

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **044022**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

- |                                       |                               |
|---------------------------------------|-------------------------------|
| (45) Дата публикации и выдачи патента | (51) Int. Cl.                 |
| <b>2023.07.18</b>                     | <i>C07D 471/14</i> (2006.01)  |
| (21) Номер заявки                     | <i>A61K 31/53</i> (2006.01)   |
| <b>202092921</b>                      | <i>A61K 31/5383</i> (2006.01) |
| (22) Дата подачи заявки               | <i>A61K 31/55</i> (2006.01)   |
| <b>2019.05.30</b>                     | <i>A61P 31/18</i> (2006.01)   |
|                                       | <i>A61P 43/00</i> (2006.01)   |
|                                       | <i>C07D 498/14</i> (2006.01)  |

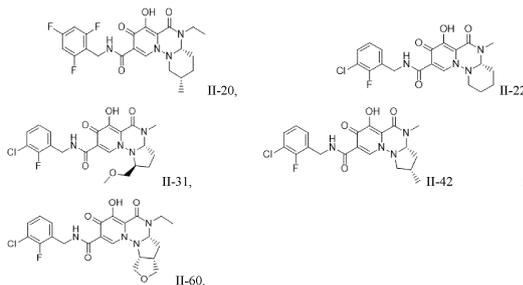
---

**(54) ПОЛИЦИКЛИЧЕСКОЕ ПРОИЗВОДНОЕ КАРБАМОИЛПИРИДОНА, ПОЛЕЗНОЕ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ**


---

- |                                       |   |
|---------------------------------------|---|
| (31) <b>2018-104156</b>               | (56) WO-A1-2007049675                           |
| (32) <b>2018.05.31</b>                | Translation and supervision by NAGASE,          |
| (33) <b>JP</b>                        | Hiroshi, "The Practice of Medicinal Chemistry", |
| (43) <b>2021.04.07</b>                | TECHNOMICS, INC., 1998, p. 476, 494-495         |
| (86) <b>PCT/JP2019/021446</b>         | Edition of The Chemical Society of Japan,       |
| (87) <b>WO 2019/230858 2019.12.05</b> | "Resolution of Enantiomers" (KIKAN KAGAKU       |
| (71)(73) Заявитель и патентовладелец: | SOSETSU no. 6), GAKKAI SHUPPAN CENTER           |
| <b>СИНОГИ ЭНД КО., ЛТД. (JP)</b>      | KK, 1989, p. 16-17                              |
| (72) Изобретатель:                    |   |
| <b>Таода Йосиюки, Унох Юто (JP)</b>   |   |
| (74) Представитель:                   |   |
| <b>Медведев В.Н. (RU)</b>             |   |

- (57) Настоящее изобретение обеспечивает соединение или его фармацевтически приемлемую соль, выбранное из группы, состоящей из



фармацевтическую композицию для лечения и/или профилактики ВИЧ-инфекции, содержащую данное соединение, применение данного соединения для лечения и/или профилактики ВИЧ-инфекции, для получения лекарственного средства для лечения и/или профилактики ВИЧ-инфекции или для получения лекарственного средства, обладающего анти-ВИЧ активностью.

**B1****044022****044022****B1**

### **Область техники, к которой относится изобретение**

Настоящее изобретение относится к новому соединению, обладающему противовирусным эффектом. Более конкретно, настоящее изобретение относится к полициклическому производному карбамоилпиридона, 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 введения 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 лекарств, 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 долутегравира в качестве перорального препарата второго поколения уже выведены на рынок в качестве ингибиторов интегразы. Когда пациент, ранее не получавший лечение, принимает долутегравира, никакие резистентные мутации не появляются. Однако долутегравира, 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.

Бициклические или высшие полициклические производные карбамоилпиридона известны как одно из лекарственных средств против ВИЧ, обладающих ингибирующим интегразу эффектом (патентные документы 1-29). Среди них, патентный документ 3 описывает производное карбамоилпиридотриазина. Однако ни один из документов не описывает оптически активное трициклическое или более полициклическое производное карбамоилпиридотриазина, которое является соединением настоящей заявки.

Ссылочные документы предшествующего уровня техники.

Патентный документ.

Патентный документ 1 WO 2006/088173.

Патентный документ 2 WO 2006/116764.

Патентный документ 3 WO 2007/049675.

Патентный документ 4 WO 2011/129095.

Патентный документ 5 WO 2014/099586.

Патентный документ 6 WO 2014/100323.

Патентный документ 7 WO 2014/104279.

Патентный документ 8 WO 2014/183532.

Патентный документ 9 WO 2014/200880.

Патентный документ 10 WO 2015/039348.

Патентный документ 11 WO 2015/048363.

Патентный документ 12 WO 2015/089847.

Патентный документ 13 WO 2015/095258.  
 Патентный документ 14 WO 2015/006731.  
 Патентный документ 15 WO 2015/006733.  
 Патентный документ 16 WO 2015/199167.  
 Патентный документ 17 WO 2016/090545.  
 Патентный документ 18 WO 2016/094198.  
 Патентный документ 19 WO 2016/094197.  
 Патентный документ 20 WO 2016/106237.  
 Патентный документ 21 WO 2016/154527.  
 Патентный документ 22 WO 2016/161382.  
 Патентный документ 23 WO 2016/187788.  
 Патентный документ 24 WO 2016/191239.  
 Патентный документ 25 WO 2017/087256.  
 Патентный документ 26 WO 2017/087257.  
 Патентный документ 27 WO 2017/106071.  
 Патентный документ 28 WO 2017/113288.  
 Патентный документ 29 WO 2017/116928.

