять собой таблетки с сахарным покрытием, таблетки с пленочным покрытием, таблетки с энтеросолюбильным покрытием, таблетки с замедленным высвобождением, таблетки-пастилки, сублингвальные таблетки, буккальные таблетки, жевательные таблетки или распадающиеся во рту таблетки. Порошки и гранулы могут быть сухими сиропами. Капсулы могут быть мягкими капсулами, микрокапсулами или капсулами с замедленным высвобождением.

В случае парентерального введения можно подходящим образом вводить любые композиции, которые обычно используют, такие как инъекции, капельницы, препараты для наружного применения (например, глазные капли, капли для носа, ушные капли, аэрозоли, ингаляции, лосьон, настой, линимент, жидкость для полоскания рта, клизма, мазь, повязка, желе, крем, пластырь, горячий компресс, порошок для наружного применения, суппозиторий или т.п.) и т.д. Инъекции могут представлять собой эмульсии типа м/в, в/м, м/в/м, в/м/в или т.п.

Фармацевтическую композицию можно получить путем смешивания эффективного количества соединения по настоящему изобретению с различными фармацевтическими добавками, подходящими для композиции, такими как эксципиенты, связующие вещества, дезинтегранты, смазывающие вещества и т.д., при необходимости. Кроме того, фармацевтическая композиция может быть предназначена для педиатрических пациентов, гериатрических пациентов, серьезных случаев или операций путем соответствующего изменения эффективного количества соединения по настоящему изобретению, состава и/или различных фармацевтических добавок. Например, педиатрическую фармацевтическую композицию можно вводить новорожденным (менее 4 недель после рождения), младенцам (от 4 недель после рождения до 1 года), малышам (от 1 года до 7 лет), детям (от 7 до 15 лет) или пациентам от 15 до 18 лет. Например, гериатрическую фармацевтическую композицию вводят пациентам в возрасте 65 лет и старше.

Хотя доза фармацевтической композиции по настоящему изобретению должна определяться с учетом возраста и массы тела пациента, типа и степени заболевания, способа введения и т.п., обычная пероральная доза находится в диапазоне от 0,05 до 100 мг/кг/день и предпочтительно 0,1-10 мг/кг/день. Для парентерального введения, доза сильно различается в зависимости от пути введения и обычно находится в диапазоне от 0,005 до 10 мг/кг/день, предпочтительно 0,01-1 мг/кг/день. Эту дозу можно вводить от одного раза в день до одного раза в месяц или один раз в три месяца.

Примеры

Далее будут описаны примеры.

Аббревиатуры.

Bn: бензил,

DMA: диметилацетамид,

DME: диметоксиэтан,

DMF: диметилформамид,

DMSO: диметилсульфоксид,

HATU: O-(7-азабензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилурионий гексафторфосфат,

NBS: N-бромсукцинимид,

NCS: N-хлорсукцинимид,

NIS: N-йодсукцинимид,

NMP: N-метилпирролидон,

RuBOP: (бензотриазол-1-илокси)трипирролидинофосфоний гексафторфосфат,

THF: тетрагидрофуран,

WSC·HCl: 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимид гидрохлорид.

Данные ЯМР в каждом примере были получены при 300 или 400 МГц, а измерение осуществляли с

использованием DMSO-d₆ или CDCl₃. Иногда не все обнаруженные пики отображены в данных ЯМР.

В примерах "№" означает номер соединения, "Структура" означает химическую структуру и "МС" означает молекулярную массу в ЖХ/МС (жидкостная хроматография/масс-спектрометрия).

Условия измерений.

А. Колонка: ACQUITY UPLC(R) BEH C18 (1,7 мкм, внутренний диаметр 2,1×50 мм) (Waters Corp.).

Скорость потока: 0,8 мл/мин; длина волны УФ-детекции: 254 нм.

Подвижная фаза: А: водный раствор, содержащий 0,1% муравьиной кислоты; В: раствор ацетонитрила, содержащий 0,1% муравьиной кислоты.

Линейный градиент от 5 до 100% растворителя В за 3,5 мин, а затем 100% растворителя В поддерживали в течение 0,5 мин.

В. Колонка: Shim-pack XR-ODS (2,2 мкм, внутренний диаметр 50×3,0 мм) (Shimadzu Corp.).

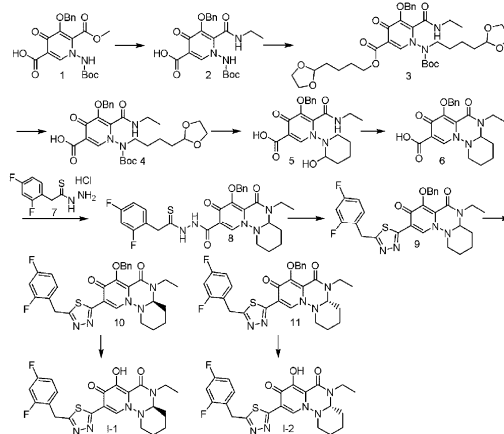
Скорость потока: 1,6 мл/мин; длина волны УФ-детекции: 254 нм.

Подвижная фаза: А: водный раствор, содержащий 0,1% муравьиной кислоты; В: раствор ацетонитрила, содержащий 0,1% муравьиной кислоты.

Градиент: линейный градиент от 10 до 100% растворителя В за 3 мин, и 100% растворителя В поддерживали в течение 0,5 мин.

Пример 1.

Химическая формула 27



Стадия 1.

К соединению 1 (1,50 г, 3,59 ммоль) добавляли 2 моль/л раствор этиламина в метаноле (17,9 мл, 35,9 ммоль) и смесь перемешивали при 100°C в течение 1 ч при микроволновом облучении. Растворитель из реакционного раствора отгоняли при пониженном давлении. Затем остаток подкисляли добавлением разбавленной хлористоводородной кислоты с последующей экстракцией этилацетатом. Органический слой сушили над сульфатом натрия и затем осуществляли отгонку растворителя. Полученный остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (хлороформ-метанол) с получением соединения 2 (1,15 г, выход: 74%).

¹H-ЯМР (CDCl₃) δ: 14,53 (с, 1H), 8,64 (шир.с, 1H), 8,46 (с, 1H), 7,37 (м, 5H), 6,57 (шир.с, 1H), 5,38 (с, 2H), 3,24 (дт, J=14,0, 6,6 Гц, 2H), 1,45 (с, 9H), 1,02 (т, J=7,3 Гц, 4H).

Стадия 2.

К раствору соединения 2 (3 г, 6,95 ммоль) в DMF (60 мл) добавляли карбонат калия (2,02 г, 14,6 ммоль) и 2-(4-бромбутил)-1,3-диоксолан (2,53 мл, 16,7 ммоль) и смеси давали прореагировать в течение ночи при комнатной температуре. Реакционный раствор нейтрализовали 1 моль/л раствором хлористоводородной кислоты с последующей экстракцией этилацетатом. Органический слой промывали водой и насыщенным соевым раствором, сушили над сульфатом натрия, затем осуществляли отгонку растворителя с получением соединения 3.

МС: m/z=688 [M+H]⁺.

Стадия 3.

К раствору соединения 3 в THF (47,8 мл) добавляли 2 моль/л водный раствор гидроксида натрия (17,38 мл, 139 ммоль) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционный раствор нейтрализовали добавлением 2 моль/л хлористоводородной кислоты маленькими порциями, с последующей экстракцией этилацетатом. Органический слой промывали насыщенным соевым раствором, сушили над сульфатом натрия, затем осуществляли отгонку растворителя при пониженном давлении с получением соединения 4.

МС: m/z=560 [M+H]⁺.

Стадия 4.

К раствору соединения 4 в 1,4-диоксане (5 мл) добавляли 4 моль/л раствор хлористого водорода (раствор в 1,4-диоксане, 34,8 мл, 139 ммоль) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение

ние 1 ч. Осуществляли отгонку растворителя из реакционного раствора. К остатку добавляли толуол и снова осуществляли отгонку растворителя с получением соединения 5.

МС: $m/z=416$ $[M+H]^+$.

Стадия 5.

К раствору соединения 5 в толуоле (50 мл) добавляли несколько капель уксусной кислоты и смесь перемешивали при 110°C в течение 30 мин. Осуществляли отгонку растворителя из реакционного раствора и полученный остаток отверждали из смеси этанол/изопропиловый эфир с получением соединения 6 (2,44 г, выход за 4 стадии: 88%).

^1H -ЯМР (CDCl_3) δ : 15,1 (с, 1H), 8,48 (с, 1H), 7,57-7,55 (м, 2H), 7,36-7,29 (м, 3H), 5,53 (д, $J=10,4$ Гц, 1H), 5,36 (д, $J=10,4$ Гц, 1H), 4,93-4,91 (м, 1H), 4,20 (тд, $J=21,6$, 7,2 Гц, 1H), 3,24-3,02 (м, 3H), 2,28-1,73 (м, 5H), 1,41-1,31 (м, 1H), 1,18 (т, $J=7,2$ Гц, 3H).