### Сущность изобретения

Задачи, решаемые настоящим изобретением

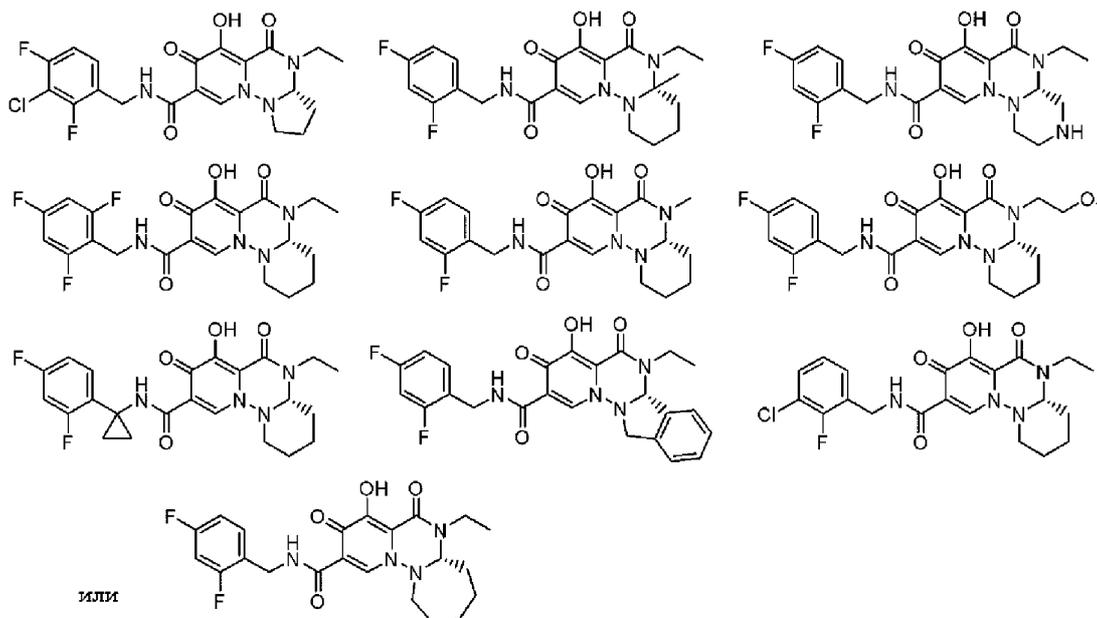
Целью настоящего изобретения является обеспечение нового соединения длительного действия, обладающего ингибирующей активностью против интегразы с высоким барьером резистентности.

Способы решения задачи

Авторы настоящего изобретения провели тщательные исследования и в результате обнаружили, что новое производное карбамоилпиридона 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 изобретения, приведенные ниже.

1. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение выбрано из группы, состоящей из следующих соединений:



2. Фармацевтическая композиция, включающая соединение по п.1 или его фармацевтически приемлемую соль.

3. Фармацевтическая композиция по п.2, где фармацевтическая композиция представляет собой средство против ВИЧ.

4. Фармацевтическая композиция по п.2, где фармацевтическая композиция представляет собой ин-

гибитор интегразы ВИЧ.

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

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

#### Эффект изобретения

Соединение по настоящему изобретению обладает ингибирующей интегразу активностью и/или ингибирующей клеточный рост активностью 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, таким образом, соединение не может легко вызвать новый ВИЧ-резистентный вирус и т.п. Еще более предпочтительно, соединение по настоящему изобретению также оказывает профилактический или терапевтический эффект на вирус, резистентный к лекарственным средствам 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., и 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 едином смысле и в 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.

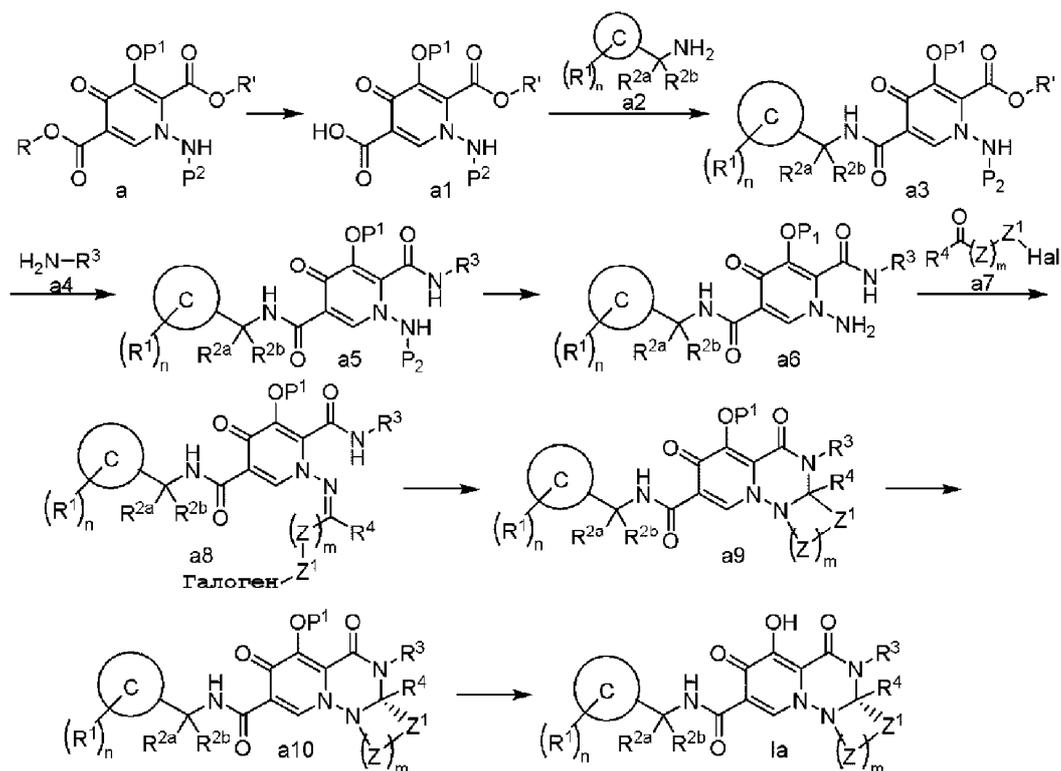
Примеры фармацевтически приемлемой соли соединения по настоящему изобретению включают соли соединения по настоящему изобретению с щелочными металлами (например, литием, натрием или калием), щелочно-земельными металлами (например, кальцием или барием, магнием), переходными металлами (например, цинком и железом), аммиаком, органическими основаниями (например, такими как триметиламин, триэтиламин, дициклогексиламин, этаноламин, диэтанолламин, триэтанолламин, меглумин, этилендиамин, пиридин, пиколин или хинолин) или аминокислотами, и соли соединения по настоящему изобретению с неорганическими кислотами (например, хлористоводородной кислотой, серной кислотой, азотной кислотой, угольной кислотой, бромистоводородной кислотой, фосфорной кислотой или 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, *p*-толуолсульфоновой кислотой, метансульфоновой кислотой или этансульфоновой кислотой). Эти соли могут быть получены обычным способом.

Способ получения соединения по настоящему изобретению.

Соединение по настоящему изобретению можно получить, например, общими способами синтеза, показанными ниже. Способы экстракции, очистки и т.п. можно осуществить с использованием обычных методов для экспериментов в органической химии.

Соединение по настоящему изобретению можно синтезировать в соответствии со способами, известными в данной области.

Способ 1.



Где P<sup>1</sup> представляет собой гидроксигруппу; P<sup>2</sup> представляет собой амино-защитную группу; каждый из R и R' представляет собой карбокси-защитную группу; Z представляет собой Z<sup>2</sup>, Z<sup>3</sup>, Z<sup>4</sup> или Z<sup>5</sup>; m представляет собой целое число от 1 до 4; Hal представляет собой галоген; каждый из P<sup>1</sup>, P<sup>2</sup>, R и R' может представлять собой группу, 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<sup>1</sup> представляет собой ароматический карбоциклалкил или т.п., P<sup>2</sup> представляет собой алкилоксикарбонил или т.п., и каждый из R и R' представляет собой алкил или т.п.; и другие символы имеют значение, определенное выше.

Стадия 1.

Соединение a1 можно получить, подвергая соединение a, которое может быть коммерчески доступным или получено известным способом, общей реакции удаления карбокси-защитных групп.

Стадия 2.

Соединение a3 можно получить путем добавления конденсирующего агента, такого как HATU, WSC-HCl или PyBOP, к соединению a1 в присутствии растворителя, такого как DMF, DMA, NMP, THF, хлороформ или дихлорметан, добавляя к этому соединению a2, которое может быть коммерчески доступным или получено известным способом, и третичный амин, такой как триэтиламин, N-метилморфолин, пиридин или DIEA, 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 3.

Соединение a5 можно получить путем добавления соединения a4 к соединению a3 в присутствии растворителя, такого как THF, метанол, этанол, хлороформ, дихлорметан или THF, и взаимодействием смеси при температуре 60-120°C, предпочтительно 80-100°C, в течение 0,5-24 ч, предпочтительно от 1 до 12 ч.

Стадия 4.

Соединение a6 можно получить, подвергая соединение a5 общей реакции удаления амино-защитных групп.

Стадия 5.

Соединение a8 можно получить путем добавления соединения a7, которое может быть коммерчески доступным или получено известным способом, и кислоты, такой как уксусная кислота, п-толуолсульфоновая кислота или метансульфоновая кислота, к соединению a6 в присутствии растворителя, такого как дихлорметан, дихлорэтан, хлороформ, метанол, этанол, толуол, DMF, DMA или THF, и взаимодействием смеси при температуре 20-130°C, предпочтительно 20-100°C, в течение 0,1-24 ч, предпочтительно от 1 до 12 ч.

Стадия 6.

Соединение a9 можно получить путем добавления основания, такого как карбонат цезия или карбо-

нат калия, и соли, такой как йодид натрия или йодид калия, к соединению a8 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.

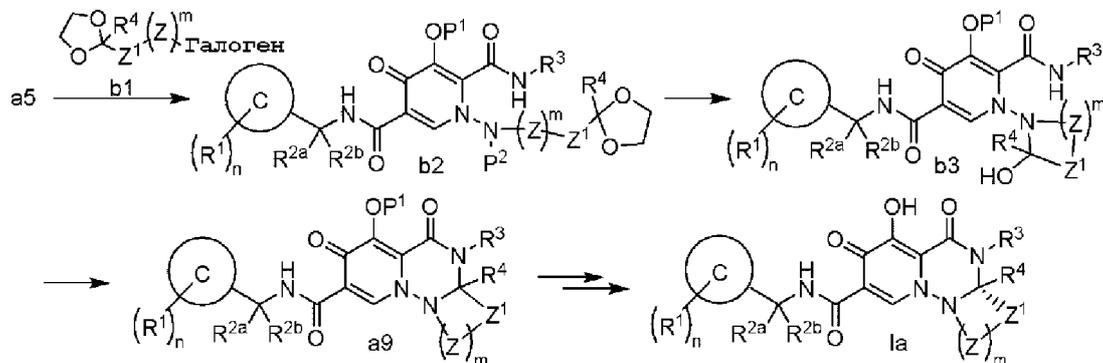
Стадия 7.

Соединение a9 можно разделить при помощи хиральной SFC с получением соединения a10.

Стадия 8.

Соединение Ia можно получить, подвергая соединение a10 общей реакции удаления гидроксизащитных групп.

Способ 2.



Где каждый символ имеет значение, определенное выше.

Стадия 1.

Соединение b2 можно получить путем добавления основания, такого как карбонат цезия, карбонат калия или триэтиламин, и, когда NaI представляет собой хлор, соли, такой как йодид натрия или йодид калия, к соединению a5 в присутствии растворителя, такого как DMF, DMA, NMP или THF, добавления к этому соединения b1, которое может быть коммерчески доступным или получено известным способом, и взаимодействия смеси при температуре 0-60°C, предпочтительно 20-40°C, в течение 0,1-24 ч, предпочтительно от 1 до 12 ч.

Стадия 2.

Соединение b3 можно получить, подвергая соединение b2 общей реакции удаления защитных групп ацеталей.

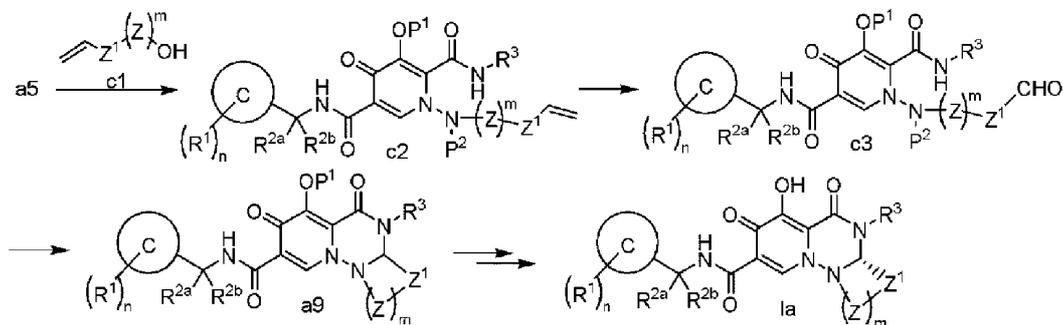
Стадия 3.

Соединение a9 можно получить путем добавления кислоты, такой как уксусная кислота, п-толуолсульфоновая кислота, метансульфоновая кислота или трифторуксусная кислота, к соединению b3 в присутствии растворителя, такого как дихлорметан, дихлорэтан, хлороформ, ацетонитрил, метанол, этанол, толуол, DMF, DMA или THF, и взаимодействия смеси при температуре 20°C - 130°C, предпочтительно 80-120°C, в течение 0,1-24 ч, предпочтительно от 1 до 12 ч.

Стадия 4.

Соединение Ia можно синтезировать в соответствии со стадиями 7 и 8 способа 1, описанного выше.

Способ 3.



Где каждый символ имеет значение, определенное выше.

Стадия 1.