Стадия 6.

К раствору соединения 6 (300 мг, 0,755 ммоль) в дихлорметане (3 мл) добавляли триэтиламин (0,419 мл, 3,02 ммоль) и этилхлороформат (90,0 мг, 0,830 ммоль) при 0°C и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. К реакционному раствору добавляли соединение 7 (216 мг, 0,906 ммоль) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакционный раствор концентрировали и полученный остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (хлороформ-метанол) с получением соединения 8 (466 мг, выход: 100%).

МС: $m/z=582$ $[M+H]^+$.

Стадия 7.

К раствору соединения 8 (439 мг, 0,755 ммоль) в этилацетате (6 мл) добавляли 50% раствор ТЗР в этилацетате (2,25 мл, 7,55 ммоль) и смесь перемешивали при 100°C в течение 1 ч. К реакционному раствору добавляли насыщенный водный раствор бикарбоната натрия с последующей экстракцией этилацетатом. Органический слой промывали водой и сушили над сульфатом натрия и затем осуществляли отгонку растворителя. Полученный остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (хлороформ-метанол) с получением соединения 9 (300 мг, выход: 71%), которое представляло собой рацемическую смесь.

^1H -ЯМР (CDCl_3) δ : 8,80 (с, 1H), 7,60 (м, 2H), 7,34-7,27 (м, 4H), 6,85 (т, $J=8,9$ Гц, 2H), 5,55 (д, $J=10,3$ Гц, 1H), 5,33 (д, $J=10,4$ Гц, 1H), 4,97 (м, 1H), 4,46 (с, 2H), 4,40 (м, 1H), 3,23 (м, 1H), 3,10-3,03 (м, 2H), 2,24 (м, 1H), 2,02 (м, 1H), 1,89 (м, 2H), 1,72 (м, 1H), 1,42 (м, 1H), 1,17 (т, $J=7,2$ Гц, 3H).

Стадия 8.

Соединение 9 подвергали оптическому разделению методом SFC (сверхкритическая флюидная хроматография) с получением соединения 10 и 11.

Колонка: CHIRALPAK IA/SFC (5 мкм, внутренний диаметр 250×20 мм).

Скорость потока: 20 мл/мин.

Длина волны УФ-детекции: 220 нм.

Условия фракционирования: поддерживали композиционное соотношение $\text{MeOH}/\text{CO}_2=65/35$ и раствор подавали в течение 25 мин.

Стадия 9.

Соединение 11 (110 мг, 0,195 ммоль) растворяли в DMF (1,1 мл). К раствору добавляли хлорид лития (83,0 мг, 1,95 ммоль) и смесь перемешивали при 90°C в течение 2 ч. К реакционному раствору добавляли воду и смесь подкисляли 10% водным раствором лимонной кислоты, с последующей экстракцией этилацетатом. Органический слой промывали водой и сушили над сульфатом натрия и затем осуществляли отгонку растворителя. Полученный неочищенный продукт отверждали из диэтилового эфира с получением соединения I-2 (63 мг, выход: 68%).

МС: $m/z=474$ $[M+H]^+$.

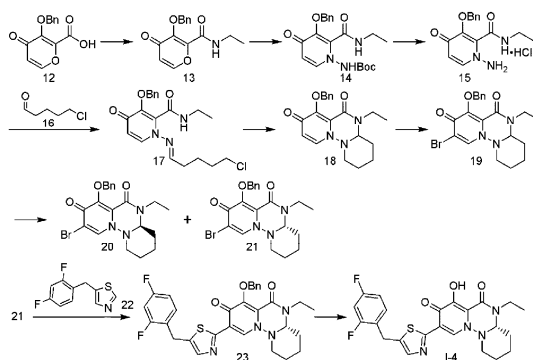
^1H -ЯМР (CDCl_3) δ : 12,04 (с, 1H), 8,73 (с, 1H), 7,31 (м, 1H), 6,84 (т, $J=8,6$ Гц, 2H), 5,14 (с, 1H), 4,45 (с, 2H), 4,36 (м, 1H), 3,26-3,04 (м, 3H), 2,33 (д, $J=14,9$ Гц, 1H), 2,08 (т, $J=14,7$ Гц, 1H), 1,91 (м, 3H), 1,42 (м, 1H), 1,24 (т, $J=7,2$ Гц, 3H).

Соединение 10 также подвергали таким же реакционным условиям, как описано выше, с получением соединения I-1.

МС: $m/z=474$ $[M+H]^+$.

Пример 2.

Химическая формула 28



Стадия 1.

Раствор соединения 12 (12 г, 48,7 ммоль) в DMF (60 мл) охлаждали до 0°C. К этому добавляли HOBt (7,9 г, 58,5 ммоль), EDC (11,2 г, 58,5 ммоль), триэтиламин (8,1 мл, 58,5 ммоль) и этиламингидрохлорид (4,8 г, 58,5 ммоль) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. К реакционному раствору добавляли воду, с последующей экстракцией этилацетатом. Органический слой промывали насыщенным соевым раствором и сушили над безводным сульфатом натрия и затем осуществляли отгонку растворителя при пониженном давлении. Полученное твердое вещество суспендировали в изопропиловом эфире и собирали фильтрацией с получением соединения 13 (10,7 г, выход: 80%).

^1H -ЯМР (CDCl_3) δ : 7,84 (д, $J=5,8$ Гц, 1H), 7,69 (с, 1H), 7,41-7,39 (м, 5H), 6,49 (д, $J=5,5$ Гц, 1H), 5,41 (с, 2H), 3,29-3,26 (м, 2H), 0,97 (т, $J=7,3$ Гц, 3H).

Стадия 2.

Соединение 13 (10 г, 36,6 ммоль) растворяли в DMA (100 мл). К раствору добавляли п-толуолсульфонат пиридиния (27,6 г, 109,8 ммоль) и затем смесь нагревали до 60°C. К реакционному раствору добавляли *t*-Bu карбазат (8,7 г, 65,9 ммоль) 6 отдельными порциями с 1-часовыми интервалами. Реакционному раствору давали остыть до комнатной температуры, затем подщелачивали добавлением 1 моль/л водного раствора гидроксида натрия и промывали диэтиловым эфиром. Водный слой подкисляли добавлением 2 моль/л хлористоводородной кислоты, с последующей экстракцией этилацетатом. Органический слой промывали насыщенным соевым раствором и сушили над безводным сульфатом натрия и затем осуществляли отгонку растворителя при пониженном давлении. Полученное твердое вещество промывали смесью этилацетат/диизопропиловый эфир с получением соединения 14 (6,3 г, выход: 44%).

^1H -ЯМР (CDCl_3) δ : 8,31 (шир.с, 1H), 7,36-7,34 (м, 6H), 6,59 (с, 1H), 6,40 (д, $J=8,0$ Гц, 1H), 5,32 (с, 2H), 3,21-3,17 (м, 2H), 1,43 (с, 9H), 0,99 (т, $J=7,3$ Гц, 3H).

Стадия 3.

Соединение 14 (0,5 г, 1,3 ммоль) растворяли в 4 моль/л растворе хлористого водорода в этилацетате (5 мл) и раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением соединения 15 в виде неочищенного продукта.

МС: $m/z=288$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Стадия 4.

Неочищенный продукт (0,13 г) соединения 15 растворяли в дихлорметане (1 мл). К раствору добавляли соединение 16 (46,2 мг, 0,38 ммоль) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Растворитель отгоняли из реакционного раствора при пониженном давлении. Полученный остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (хлороформ-метанол) с получением соединения 17 (0,13 г, выход: 96%).

МС: $m/z=390$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Стадия 5.

Соединение 17 (0,13 г, 33,3 ммоль) растворяли в DMF (1,0 мл). К раствору добавляли карбонат цезия (0,34 г, 1,0 ммоль) и йодид натрия (0,16 г, 1,0 ммоль) и смесь перемешивали в течение ночи при 50°C. К реакционному раствору добавляли этилацетат. Полученное твердое вещество отфильтровывали и растворитель отгоняли при пониженном давлении. Полученный частично очищенный продукт очищали колоночной хроматографией на силикагеле (хлороформ-метанол) с получением соединения 18 (52 мг, выход: 44%).

^1H -ЯМР (CDCl_3) δ : 7,60 (д, $J=7,0$ Гц, 2H), 7,32-7,28 (м, 4H), 6,40 (д, $J=7,5$ Гц, 1H), 5,48 (д, $J=10,5$ Гц, 1H), 5,27 (д, $J=10,5$ Гц, 1H), 4,88-4,90 (м, 1H), 4,43-4,39 (м, 1H), 3,12-2,97 (м, 3H), 2,24-2,20 (м, 1H), 1,98-1,91 (м, 1H), 1,83-1,80 (м, 2H), 1,71-1,67 (м, 1H), 1,40-1,38 (м, 1H), 1,14 (т, $J=7,0$ Гц, 3H).