Соединение c2 можно получить путем добавления соединения c1, которое может быть коммерчески доступным или получено известным способом, и реагента для реакции Мицунобу, такого как DEAD/PPh<sub>3</sub>, DIAD/PPh<sub>3</sub>, DMEAD/PPh<sub>3</sub>, ADDP/n-Bu<sub>3</sub>P, к соединению a5 в присутствии растворителя, такого как THF или толуол, и взаимодействия смеси при температуре 0-100°C, предпочтительно 20-80°C, в течение 0,1-24 ч, предпочтительно от 1 до 12 ч.

Стадия 2.

Соединение с3 можно получить, подвергая соединение с2 общей реакции окислительного расщепления алкена. Примеры реакции включают реакцию озонлиза или использования  $K_2OsO_4/NaIO_4$  или т.п.

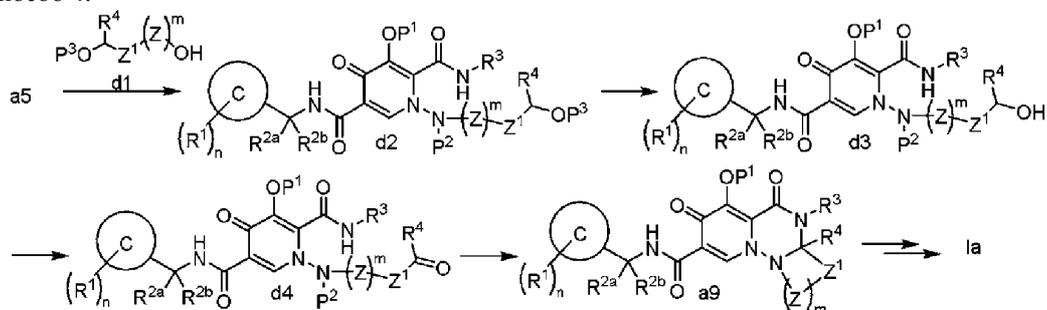
Стадия 3.

Соединение а9 можно получить путем взаимодействия соединения с3 в тех же условиях, как на стадии 3 способа 2.

Стадия 4.

Соединение Ia можно синтезировать в соответствии со стадиями 7 и 8 способа 1.

Способ 4.



Где каждый символ имеет значение, определенное выше.

Стадия 1.

Соединение d2 можно получить путем взаимодействия соединения а5 и соединения d1 в тех же условиях, как на стадии 1 способа 3.

Стадия 2.

Соединение d3 можно получить, подвергая соединение d2 общей реакции удаления гидрокси-защитных групп.

Стадия 3.

Соединение d4 можно получить, подвергая соединению d3 общей реакции окисления гидроксильных групп.

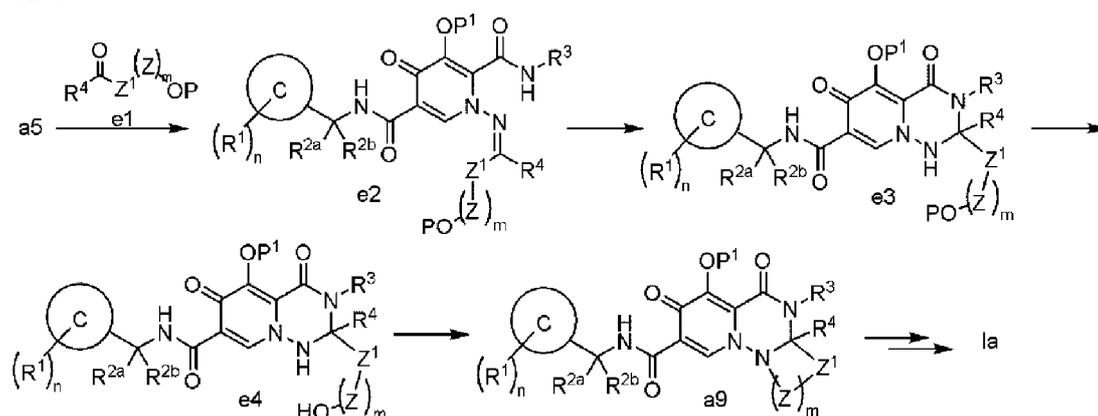
Стадия 4.

Соединение а9 можно получить путем взаимодействия соединения d4 в тех же условиях, как на стадии 3 способа 2.

Стадия 5.

Соединение Ia можно синтезировать в соответствии со стадиями 7 и 8 способа 1.

Способ 5.



Где каждый символ имеет значение, определенное выше.

Стадия 1.

Соединение e2 можно получить путем взаимодействия соединения а5 и соединения e1 в тех же условиях, как на стадии 5 способа 1.

Стадия 2.

Соединение e3 можно получить путем добавления основания, такого как карбонат цезия или карбонат калия, к соединению e2 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 3.

Соединение e4 можно получить, подвергая соединению e3 общей реакции удаления гидрокси-защитных групп.

## Стадия 4.

Соединение а<sup>9</sup> можно получить путем добавления реагента для реакции Мицунобу, такого как DEAD/PPh<sub>3</sub>, DIAD/PPh<sub>3</sub>, DMEAD/PPh<sub>3</sub> или ADDP/n-Bu<sub>3</sub>P, к соединению е<sup>4</sup> в присутствии растворителя, такого как THF или толуол, и взаимодействия смеси при температуре 0-100°C, предпочтительно 20-80°C, в течение 0,1-24 ч, предпочтительно от 1 до 12 ч.

## Стадия 5.

Соединение Ia можно синтезировать в соответствии со стадиями 7 и 8 способа 1.

Полученное таким образом соединение по настоящему изобретению может быть дополнительно химически модифицировано для синтеза другого соединения. Когда реакционноспособная функциональная группа (например, OH, COOH или NH<sub>2</sub>) присутствует в группе боковой цепи или т.п. во время реакции, эту функциональную группу можно защитить до реакции и снять защиту после реакции, если желательно.

Примеры защитных групп (амино-защитная 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. Введение и удаление 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 очистке способом, обычно используемым в химии органического синтеза, например, таким как нейтрализация, фильтрование, экстракция, промывка, сушка, концентрирование, перекристаллизация или различные методы хроматографии, и таким образом их можно выделить или очистить. Альтернативно, промежуточное соединение можно подвергнуть следующей реакции без особой очистки.