Стадия 6.

Раствор соединения 18 (1,0 г, 2,8 ммоль) в дихлорметане (10 мл) охлаждали до 0°C. К этому добавляли NBS (0,56 г, 3,1 ммоль) и смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Осуществляли отгонку растворителя из реакционного раствора при пониженном давлении. Полученный оста-

ток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (хлороформ-метанол) с получением соединения 19 (1,4 г, выход: 93%).

^1H -ЯМР (CDCl_3) δ : 7,83 (с, 1H), 7,64 (д, $J=7,0$ Гц, 2H), 7,34-7,27 (м, 3H), 5,48 (д, $J=10,3$ Гц, 1H), 5,26 (д, $J=10,3$ Гц, 1H), 4,92-4,90 (м, 1H), 4,43-4,39 (м, 1H), 3,20-3,14 (м, 1H), 3,05-2,98 (м, 2H), 2,26-2,22 (м, 1H), 1,97-1,94 (м, 1H), 1,84-1,82 (м, 2H), 1,73-1,69 (м, 1H), 1,41-1,39 (м, 1H), 1,16 (т, $J=7,2$ Гц, 3H).

Стадия 7.

Соединение 19 подвергали оптическому разделению методом SFC с получением соединения 20 и 21.

Колонка: CHIRALPAK IB/SFC (5 мкм, внутренний диаметр 250×20 мм).

Скорость потока: 30 мл/мин.

Длина волны УФ-детекции: 220 нм.

Условия фракционирования: поддерживали композиционное соотношение $\text{MeOH}/\text{CO}_2=35/65$ и раствор подавали в течение 21 мин.

Стадия 8.

Соединение 21 (250 мг, 0,58 ммоль) растворяли в толуоле. К раствору добавляли соединение 22 (183 мг, 0,87 ммоль), $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (13,0 мг, 0,06 ммоль), 2-дициклогексилфосфино-2'-(N,N-диамино)бифенил (46 мг, 0,12 ммоль) и карбонат цезия (565 мг, 1,7 ммоль), сосуд герметично закрывали и смесь перемешивали при 140°C в течение 2 ч. Реакционной смеси давали остыть до комнатной температуры и нерастворенное вещество удаляли фильтрованием через целит. Растворитель отгоняли при пониженном давлении. Полученный остаток частично очищали колоночной хроматографией на силикагеле (гексан-этилацетат) и очищали на обращенной фазе с получением соединения 23 (40 мг, выход: 12%).

^1H -ЯМР (CDCl_3) δ : 8,63 (с, 1H), 7,64-7,61 (м, 3H), 7,34-7,19 (м, 4H), 6,83-6,79 (м, 2H), 5,58 (д, $J=10,3$ Гц, 1H), 5,33 (д, $J=10,3$ Гц, 1H), 4,96-4,94 (м, 1H), 4,44-4,40 (м, 1H), 4,19 (с, 2H), 3,22-3,18 (м, 1H), 3,09-3,02 (м, 2H), 2,27-2,23 (м, 1H), 2,01-1,97 (м, 1H), 1,86-1,84 (м, 2H), 1,74-1,70 (м, 1H), 1,43-1,40 (м, 1H), 1,17 (т, $J=7,0$ Гц, 3H).

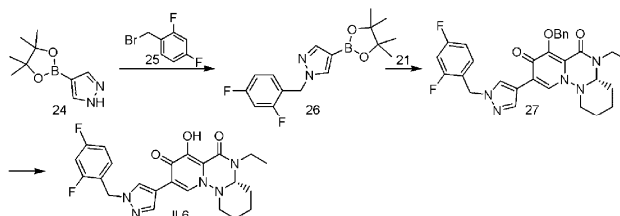
Стадия 9.

Соединение 23 (40 мг, 0,071 ммоль) подвергали таким же реакционным условиям, как описано на стадии 9 примера 1, с получением соединения I-4 (22 мг, выход: 67%).

^1H -ЯМР (CDCl_3) δ : 11,81 (шир.с, 1H), 8,59 (с, 1H), 7,54 (с, 1H), 7,20-7,18 (м, 1H), 6,83-6,78 (м, 2H), 5,11-5,09 (м, 1H), 4,40-4,31 (м, 1H), 4,18 (с, 2H), 3,24-3,02 (м, 3H), 2,34-2,29 (м, 1H), 2,09-2,01 (м, 1H), 1,90-1,85 (м, 2H), 1,78-1,74 (м, 1H), 1,46-1,36 (м, 1H), 1,23 (т, $J=7,0$ Гц, 3H).

Пример 3.

Химическая формула 29



Стадия 1.

К раствору соединения 24 (528 мг, 2,10 ммоль) в THF (5,0 мл) добавляли гидрид натрия (60 мас.%, 135 мг, 3,38 ммоль) при 0°C и смесь перемешивали при 0°C в течение 10 мин. К реакционному раствору добавляли соединение 25 (500 мг, 2,415 ммоль), температуру смеси повышали до комнатной температуры и оставляли для взаимодействия в течение ночи. К реакционному раствору добавляли воду с последующей экстракцией этилацетатом. Органический слой промывали насыщенным солевым раствором и сушили над безводным сульфатом натрия и затем осуществляли отгонку растворителя. Полученный остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (гексан-этилацетат) с получением соединения 26 (517 мг, выход: 67%).

МС: $m/z=321$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Стадия 2.

Соединение 26 (89 мг, 0,278 ммоль), соединение 21 (60 мг, 0,139 ммоль), карбонат цезия (68 мг, 0,208 ммоль) и тетракистрифенилфосфин палладий (16 мг, 0,014 ммоль) растворяли в диоксане (1,8 мл) и смеси давали прореагировать при 90°C в течение 7 ч. К реакционному раствору добавляли воду с последующей экстракцией этилацетатом. Органический слой промывали насыщенным солевым раствором и сушили над безводным сульфатом натрия и затем осуществляли отгонку растворителя. Полученный остаток частично очищали колоночной хроматографией на силикагеле (этилацетат-метанол).

МС: $m/z=546$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Стадия 3.

Соединение II-6 получали способом, аналогичным стадии 9 примера 1.

^1H -ЯМР (CDCl_3) δ : 8,66 (с, 1H), 7,77 (с, 1H), 7,72 (с, 1H), 7,20-7,15 (м, 1H), 6,86-6,80 (м, 2H), 5,35 (с,

2H), 5,08 (с, 1H), 4,40-4,30 (м, 1H), 3,20-2,95 (м, 3H), 2,35-2,25 (м, 1H), 2,01-1,40 (м, 6H), 1,22 (т, J=7,2 Гц, 3H).

Следующие соединения также синтезировали таким же путем, как описано выше.

Таблица 1

№	Структура	№	Структура
I-003		I-013	
I-005		I-014	
I-006		II-001	
I-007		II-002	
I-008		II-003	
I-009		II-004	
I-010		II-005	
I-011		II-007	
I-012		II-008	

Таблица 2

№	Структура	№	Структура
II-009		II-017	
II-010		II-018	
II-011		II-019	
II-012		II-020	
II-013		II-021	
II-014		II-022	
II-015		II-023	
II-016		II-024	

Таблица 3

№	Структура	№	Структура
II-025		II-033	
II-026		II-034	
II-027		II-035	
II-028		II-036	
II-029		II-037	
II-030		II-038	
II-031		II-039	
II-032		II-040	

Таблица 4

№	Структура	№	Структура
II-041		II-049	
II-042		II-050	
II-043		II-051	
II-044		II-052	
II-045		II-053	
II-046		II-054	
II-047		II-055	
II-048		II-056	

Таблица 5

№	Структура	№	Структура
II-057		II-064	
II-058		II-065	
II-059		II-066	
II-060		II-067	
II-061		II-068	
II-062		II-069	
II-063			

Физические данные по каждому соединению будут показаны ниже.

Таблица 6

№	МС	Заряд	№	МС	Заряд	№	МС	Заряд	№	МС	Заряд	№	МС	Заряд
I-001	474	M+H	II-004	478	M+H	II-021	474	M+H	II-038	486	M+H	II-055	486	M+H
I-002	474	M+H	II-005	456	M+H	II-022	474	M+H	II-039	494	M+H	II-056	489	M+H
I-003	473	M+H	II-006	456	M+H	II-023	474	M+H	II-040	494	M+H	II-057	506	M+H
I-004	473	M+H	II-007	472	M+H	II-024	504	M+H	II-041	474	M+H	II-058	492	M+H
I-005	490	M+H	II-008	472	M+H	II-025	492	M+H	II-042	492	M+H	II-059	502	M+H
I-006	490	M+H	II-009	462	M+H	II-026	492	M+H	II-043	474	M+H	II-060	520	M+H
I-007	492	M+H	II-010	462	M+H	II-027	492	M+H	II-044	506	M+H	II-061	506	M+H
I-008	492	M+H	II-011	480	M+H	II-028	460	M+H	II-045	520	M+H	II-062	518	M+H
I-009	490	M+H	II-012	480	M+H	II-029	460	M+H	II-046	520	M+H	II-063	504	M+H
I-010	490	M+H	II-013	473	M+H	II-030	478	M+H	II-047	502	M+H	II-064	508	M+H
I-011	492	M+H	II-014	473	M+H	II-031	478	M+H	II-048	502	M+H	II-065	508	M+H
I-012	492	M+H	II-015	476	M+H	II-032	474	M+H	II-049	484	M+H	II-066	488	M+H
I-013	492	M+H	II-016	476	M+H	II-033	531	M+H	II-050	484	M+H	II-067	488	M+H
I-014	492	M+H	II-017	494	M+H	II-034	474	M+H	II-051	500	M+H	II-068	506	M+H
II-001	476	M+H	II-018	494	M+H	II-035	506	M+H	II-052	518	M+H	II-069	478	M+H
II-002	476	M+H	II-019	458	M+H	II-036	506	M+H	II-053	534	M+H			
II-003	460	M+H	II-020	458	M+H	II-037	522	M+H	II-054	534	M+H			

Примеры биологических испытаний для соединения по настоящему изобретению описаны ниже.

Соединение по настоящему изобретению может быть любым соединением, которое существенно ингибирует интегразу вируса.

В частности, в способах оценки, описанных ниже, EC_{50} предпочтительно составляет 100 нМ или менее, более предпочтительно 10 нМ или менее, еще более предпочтительно 5 нМ.

Пример испытания 1. Активность против ВИЧ.

Серийные разведения испытываемого образца получали в 96-луночном микропланшете (50 мкл/лунка). $2,5 \times 10^5$ клеток/мл суспензии клеток МТ-4 распределяли при 100 мкл/лунка в планшет, содержащий испытываемый образец. Затем раствор вируса ВИЧ распределяли при 50 мкл/лунка. Планшет перемешивали при помощи миксера для планшетов и культивировали в течение 4 дней в инкубаторе с CO_2 . Раствор МТТ (3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолий бромид) распределяли при 30 мкл/лунка. Планшету давали прореагировать в течение 1 ч в инкубаторе с CO_2 . 150 мкл супернатанта удаляли из каждой лунки, чтобы не захватить клетки. 150 мкл раствора для лизиса клеток добавляли в каждую лунку и хорошо перемешивали при помощи миксера для планшетов до полного лизиса клеток. После перемешивания в планшете измеряли оптическую плотность при двух длинах волн 560 и 690 нм, используя микропланшетный ридер. Концентрацию, ингибирующую 50% ВИЧ (EC_{50}), определяли по

кривой зависимости от концентрации с использованием следующей модели четырехпараметрической логистической кривой.

$$y = A + ((B - A) / (1 + (C/x)^D))$$

где A=минимальный процент ингибирования (отрицательный контроль, 0%);

B=максимальный процент ингибирования (положительный контроль, 100%);

C=концентрация соединения в точке перегиба;

D=коэффициент наклона;

x=концентрация соединения;

y=процент ингибирования (%).

Результаты.

Таблица 7

№	EC50 нМ	№	EC50 нМ	№	EC50 нМ	№	EC50 нМ	№	EC50 нМ	№	EC50 нМ
I-001	3.40	II-001	4.30	II-015	1.60	II-029	0.66	II-043	3.50	II-057	1.70
I-002	3.20	II-002	1.60	II-016	0.19	II-030	1.40	II-044	1.40	II-058	0.69
I-003	7.10	II-003	0.62	II-017	1.10	II-031	0.13	II-045	2.00	II-059	1.00
I-004	3.20	II-004	0.70	II-018	0.52	II-032	0.13	II-046	0.60	II-060	2.70
I-005	3.20	II-005	9.70	II-019	2.10	II-033	1.70	II-047	1.40	II-061	1.80
I-006	2.70	II-006	3.70	II-020	0.70	II-034	0.13	II-048	0.74	II-062	5.20
I-007	2.20	II-007	14.00	II-021	2.60	II-035	0.28	II-049	1.60	II-063	0.60
I-008	1.60	II-008	4.50	II-022	0.67	II-036	2.00	II-050	0.66	II-064	0.73
I-009	7.20	II-009	1.30	II-023	1.20	II-037	0.62	II-051	0.66	II-065	0.37
I-010	3.80	II-010	1.30	II-024	0.13	II-038	0.13	II-052	0.66	II-066	1.10
I-011	5.00	II-011	0.50	II-025	0.90	II-039	3.80	II-053	1.30	II-067	0.30
I-012	4.80	II-012	0.25	II-026	0.39	II-040	1.30	II-054	1.00	II-068	1.20
I-013	3.00	II-013	32.00	II-027	1.90	II-041	0.25	II-055	0.14	II-069	0.24
I-014	1.30	II-014	61.00	II-028	0.13	II-042	0.20	II-056	0.76		

Приведенные выше результаты испытаний показали, что соединение по настоящему изобретению обладает высокой активностью против ВИЧ и, следовательно, полезно в качестве лекарственного средства против ВИЧ.

Пример испытания 2. Испытание для оценки резистентности.

Серийные разведения испытываемого образца получали в 96-луночном микропланшете (50 мкл/лунка). $2,5 \times 10^5$ клеток/мл суспензии клеток HeLa-CD4 распределяли при 100 мкл/лунка в планшет, содержащий испытываемый образец. Затем раствор вируса ВИЧ (дикий штамм и мутантный штамм) распределяли при 50 мкл/лунка. Планшет перемешивали при помощи миксера для планшетов и культивировали в течение 3 дней в инкубаторе с CO₂. Культуральный супернатант из каждой лунки удаляли отсасыванием. Буфер для лизиса клеток в наборе для репортерного анализа распределяли при 100 мкл/лунка и планшет замораживали в морозильной камере (-80°C). Планшет, замороженный в морозильной камере, размораживали при комнатной температуре, затем перемешивали миксером для планшетов и центрифугировали при 1200 об/мин в течение 5 мин. Супернатант каждой лунки распределяли при 20 мкл/лунка в 96-луночный микропланшет (ЧЕРНЫЙ). Хемилиуминесцентный реагент в наборе для репортерного анализа распределяли при 100 мкл/лунка и подвергали взаимодействию при комнатной температуре в течение приблизительно 1 ч. Затем интенсивность люминесценции измеряли с использованием MicroBeta TRILUX. Концентрацию, ингибирующую 50% ВИЧ (EC₅₀), определяли по кривой зависимости от концентрации с использованием следующей модели четырехпараметрической логистической кривой.

$$y = A + ((B - A) / (1 + (C/x)^D))$$

где A=минимальный процент ингибирования (отрицательный контроль, 0%);

B=максимальный процент ингибирования (положительный контроль, 100%);

C=концентрация соединения в точке перегиба;

D=коэффициент наклона;

x=концентрация соединения;

y=процент ингибирования (%).

Степень резистентности (кратное изменение (FC)) каждого мутантного штамма рассчитывали в соответствии со следующим выражением. FC=EC₅₀ мутантного штамма/EC₅₀ дикого штамма.

Результаты.

FC для мутантного штамма 1 (E138K/G140S/Q148H/N155H) и FC для мутантного штамма 2 (E92Q/E138T/G140S/Q148H) показаны в таблице.

Таблица 8

№	Мутантный штамм 1	Мутантный штамм 2	№	Мутантный штамм 1	Мутантный штамм 2	№	Мутантный штамм 1	Мутантный штамм 2
I-002	5.6	7.5	II-037	10	11	II-055	15	11
I-008	3.8	6.9	II-038	20	31	II-056	5.9	8.8
I-012	23	46	II-041	5.8	8	II-057	3	3.6
II-003	8.8	12	II-043	6.8	11	II-058	6.1	6.1
II-010	25	22	II-044	11	26	II-061	5.1	7.3
II-018	15	20	II-046	17	20	II-062	8.3	6.6
II-023	4.1	2.5	II-048	7.9	19	II-063	14	12
II-024	8.2	11	II-050	20	29	II-065	27	17
II-027	4.7	7	II-051	2.5	3.9	II-067	5.2	5.1
II-029	7.2	6.5	II-052	2.3	3.5	II-068	3.5	4.6
II-033	2	4.8	II-054	3.5	8.2	II-069	30	25

FC для мутантного штамма 3 (E92Q/E138K/G140S/Q148H).

Соединение I-2: 7,7.

FC для мутантного штамма 4 (T97A/E138T/G140S/Q148H).

Соединение I-2: 3,2.

Приведенные выше результаты испытаний показали, что соединение по настоящему изобретению имеет высокий барьер резистентности и с меньшей вероятностью будет генерировать ВИЧ резистентный вирус.

Пример испытания 3. Испытание ингибирования CYP.