Соединение по настоящему изобретению полезно в качестве лекарственного средства, например, противовирусного лекарственного средства. Соединение по настоящему изобретению оказывает заметный ингибирующий эффект на интегразу вируса. Соответственно, можно ожидать, что соединение по настоящему изобретению будет оказывать профилактическое или терапевтическое действие при различных заболеваниях, вызванных 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 в отношении побочного действия (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 использование в качестве анти-ВИЧ комбинации, но и использование 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. Примеры способа парентерального введения включают чрескожное введение, подкожное введение, внутривенное введение, внутриартериальное введение, внутримышечное введение, интраперитонеальное введение, трансмукозальное введение, ингаляцию, трансназальное введение, глазные капли, ушные капли и интравагинальное введение.

Для перорального введения можно получить обычным способом и вводить любую обычно используемую лекарственную форму, такую как твердый препарат для внутреннего применения (например, таблетка, порошок, гранула, капсула, пилюля и пленка) или жидкий препарат для внутреннего применения (например, суспензия, эмульсия, эликсир, сироп, лимонад, спирт, ароматическая вода, экстракт, отвар и настойка). Таблетка может представлять собой таблетку с сахарным покрытием, таблетку с пленочным покрытием, таблетку с энтеросолюбильным покрытием, таблетку с замедленным высвобождением, таблетку-пастилку, сублингвальную таблетку, буккальную таблетку, жевательную таблетку или таблетку, распадающуюся при пероральном введении. Порошок и гранула могут представлять собой

сухой сироп. Капсула может быть мягкой капсулой, микрокапсулой или капсулой с замедленным высвобождением.

Для парентерального введения можно подходящим образом вводить любую обычно используемую лекарственную форму, такую как инъекция, капли и препарат для наружного применения (например, глазные капли, назальные капли, ушные капли, аэрозоль, ингаляционное средство, лосьон, настой, линимент, полоскание, клизма, мазь, повязка, желе, крем, пластырь, компресс, порошок для наружного применения и суппозиторий). Инъекция может представлять собой эмульсию 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. 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, педиатрические фармацевтические композиции можно вводить новорожденному (меньше 4 недель после рождения), младенцу (от 4 недель после рождения до 1 года), малышу (от 1 года до 7 лет), ребенку (от 7 лет до 15 лет) или пациентам от 15 до 18 лет. Например, гериатрические фармацевтические композиции вводят пациентам в возрасте 65 лет и старше.

Дозу фармацевтической композиции по настоящему изобретению желательно устанавливать с учетом возраста или массы тела пациента, типа или тяжести заболевания, способа введения и т.д. Для перорального введения доза обычно находится в диапазоне от 0,05 до 100 мг/кг/день, 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 описаны примеры.

Аббревиатуры:

ADDP: 1,1'-(азодикарбонил)дипиперидин;

Bn: бензил;

DEAD: диэтилазодикарбоксилат;

DIAD: диизопропилазодикарбоксилат;

DIEA: N,N-диизопропилэтиламин;

DMA: диметилацетамид;

DMEAD: ди-2-метоксиэтилазодикарбоксилат;

DMF: диметилформамид;

DMSO: диметилсульфоксид;

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

NMP: N-метилпирролидон;

PyBOP: (бензотриазол-1-илокси)трипирролидинофосфоний гексафторфосфат;

TBAF: фторид тетрабутиламмония;

THF: тетрагидрофуран;

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

Данные ЯМР в каждом примере были получены при 300 МГц или 400 МГц, а измерение осуществляли с использованием DMSO-d<sub>6</sub> или CDCl<sub>3</sub>. 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) VEN C18 (1,7 мкм, внутренний диаметр 2,1×50 мм) (Waters Corporation).

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 Corporation).

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 минуты, и 100% растворителя [В] поддерживали в течение 0,5 мин.

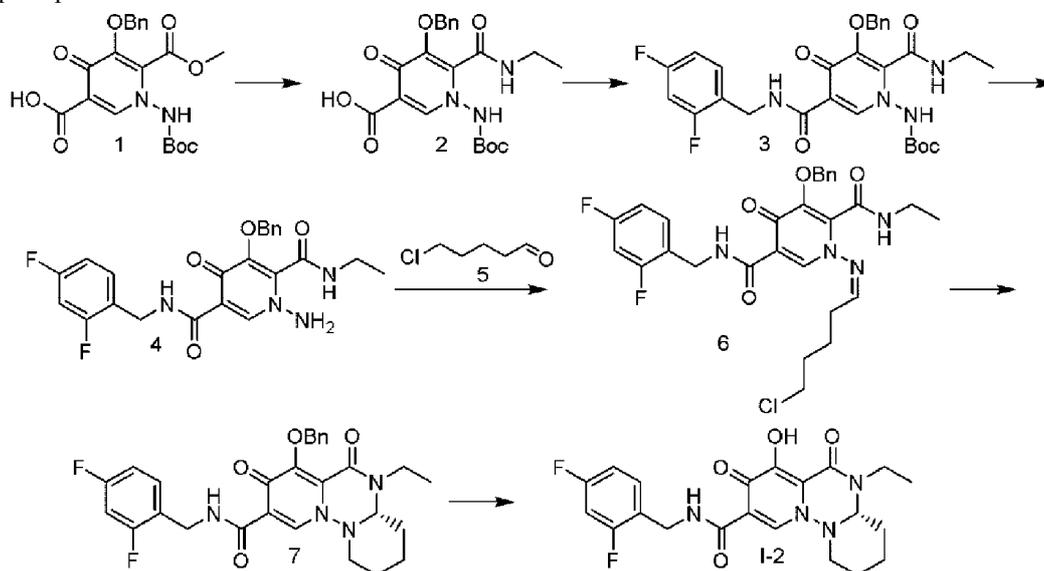
(С) Колонка: Shim-pack XR-ODS (2,2 мкм, внутренний диаметр 50×3,0 мм) (Shimadzu Corporation).

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

Подвижная фаза: [A]: водный раствор, содержащий 0,1% муравьиной кислоты [B]: раствор ацетонитрила, содержащий 0,1% муравьиной кислоты.

Градиент: линейный градиент от 10% до 100% растворителя [B] за 8 мин, и 100% растворителя [B] поддерживали в течение 0,5 мин.

Пример 1.



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%).

<sup>1</sup>H-ЯМР (CDCl<sub>3</sub>) 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.

Соединение 2 (9,59 г, 22,2 ммоль) растворяли в дихлорметане (180 мл). К раствору добавляли (2,4-дифторфенил)метанамин (4,77 г, 33,3 ммоль), RuVOP (13,9 г, 26,7 ммоль) и DIEA (11,7 мл, 66,7 ммоль) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. Реакционный раствор промывали водой и насыщенным соевым раствором. Органический слой сушили над сульфатом натрия и затем осуществляли отгонку растворителя. Полученный остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (хлороформ-метанол) с получением соединения 3 (11,5 г, выход 93%).