Степени ингибирования количеств соответствующих продуцируемых метаболитов соединением по настоящему изобретению оценивали в коммерчески доступных объединенных микросомах печени человека с использованием О-деэтилирования 7-этоксирезорруфина (CYP1A2), метилгидроксилирования толбутиаида (CYP2C9), 4'-гидроксилирования мефенитоина (CYP2C19), О-деметиличования декстрометорфана (CYP2D6) и гидроксилирования терфенадина (CYP3A4), которые являются типичными реакциями метаболизма субстратов для пяти основных молекулярных видов CYP человека (CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 и CYP3A4), в качестве показателей.

Реакционные условия были следующими: субстрат 0,5 мкмоль/л этоксирезорруфина (CYP1A2), 100 мкмоль/л толбутиаида (CYP2C9), 50 мкмоль/л S-мефенитоина (CYP2C19), 5 мкмоль/л декстрометорфана (CYP2D6), 1 мкмоль/л терфенадина (CYP3A4); время реакции 15 мин; температура реакции 37°C; фермент: объединенные микросомы печени человека 0,2 мг белка/мл; концентрация соединения по настоящему изобретению 1, 5, 10, 20 мкмоль/л (четыре точки).

Каждые пять видов субстратов, микросомы печени человека или соединение по настоящему изобретению в 50 ммоль/л буферного раствора Нерес добавляли в 96-луночный планшет и добавляли кофермента NADPH для инициирования реакций метаболизма в качестве маркерной реакции. После инкубации при 37°C в течение 15 мин добавляли раствор метанол/ацетонитрил=1/1 (об./об.) для остановки реакции. После центрифугирования при 3000 об/мин в течение 15 мин количественно определяли резорруфин (метаболит CYP1A2) в полученном в результате центрифугирования супернатанте с использованием флуоресцентного многоканального счетчика или ЖХ/МС/МС, а гидроксид толбутиаида (метаболит CYP2C9), 4'-гидроксид мефенитоина (метаболит CYP2C19), декстрометорфан (метаболит CYP2D6) и терфенадиновый спирт (метаболит CYP3 A4) в супернатантах количественно определяли при помощи ЖХ/МС/МС.

К реакционному раствору вместо соединения по настоящему изобретению добавляли только растворитель DMSO, который использовали для растворения соединения, и смесь использовали в качестве контроля (100%). Рассчитывали остаточную активность (%), и IC₅₀ рассчитывали путем обратной оценки на основе логистической модели с использованием концентраций и процентов подавления.

Пример испытания 4. Испытание MBI CYP3A4 (MDZ).

Это испытание в отношении ингибирования CYP3A4 соединением по настоящему изобретению предназначено для оценки способности к механизму-основанному ингибированию (MBI) от усиления ингибирующего эффекта, вызванного реакцией метаболизма, соединения по настоящему изобретению. Ингибирование CYP3A4 оценивали с использованием объединенных микросом печени человека при помощи реакции 1-гидроксилирования мидазолама (MDZ) в качестве маркерной реакции.

Реакционные условия были следующими: субстрат 10 мкмоль/л MDZ; время предварительной реакции 0 или 30 мин; время метаболической реакции субстрата 2 мин; температура реакции 37°C; содержание белка в объединенных микросомах печени человека в предварительной реакции 0,5 мг/мл, в реакции 0,05 мг/мл (при 10-кратном разведении); концентрации соединения по настоящему изобретению в предварительной реакции, 1, 5, 10, 20 мкмоль/л (четыре точки) или 0,83, 5, 10, 20 мкмоль/л (четыре точки).

Объединенные микросомы печени человека и раствор соединения по настоящему изобретению в буферном растворе K-Pi (pH 7,4) в качестве раствора предварительной реакции добавляли в 96-луночный планшет в композиции предварительной реакции. Часть раствора предварительной реакции переносили в другой 96-луночный планшет и разбавляли 1/10 буферным раствором K-Pi, содержащим субстрат. NADPH в качестве кофермента добавляли для инициирования реакции в качестве маркерной реакции (никакой предварительной реакции: предварительная инкубация 0 мин). По прошествии заданного времени реакции добавляли раствор метанол/ацетонитрил=1/1 (об./об.), чтобы остановить реакцию. Кроме того, NADPH добавляли к оставшемуся раствору предварительной реакции для инициирования предварительной реакции (предварительная реакция: предварительная инкубация 30 мин). По истечении заданного времени предварительной реакции часть переносили в другой планшет и разбавляли 1/10 буферным раствором K-Pi, содержащим субстрат, для инициирования реакции в качестве маркерной реакции. По прошествии заданного времени реакции добавляли раствор метанол/ацетонитрил=1/1 (об./об.), чтобы остановить реакцию. Затем каждый планшет, в котором осуществляли маркерную реакцию, центрифугировали при 3000 об/мин в течение 15 мин, 1-гидроксимидазолам в супернатанте после центрифугирования количественно оценивали при помощи ЖХ/МС/МС.

К реакционному раствору добавляли только растворитель DMSO, используемый для растворения

соединения, вместо соединения по настоящему изобретению, и смесь использовали в качестве контроля (100%). Остаточную активность (%) рассчитывали во время добавления соединения по настоящему изобретению при каждой концентрации, а значение IC рассчитывали путем обратной оценки на основе логистической модели с использованием концентраций и степени ингибирования. Измененное IC значение рассчитывали исходя из IC предварительной инкубации 0 мин/IC предварительной инкубации 30 мин. Сдвиг IC 1,5 или более оценивали как положительный (+), а сдвиг IC 1,0 или менее оценивали как отрицательный (-).

Результаты.

Соединение П-37: (-).

Соединение П-51: (-).

Пример испытания 5. Испытание ВА.

Материалы и методы для экспериментов по оценке пероральной абсорбции.

(1) Используемые животные: использовали крыс.

(2) Условия содержания: крысам позволяли свободно принимать твердую пищу и стерилизованную водопроводную воду.

(3) Установление доз и групп: заранее определенную дозу вводили перорально и вводили внутривенно. Группы формировали, как показано ниже (дозу изменяли в зависимости от соединения):

пероральное введение: 2-60 мкмоль/кг или 1-30 мг/кг (n=2-3);

внутривенное введение: 1-30 мкмоль/кг или 0,5-10 мг/кг (n=2-3).

(4) Получение вводимого раствора: исследуемый образец вводили в виде раствора или суспензии для перорального введения. Внутривенное введение осуществляли после солубилизации.

(5) Способ введения: Пероральное введение осуществляли принудительно в желудок при помощи перорального зонда. Внутривенное введение осуществляли в хвостовую вену шприцом с иглой для инъекций.

(6) Оценка: кровь собирали через определенное время и концентрацию соединения по настоящему изобретению в плазме измеряли с использованием ЖХ/МС/МС.

(7) Статистический анализ: площадь под кривой зависимости концентрации в плазме от времени (AUC) рассчитывали для определения изменения концентрации соединения по настоящему изобретению в плазме с использованием анализа моментов, и биодоступность (ВА) соединения по настоящему изобретению рассчитывали по соотношению доз и соотношению AUC между группой перорального введения и группой внутривенного введения.

Пример испытания 6. Испытание для оценки клиренса.

Экспериментальный материал и метод.

(1) Используемые животные: использовали крыс.

(2) Условия содержания: крысам позволяли свободно принимать твердую пищу и стерилизованную водопроводную воду.

(3) Установление доз и групп: заранее определенную дозу вводили внутривенно. Группы формировали, как показано ниже:

Внутривенное введение: 1 мкмоль/кг (n=2).

(4) Получение вводимого раствора: исследуемый образец солубилизовали с использованием растворителя диметилсульфоксид/пропиленгликоль=1/1 и вводили.

(5) Способ введения: исследуемый образец вводили в хвостовую вену шприцом с инъекционной иглой.

(6) Оценка: кровь собирали через определенное время и концентрацию соединения по настоящему изобретению в плазме измеряли с использованием ЖХ/МС/МС.

(7) Статистический анализ: общий клиренс (CL_{tot}) и период полу выведения (t_{1/2}) рассчитывали как изменение концентрации соединения по настоящему изобретению в плазме с использованием анализа моментов.

Результаты.

Соединение П-13: 0,0226 мл/мин/кг, 35,4 ч.

Соединение П-24: 0,0364 мл/мин/кг, 23,6 ч.

Результаты показали, что соединение по настоящему изобретению имеет небольшой клиренс и длительный период полувыведения, таким образом, полезно в качестве ингибитора интегразы длительного действия.

Пример испытания 7. Испытание на метаболическую стабильность.

Используя коммерчески доступные объединенные микросомы печени человека, осуществляли взаимодействие соединения по настоящему изобретению в течение постоянного времени и остаточное содержание рассчитывали путем сравнения прореагировавшего образца и непрореагировавшего образца, таким образом оценивали степень, в которой соединение по настоящему изобретению метаболизировалось в печени.

Реакцию осуществляли (окислительная реакция) при 37°C в течение 0 или 30 мин в присутствии 1 ммоль/л NADPH в 0,2 мл буферного раствора (50 ммоль/л Tris-HCl pH 7,4, 150 ммоль/л хлорида калия,

10 ммоль/л хлорида магния), содержащего 0,5 мг белка/мл микросом печени человека. После реакции 50 мкл реакционного раствора добавляли к 100 мкл раствора метанол/ацетонитрил=1/1 (об./об.) и смешивали и смесь центрифугировали при 3000 об/мин в течение 15 мин. Соединение по настоящему изобретению в супернатанте после центрифугирования количественно оценивали при помощи ЖХ/МС/МС или твердофазной экстракции (ТФЭ)/МС. Количество соединения по настоящему изобретению, оставшееся после реакции, рассчитывали, принимая количество соединения при 0 мин реакции за 100%.

Результаты.

Остаточное содержание соединения при концентрации 0,5 мкмоль/л показано в следующей таблице.

Таблица 9

№	Остаточное содержание	№	Остаточное содержание	№	Остаточное содержание	№	Остаточное содержание	№	Остаточное содержание	№	Остаточное содержание
I-002	93	II-023	98.3	II-038	92.4	II-050	103	II-057	82.5	II-067	93
I-008	97.7	II-024	96.5	II-041	95.5	II-051	92.9	II-058	94.2	II-068	91.3
I-012	72.2	II-027	90.5	II-043	103	II-052	83.4	II-061	91.5	II-069	102
II-003	109	II-029	85.3	II-044	88.5	II-054	98.8	II-062	71.7		
II-010	106	II-033	81.3	II-046	97.2	II-055	93.9	II-063	96.5		
II-018	95.3	II-037	93.4	II-048	100	II-056	102	II-065	94.6		

Пример испытания 8. Метод флуктуации Эймса.

Оценивали мутагенность соединений по настоящему изобретению. 20 мкл хранящихся замороженными тифозных бактерий крыс (*Salmonella typhimurium* TA98 штамм, TA100 штамм) инокулировали в 10 мл жидкой питательной среды (2,5% питательный бульон Oxoid No. 2) и смесь предварительно культивировали при встряхивании при 37°C в течение 10 ч. 7,70-8,00 мл бактериального раствора TA98 штамма центрифугировали (2000×g, 10 мин) для удаления культурального раствора. Бактерии суспендировали в Micro F буферном растворе (K₂HPO₄: 3,5 г/л, KH₂PO₄: 1 г/л, (NH₄)₂SO₄: 1 г/л, тринатрий цитрата дигидрата: 0,25 г/л и MgSO₄·7H₂O: 0,1 г/л) с таким же объемом, как объем бактериального раствора, используемого для центрифугирования. Суспензию добавляли к 120 мл Воздействующей среды (Micro F буферный раствор, содержащий биотин: 8 мкг/мл, гистидин: 0,2 мкг/мл и глюкозу: 8 мг/мл). 3,10-3,42 мл бактериального раствора TA100 штамма добавляли к 120-130 мл Воздействующей среды для получения испытываемого бактериального раствора. Каждые 12 мкл DMSO раствора соединения по настоящему изобретению (несколько стадий 2-3-кратных разбавлений от максимальной дозы 50 мг/мл), DMSO в качестве отрицательного контроля и 50 мкг/мл DMSO раствора 4-нитрохинолин-1-оксида для TA98 штамма, 0,25 мкг/мл DMSO раствора 2-(2-фурил)-3-(5-нитро-2-фурил)акриламида для TA100 штамма в неметаболических активирующих условиях, 40 мкг/мл DMSO раствора 2-аминоантрацена для TA98 штамма, 20 мкг/мл DMSO раствора 2-аминоантрацена для TA100 штамма в метаболических активирующих условиях в качестве положительного контроля и 588 мкл испытываемого бактериального раствора (смешанный раствор 498 мл испытываемого бактериального раствора и 90 мкл S9 смеси в метаболических активирующих условиях) смешивали и смесь культивировали при встряхивании при 37°C в течение 90 мин. 460 мкл бактериального раствора, который подвергался воздействию соединения по настоящему изобретению, смешивали с 2300 мкл индикаторной среды (Micro F буферный раствор, содержащий 8 мкг/мл биотина, 0,2 мкг/мл гистидина, 8 мг/мл глюкозы, 37,5 мкг/мл бромкрезола пурпурного), каждые 50 мкл распределяли в микропланшет 48 лунок/доза и планшет подвергали стационарному культивированию при 37°C в течение 3 дней. Поскольку лунка, содержащая бактерию, которая приобрела способность к пролиферации в результате мутации гена аминокислота (гистидин)-синтезирующего фермента, меняет цвет от пурпурного до желтого из-за изменения pH, пролиферацию бактерий в лунке, которая стала желтой в 48 лунках на дозу, подсчитывали и оценивали путем сравнения с группой отрицательного контроля. (-) означает, что мутагенность является отрицательной, а (+) означает, что мутагенность является положительной.

Пример испытания 9. hERG тест.

В целях оценки риска удлинения интервала QT на электрокардиограмме, связанного с соединением по настоящему изобретению, эффекты соединения по настоящему изобретению на K⁺ ток замедленного выпрямления (I_{Kr}), который играет важную роль в процессе реполяризации желудочков, исследовали с использованием СНО клеток, экспрессирующих ген специфических калиевых каналов сердца человека (hERG).

После того как клетку поддерживали при мембранном потенциале -80 мВ с использованием пэтч-кламп метода в формате целой клетки, используя автоматическую пэтч-кламп систему (QPatch; Sophion Bioscience A/S) и прилагали потенциал утечки -50 мВ, регистрировали I_{Kr}, индуцированный стимуляцией деполяризации при +20 мВ в течение 2 с, а затем стимуляцией реполяризации при -50 мВ в течение 2 с. Внеклеточный раствор (NaCl: 145 ммоль/л, KCl: 4 ммоль/л, CaCl₂: 2 ммоль/л, MgCl₂: 1 ммоль/л, глюкоза: 10 ммоль/л, HEPES (4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновая кислота): 10 ммоль/л, pH 7,4), доведенный до содержания диметилсульфоксида 0,1%, использовали в качестве среды. Внеклеточный раствор, в котором растворяли среду и соединение по настоящему изобретению при каждой целевой концентрации, наносили на клетку на 7 мин или более в условиях комнатной температуры. На основании полученного I_{Kr} измеряли абсолютное значение следового тока на основании значения тока при мем-

бранном потенциале покоя с использованием программы для анализа (QPatch Assay software; Sophion Bioscience A/S). Затем следовой ток после нанесения соединения по настоящему изобретению относительно следового тока после нанесения среды рассчитывали как процент ингибирования для оценки влияния соединения по настоящему изобретению на I_{Kt} .

Пример испытания 10. Испытание на растворимость.

Растворимость соединения по настоящему изобретению определяли в условиях добавления 1% DMSO. 10 ммоль/л раствор соединения получали с DMSO. 2 мкл раствора соединения по настоящему изобретению добавляли к 198 мкл каждой из жидкости JP-1 и жидкости JP-2. После встряхивания при комнатной температуре в течение 1 ч смешанные растворы фильтровали отсасыванием. Фильтраты разбавляли 10- или 100-кратно смесью метанол/вода=1/1 (об./об.) или ацетонитрил/метанол/вода=1/1/2 (об./об./об.) и измеряли концентрации в фильтратах методом абсолютной калибровочной кривой с использованием ЖХ/МС или твердофазной экстракции (ТФЭ)/МС.

Композиция жидкости JP-1 приведена ниже.

К 2,0 г хлорида натрия и 7,0 мл хлористоводородной кислоты добавляли воду, доводя количество до 1000 мл.

Композиция жидкости JP-2 приведена ниже.

1 объем воды добавляли к 1 объему раствора, в котором 3,40 г дигидрофосфата калия и 3,55 г безводного динатрий гидрофосфата растворены в воде, чтобы довести количество до 1000 мл.

Пример испытания 11. Испытание на растворимость порошка.

Соответствующее количество соединения по настоящему изобретению помещали в соответствующие контейнеры и 200 мкл жидкости JP-1 (воду добавляли к 2,0 г хлорида натрия и 7,0 мл хлористоводородной кислоты, чтобы довести количество до 1000 мл), жидкости JP-2 (3,40 дигидрофосфата калия и 3,55 г безводного динатрий гидрофосфата растворяли в воде, чтобы довести количество до 1000 мл, и к 1 объему полученного раствора добавляли 1 объем воды) или 20 ммоль/л таурохолата натрия (ТСА) в жидкости JP-2 (жидкость JP-2 добавляли к 1,08 г ТСА, чтобы довести количество до 100 мл) добавляли в каждый контейнер. Когда все количество растворялось после добавления исследуемого раствора, надлежащим образом добавляли соединение по настоящему изобретению. После того как контейнер герметично закрывали и встряхивали в течение 1 ч при 37°C, смесь фильтровали, и добавляли 100 мкл метанола к 100 мкл каждого фильтрата (двойное разведение). Степень разбавления изменяли при необходимости.