<sup>1</sup>H-ЯМР (CDCl<sub>3</sub>) δ: 10,20 (т, J=5,8 Гц, 1H), 8,54 (шир.с, 1H), 8,49 (с, 1H), 7,38 (м, 5H), 6,87-6,79 (м, 2H), 6,61 (т, J=5,5 Гц, 1H), 5,28 (с, 2H), 4,64 (д, J=5,9 Гц, 2H), 3,18 (ддт, J=18,8, 10,2, 3,8 Гц, 3H), 1,83-1,80 (м, 1H), 1,43 (с, 9H), 0,99 (т, J=7,3 Гц, 3H).

Стадия 3.

Соединение 3 (11,5 г, 9,54 ммоль) растворяли в диоксане (57,5 мл). К раствору добавляли 4 моль/л раствор хлористоводородной кислоты в диоксане (300 мл) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4 ч. Растворитель из реакционного раствора отгоняли при пониженном давлении. Затем к остатку добавляли насыщенный водный раствор карбоната натрия и смесь экстрагировали смесью хлороформ-метанол. Органический слой сушили над сульфатом натрия и затем осуществляли отгонку растворителя. Полученный неочищенный продукт отверждали из диизопропилового эфира с получением соединения 4 (7,80 г, выход 83%).

<sup>1</sup>H-ЯМР (CDCl<sub>3</sub>) δ: 10,33 (с, 1H), 8,60 (с, 1H), 7,39 (м, 5H), 6,83 (м, 3H), 5,82 (с, 2H), 5,26 (с, 2H), 4,64 (д, J=5,8 Гц, 2H), 3,28-3,21 (м, 2H), 1,02 (т, J=7,3 Гц, 3H).

Стадия 4.

Соединение 4 (200 мг, 0,438 ммоль) растворяли в дихлорметане (4 мл). К раствору добавляли соединение 5 (111 мг, 0,920 ммоль) и уксусную кислоту (каталитическое количество) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 19 ч. Реакционный раствор концентрировали при пониженном давлении и остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (хлороформ-метанол) с получением соединения 6 (265 мг, выход 100%).

МС:  $m/z=559$   $[M+H]^+$ .

Стадия 5.

Соединение 6 (245 мг, 0,438 ммоль) растворяли в DMF (5 мл). К раствору добавляли карбонат цезия (428 мг, 1,31 ммоль) при 0°C и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. К реакционному раствору добавляли разбавленную хлористоводородную кислоту и смесь экстрагировали 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 рацемической смеси (139 мг, выход 60%).

Полученную рацемическую смесь подвергали оптическому разделению методом SFC с получением соединения 7.

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

Скорость потока: 30 мл/мин.

Длина волны УФ-детекции: 250 нм.

Условия фракционирования: поддерживали композиционное соотношение смеси MeOH/CO<sub>2</sub>=45/55, и раствор подавали в течение 21 мин.

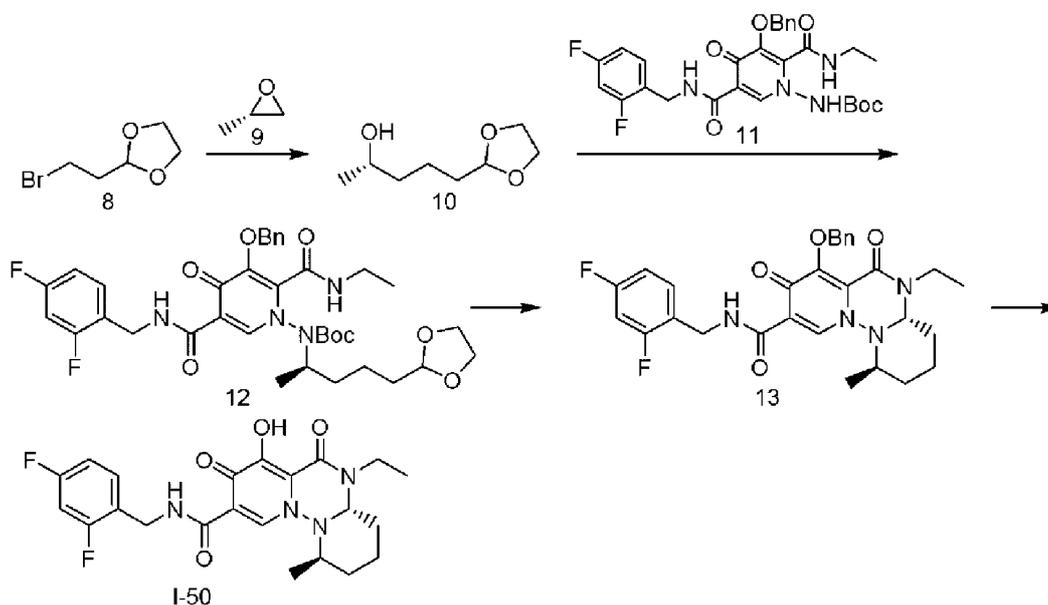
<sup>1</sup>H-ЯМР (CDCl<sub>3</sub>) δ: 10,46 (с, 1H), 8,51 (с, 1H), 7,58 (м, 2H), 7,34 (м, 4H), 6,81 (м, 2H), 5,41 (д, J=10,4 Гц, 1H), 5,26 (д, J=10,4 Гц, 1H), 4,91 (с, 1H), 4,64 (м, 2H), 4,39 (дд, J=14,3, 7,2 Гц, 1H), 3,18-2,88 (м, 3H), 2,24 (д, J=14,7 Гц, 1H), 2,00 (м, 1H), 1,85 (м, 2H), 1,72 (д, J=13,6 Гц, 1H), 1,38 (м, 1H), 1,16 (т, J=7,1 Гц, 3H).

Стадия 6.

Соединение 7 (44,0 мг, 0,0840 ммоль) растворяли в DMF (0,88 мл). К раствору добавляли хлорид лития (35,7 мг, 0,842 ммоль) и смесь перемешивали при 90°C в течение 1,5 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 (19 мг, выход 52%).

<sup>1</sup>H-ЯМР (CDCl<sub>3</sub>) δ: 11,98 (с, 1H), 10,42 (с, 1H), 8,46 (с, 1H), 7,36 (дд, J=15,2, 8,6 Гц, 1H), 6,83-6,77 (м, 2H), 5,06 (с, 1H), 4,64 (м, 2H), 4,35 (тд, J=14,2, 6,9 Гц, 1H), 3,20-3,09 (м, 2H), 3,00 (д, J=10,8 Гц, 1H), 2,31 (д, J=15,4 Гц, 1H), 2,06 (м, 1H), 1,89 (м, 2H), 1,76 (м, 1H), 1,42-1,36 (м, 1H), 1,24 (т, J=7,1 Гц, 4H).