Подтверждали отсутствие пузырьков воздуха и осадков и контейнеры герметично закрывали и встряхивали. Соединение по настоящему изобретению количественно оценивали методом абсолютной калибровочной кривой с использованием ВЭЖХ.

Пример испытания 12. Тест Эймса.

Соединение по настоящему изобретению оценивали на его мутагенность с использованием теста Эймса с штаммами *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535 и TA1537 и штаммом *Escherichia coli* WP2uvrA в качестве испытываемых бактериальных штаммов. 0,1 мл DMSO раствора соединения по настоящему изобретению смешивали с 0,5 мл смеси S9 в условиях метаболической активации или 0,5 мл раствора фосфатного буфера и 0,1 мл каждого тестируемого бактериального раствора в условиях неметаболической активации и смесь накладывали на чашку с агаром с минимальным содержанием глюкозы вместе с 2 мл мягкого агара для покрытия, содержащего гистидин и биотин или триптофан. Одновременно с этим аналогичное испытание осуществляли также в отношении вещества отрицательного контроля (DMSO) и вещества положительного контроля (2-(2-фурил)-3-(5-нитро-2-фурил)акриламида, азида натрия, 9-аминоакридина или 2-аминоантрацена). После культивирования при 37°C в течение 48 ч образовавшиеся ревертантные колонии подсчитывали и оценивали путем сравнения с группой отрицательного контроля. Когда количество ревертантных колоний увеличивалось в зависимости от концентрации и становилось в два или более раз больше, чем количество колоний группы отрицательного контроля, определяли положительность.

Пример испытания 13. Испытание для определения Nav.

В целях оценки риска проаритмии, связанного с соединением по настоящему изобретению, эффекты соединения по настоящему изобретению на Na^+ ток (I_{Na}), который играет важную роль в процессе деполяризации миокарда, исследовали с использованием НЕК клеток, экспрессирующих потенциал-зависимый натриевый канал (Nav 1.5 канал), кодируемый SCN5A геном.

Клетку поддерживали при мембранном потенциале -100 мВ с использованием пэтч-кламп метода в формате целой клетки, используя автоматическую пэтч-кламп систему (QPatch; Sophion Bioscience A/S), затем регистрировали I_{Na} , индуцированный стимуляцией импульса деполяризации при -10 мВ в течение 20 мс. Внеклеточный раствор (NaCl: 145 ммоль/л, KCl: 4 ммоль/л, CaCl₂: 2 ммоль/л, MgCl₂: 1 ммоль/л, глюкозу: 10 ммоль/л, HEPES (4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновая кислота, 4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновая кислота): 10 ммоль/л, ТЕА (гидроксид тетраэтиламония): 10 ммоль/л, pH 7,4), доведенный до содержания 0,3% диметилсульфоксида, использовали в качестве среды. Внеклеточный раствор, в котором растворяли среду и соединение по настоящему изобретению при каждой целевой концентрации, прилагали к клетке в течение 5 мин или более при комнатной температу-

ре. На основании полученного I_{Na} измеряли абсолютное значение максимального пикового тока на основании значения тока при мембранном потенциале покоя с использованием программы для анализа (QPatch Assay software; Sophion Bioscience A/S). Затем рассчитывали отношение максимального пикового тока при нанесении соединения по настоящему изобретению к максимальному пиковому току при нанесении среды для оценки влияния соединения по настоящему изобретению на I_{Na} .

Результаты.

Соединение I-8: 103%.

Соединение I-2: 102%.

Соединение I-12: 97,1%.

Соединение II-3: 96,7%.

Соединение II-18: 109%.

Соединение II-23: 93,3%.

Соединение II-24: 89,3%.

Соединение II-37: 88,8%.

Соединение II-38: 86,2%.

Соединение II-41: 78,8%.

Соединение II-33: 90,7%.

На основании результатов, показывающих, что не наблюдали никакого явного увеличения тока, было определено, что соединение по настоящему изобретению с меньшей вероятностью может вызывать аритмию из-за увеличения тока Na .

Пример испытания 14. Испытание для оценки анти-ВИЧ активности с использованием мононуклеарных клеток периферической крови (РВМС) здорового субъекта.

Серийные разведения испытываемого образца получали в 96-луночном микропланшете (50 мкл/луночка). РВМС, стимулированные $1,0 \times 10^5$ клеток/луночка фитогемагглютинаина (РНА), и раствор вируса ВИЧ смешивали для необходимого количества лунок и смеси давали прореагировать при 37°C в течение 1 ч. После реакции клеточные суспензии центрифугировали и супернатант сливали. Инфицированные клетки диспергировали в культуральном растворе для необходимого количества лунок при 150 и 150 мкл/луночка распределяли в 96-луночный микропланшет, содержащий испытываемый образец. Планшет перемешивали при помощи миксера для планшетов и культивировали в течение 4 дней в инкубаторе с CO_2 . Измеряли активность обратной транскриптазы в культуральном растворе. Концентрацию, ингибирующую 90% ВИЧ (EC_{90}), определяли по кривой зависимости от концентрации с использованием следующей модели 4-параметрической логистической кривой.

$$y = A + ((B - A) / (1 + (C/x)^D))$$

где A=минимальный процент ингибирования (отрицательный контроль, 0%);

B=максимальный процент ингибирования (положительный контроль, 100%);

C=концентрация соединения в точке перегиба;

D=коэффициент наклона;

x=концентрация соединения;

y=процент ингибирования (%).

Результаты.

Соединение I-8: 1,0 нМ.

Соединение II-23: 1,7 нМ.

Пример испытания 15. Испытание для оценки анти-ВИЧ активности в присутствии сывороточного белка человека.

Серийные разведения испытываемого образца получали в 96-луночном микропланшете (50 мкл/луночка). Раствор сывороточного белка человека (концентрация белка сыворотки человека: 50%) распределяли в 96-луночный микропланшет, содержащий испытываемый образец в количестве 100 мкл/луночка, и оставляли при комнатной температуре в течение 1 ч. 100 мкл/луночка культурального раствора распределяли в планшет без сыворотки. $3,0 \times 10^5$ клеток/луночка клеток МТ-4 и 3 мкл/луночка раствора вируса ВИЧ смешивали для необходимого количества лунок и смеси давали прореагировать при 37°C в течение 1 ч. После реакции клеточные суспензии центрифугировали и супернатант сливали. Инфицированные клетки диспергировали в культуральном растворе для необходимого количества лунок при 50 и 50 мкл/луночка распределяли в 96-луночный микропланшет, содержащий испытываемый образец и белок сыворотки человека (конечная концентрация белка сыворотки человека: 25%). Планшет перемешивали при помощи миксера для планшетов и культивировали в течение 4 дней в инкубаторе с CO_2 . Раствор МТТ (3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолийбромид) распределяли в концентрации 30 мкл/луночка. Планшету давали прореагировать в течение 1 ч в инкубаторе с CO_2 . 150 мкл супернатанта удаляли из каждой лунки так, чтобы не захватить клетки. 150 мкл раствора для лизиса клеток добавляли в каждую лунку и хорошо перемешивали при помощи миксера для планшетов до полного лизиса клеток. Оптическую плотность в смешанном планшете измеряли при двух длинах волн 560 и 690 нм, используя микропланшетный ридер. Концентрацию, ингибирующую 50% ВИЧ (EC_{50}), определяли по кривой зависимости от концентрации с использованием следующей модели четырехпараметрической логистической кривой.

$$y = A + ((B - A) / (1 + (C/x)^D))$$

где А=минимальный процент ингибирования (отрицательный контроль, 0%);

В=максимальный процент ингибирования (положительный контроль, 100%);

С=концентрация соединения в точке перегиба;

Д=коэффициент наклона;

х=концентрация соединения;

у=процент ингибирования (%).

Кроме того, изменение активности (PS) рассчитывали на основе следующего уравнения расчета. Следует обратить внимание, что PS представляет собой экстраполированное значение концентрации сывороточного белка человека, равное 100%.

$$PS = 4 \times (EC_{50} \text{ в присутствии 25\% сывороточного белка человека} / EC_{50} \text{ в отсутствие сывороточного белка человека})$$

Результаты.

Значение PS в присутствии сывороточного белка человека показано в таблице (100% экстраполированное значение).

Соединение I-8: 116.

Соединение II-23: 56.

Пример получения.

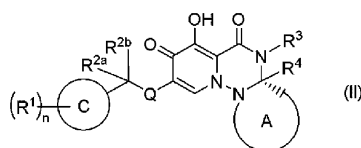
Соединение по настоящему изобретению можно вводить в виде фармацевтической композиции произвольным общепринятым путем, в частности энтерально, например перорально, например в форме таблетки или капсулы, парентерально в форме, например, инъекции или суспензии, местно в форме, например лосьона, геля, мази или крема, или в трансназальной форме или в форме суппозитория. Фармацевтическая композиция, включающая соединение по настоящему изобретению в свободной форме или в форме фармацевтически приемлемой соли вместе по меньшей мере с одним фармацевтически приемлемым носителем или разбавителем, может быть получена способом смешивания, гранулирования или нанесения покрытия в соответствии с обычным способом. Например, пероральную композицию можно получить в виде таблетки, гранулы или капсулы, содержащих эксципиент, разрыхлитель, связующее, лубрикант или т.п. и активный ингредиент и т.д. Также композицию для инъекций можно получить в виде раствора или суспензии и можно стерилизовать. Композиция для инъекций может также содержать консервант, стабилизатор, буферный агент или т.п.

Промышленная применимость

Соединение по настоящему изобретению обладает ингибирующей активностью в отношении интегразы и/или ингибирующей клеточный рост активностью против вируса, в частности ВИЧ. Следовательно, соединение по настоящему изобретению полезно для профилактики или лечения различных заболеваний, вирусных инфекций (например, СПИД) и т.п. с вовлечением интегразы.

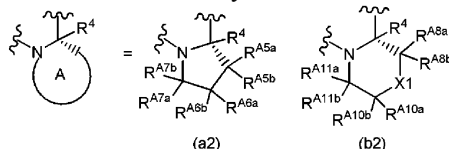
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение, представленное следующей формулой (II) или его фармацевтически приемлемая соль:



Химическая формула 4

где кольцо А представляет собой любое из следующих колец:



Химическая формула 5

X1 представляет собой CR^{A9a}R^{A9b} или O;

R^{A5a}, R^{A5b}, R^{A6a}, R^{A6b}, R^{A7a} и R^{A7b}, каждый независимо, представляет собой водород C₁-C₄ алкил,

C₁-C₄ алкилокси или C₁-C₄ алкилокси C₁-C₄ алкил;

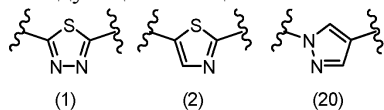
R^{A8a}, R^{A8b}, R^{A9a}, R^{A9b}, R^{A10a}, R^{A10b}, R^{A11a} и R^{A11b}, каждый независимо, представляет собой водород,

C₁-C₄ алкил, C₁-C₄ алкилокси или C₁-C₄ алкилокси C₁-C₄ алкил;

R^{A8a} и R^{A10a} могут быть взяты вместе с образованием C₁-C₃ поперечной связи;

кольцо С представляет собой бензольное кольцо;

Q представляет собой любое из следующих колец:



каждый R^1 независимо представляет собой галоген;

R^{2a} и R^{2b} , каждый независимо, представляет собой водород;

R^3 представляет собой C_1 - C_4 алкил или C_1 - C_4 галогеналкил;

R^4 представляет собой водород и

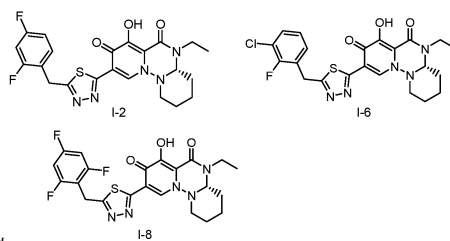
n представляет собой целое число от 1 до 3.

2. Соединение по п.1 или его фармацевтически приемлемая соль, где R^3 представляет собой C_1 - C_4 алкил.

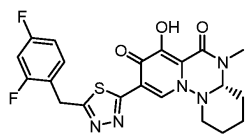
3. Соединение по п.1 или 2 или его фармацевтически приемлемая соль, где Q представляет собой следующий цикл:



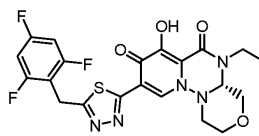
4. Соединение по п.1 или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение выбрано из группы, состоящей из соединений



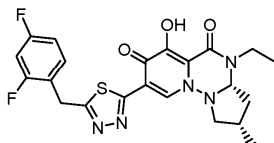
5. Соединение по п.1 или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение выбрано из группы, состоящей из соединений



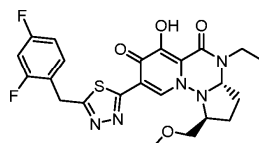
II-3



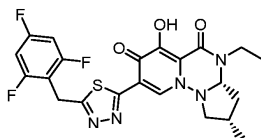
II-18



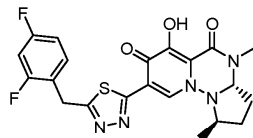
II-23



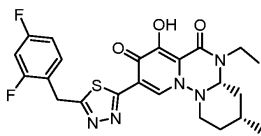
II-24



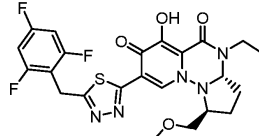
II-27



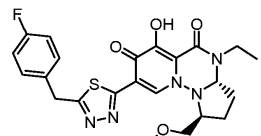
II-29



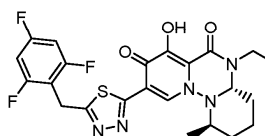
II-33



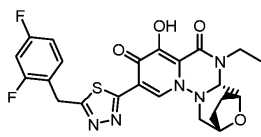
II-37



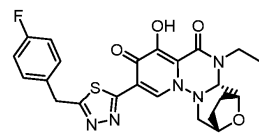
II-38



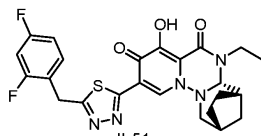
II-44



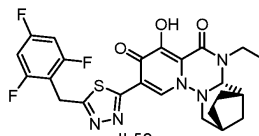
II-48



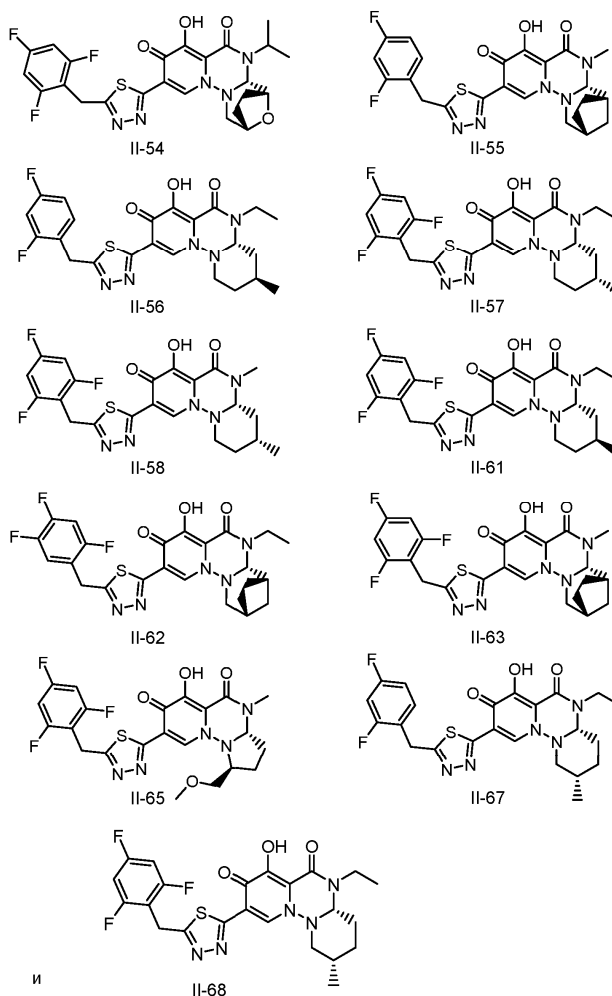
II-50



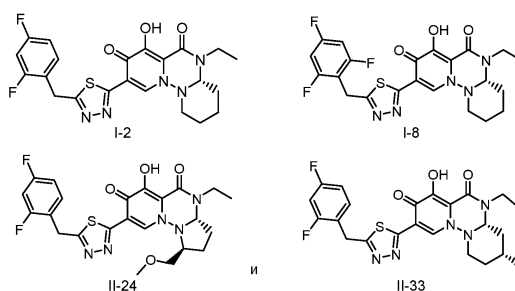
II-51



II-52



6. Соединение по п.1 или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение выбрано из группы, состоящей из соединений



7. Фармацевтическая композиция для лечения и/или профилактики ВИЧ-инфекции, включающая соединение по любому из пп.1-6 или его фармацевтически приемлемую соль и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель.

8. Способ лечения и/или профилактики ВИЧ-инфекции, включающий введение соединения по любому из пп.1-6 или его фармацевтически приемлемой соли.

9. Применение соединения по любому из пп.1-6 или его фармацевтически приемлемой соли для лечения и/или профилактики ВИЧ-инфекции.



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

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