Пример 2.



Стадия 1.

В атмосфере азота раствор соединения 8 (1,3 мл, 11,1 ммоль) в THF (7,0 мл) добавляли по каплям к раствору магния (322 мг, 13,3 ммоль) в THF (3,0 мл) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Реакционный раствор охлаждали до 0°C и добавляли йодид меди (210 мг, 1,1 ммоль) и по каплям добавляли раствор соединения 9 (1,2 мл, 16,6 ммоль) в THF (6,0 мл). Смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 2 ч. К реакционному раствору добавляли насыщенный водный раствор хлорида аммония. Смесь экстрагировали этилацетатом. Органический слой промывали насыщенным соевым раствором и сушили над безводным сульфатом натрия и затем осуществляли отгонку растворителя. Полученный остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (гексан-этилацетат) с получением соединения 10 (192 мг, выход 11%).

<sup>1</sup>H-ЯМР (CDCl<sub>3</sub>) δ: 4,86 (т, J=4,8 Гц, 1H), 3,99-3,96 (м, 2H), 3,90-3,79 (м, 3H), 1,72-1,67 (м, 2H), 1,55-1,48 (м, 4H), 1,36 (д, J=4,5 Гц, 1H), 1,20 (д, J=6,3 Гц, 3H).

## Стадия 2.

К раствору соединения 11 (334 мг, 0,60 ммоль) в THF (2,0 мл) добавляли соединение 10 (192,2 мг, 1,2 ммоль), трифенилфосфин (315 мг, 1,2 ммоль) и бис(2-метоксиэтил) азодикарбоксилат (281 мг, 1,0 ммоль) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. К реакционному раствору добавляли воду и смесь экстрагировали этилацетатом. Органический слой промывали насыщенным соевым раствором и сушили над безводным сульфатом натрия и затем осуществляли отгонку растворителя. Полученный остаток подвергали грубой очистке колоночной хроматографией на силикагеле (гексан-этилацетат).

МС:  $m/z=699$   $[M+H]^+$ .

## Стадия 3.

К раствору грубоочищенного продукта (100 мг), полученного на стадии 2, в ацетонитриле (1,0 мл), добавляли гидрат п-толуолсульфоновой кислоты (45,1 мг, 0,242 ммоль) и смесь нагревали с обратным холодильником в течение 210 мин. Реакционному раствору давали остыть до комнатной температуры и добавляли насыщенный водный раствор гидрокарбоната натрия. Смесь экстрагировали этилацетатом. Органический слой промывали насыщенным соевым раствором и сушили над безводным сульфатом натрия и затем осуществляли отгонку растворителя. Полученный остаток растворяли в DMF (1,0 мл). К раствору добавляли карбонат цезия (140 мг, 0,43 ммоль) и бензилбромид (34,1 мкл, 0,29 ммоль) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. К реакционному раствору добавляли воду и смесь экстрагировали этилацетатом. Органический слой промывали насыщенным соевым раствором и сушили над безводным сульфатом натрия и затем осуществляли отгонку растворителя. Полученный остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (хлороформ-метанол) с получением соединения 13 (65,1 мг).

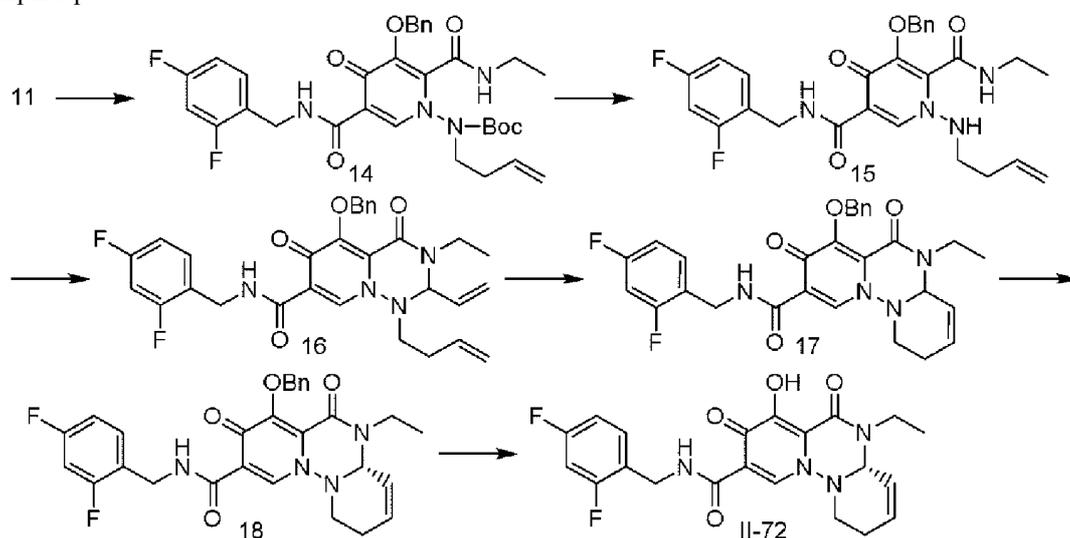
МС:  $m/z=537$   $[M+H]^+$ .

## Стадия 4.

Соединение 13 подвергали той же реакции, как на стадии 6 примера 1, с получением соединения I-50 (31 мг, выход 57%).

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 11,93 (с, 1H), 10,40 (с, 1H), 8,39 (с, 1H), 7,40-7,34 (м, 1H), 6,84-6,77 (м, 2H), 5,11-5,09 (м, 1H), 4,64 (д,  $J=5,8$  Гц, 2H), 4,40-4,31 (м, 1H), 3,27-3,21 (м, 1H), 3,13-3,06 (м, 1H), 2,32-2,28 (м, 1H), 2,12-2,04 (м, 1H), 1,86-1,83 (м, 1H), 1,79-1,75 (м, 1H), 1,63-1,48 (м, 2H), 1,21 (т,  $J=7,2$  Гц, 3H), 0,89 (д,  $J=6,3$  Гц, 3H).

## Пример 3.



## Стадия 1.

К раствору соединения 11 (352 мг, 0,629 ммоль) в DMF (3,5 мл) добавляли карбонат калия (261 мг, 1,89 ммоль) и 4-бромбутен (147 мг, 0,943 ммоль) и смеси давали прореагировать в течение ночи при комнатной температуре. К реакционному раствору добавляли воду и смесь экстрагировали этилацетатом. Органический слой промывали водой и насыщенным соевым раствором и сушили над безводным сульфатом натрия и затем осуществляли отгонку растворителя.

МС:  $m/z=611$   $[M+H]^+$ .

## Стадия 2.

К полученному на стадии 1 неочищенному продукту добавляли 4 моль/л раствор хлористоводородной кислоты в диоксане (3,15 мл) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. К реакционному раствору добавляли насыщенный водный раствор бикарбоната натрия и смесь экстрагиро-

вали этилацетатом. Органический слой промывали насыщенным соевым раствором и сушили над безводным сульфатом натрия и затем осуществляли отгонку растворителя.

МС:  $m/z=511 [M+H]^+$ .

Стадия 3.

Полученный на стадии 2 неочищенный продукт, акролеин (102 мг, 1,83 ммоль) и гидрат п-толуолсульфоновой кислоты (11,6 мг, 0,061 ммоль) растворяли в дихлорэтане (9,6 мл). Раствор перемешивали при 100°C в течение 6 ч. После того как реакционному раствору давали остыть до комнатной температуры, добавляли воду и насыщенный водный раствор бикарбоната натрия и смесь экстрагировали этилацетатом. Органический слой промывали насыщенным соевым раствором и сушили над безводным сульфатом натрия и затем осуществляли отгонку растворителя. Полученный остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (гексан-этилацетат) с получением соединения 16 (115 мг).

МС:  $m/z=549 [M+H]^+$ .

Стадия 4.

Соединение 16 (66,4 мг, 0,121 ммоль) и катализатор Ховейды-Граббса второго поколения (60 мг, 0,139 ммоль) растворяли в дихлорметане (10 мл). Раствор нагревали с обратным холодильником в течение 6 ч. Растворитель из реакционного раствора затем отгоняли и полученный остаток подвергали грубой очистке колоночной хроматографией на силикагеле (этилацетат-метанол).

МС:  $m/z=521 [M+H]^+$ .

Стадия 5.

Полученное на стадии 4 соединение 17 подвергали оптическому разделению методом SFC с получением соединения 18.

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

Скорость потока: 20 мл/мин.

Длина волны УФ-детекции: 220 нм.

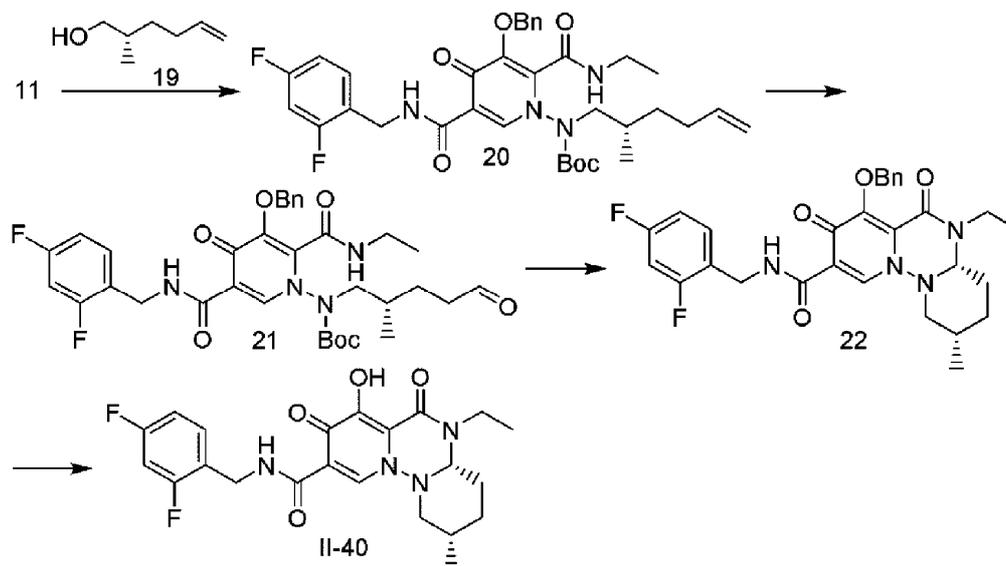
Аналитические условия: поддерживали композиционное соотношение MeOH/CO<sub>2</sub>=70/30, и раствор подавали в течение 21 мин.

Стадия 6.

Соединение 18 подвергали той же реакции, как на стадии 6 примера 1, с получением соединения II-72 (11 мг, выход 74%).

<sup>1</sup>H-ЯМР (CDCl<sub>3</sub>) δ: 11,93 (с, 1H), 10,42 (т, J=5,6 Гц, 1H), 8,50 (с, 1H), 7,40-7,33 (м, 1H), 6,84-6,77 (м, 2H), 6,28-6,24 (м, 1H), 5,96-5,91 (м, 1H), 5,32 (д, J=5,2 Гц, 1H), 4,68 (дд, J=15,2, 6,0 Гц, 1H), 4,61 (дд, J=15,6, 6,0 Гц, 1H), 3,83 (дт, J=21,2, 7,2 Гц, 1H), 3,53 (дт, J=20,8, 6,8 Гц, 1H), 3,39 (тт, J=11,2, 4,4 Гц, 1H), 3,04 (дд, J=10,8, 6,8 Гц, 1H), 2,77-2,68 (м, 1H), 2,35 (дт, J=18,8, 4,8 Гц, 1H), 1,23 (т, J=7,2 Гц, 3H).

Пример 4.



Стадия 1.

К раствору соединения 11 (326 мг, 0,59 ммоль), соединения 19 (87 мг, 0,77 ммоль) и трифенилфосфина (307 мг, 1,18 ммоль) в THF (3,5 мл) добавляли ди-2-метоксиэтилазodicарбоксилат (274 мг, 1,18 ммоль) при 0°C и смесь оставляли выстаиваться при комнатной температуре в течение 12 ч. К реакционному раствору добавляли воду и смесь экстрагировали этилацетатом. Органический слой промывали водой и насыщенным соевым раствором и сушили над безводным сульфатом натрия и затем осуществляли отгонку растворителя. Полученный остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (гексан-этилацетат) с получением соединения 20 (293 мг, выход 77%).

МС:  $m/z=653$   $[M+H]^+$ .

Стадия 2.

Соединение 20 (287 мг, 0,44 ммоль) суспендировали в диоксане (3,4 мл) и воде (2,3 мл). К суспензии при 0°C добавляли 2,6-лутидин (0,10 мл), гидропериодат натрия (282 мг, 1,32 ммоль) и калия осмат(VI) дигидрат (8,0 мг, 0,02 ммоль) и смесь нагревали от 0°C до комнатной температуры в течение 5 ч. Реакционный раствор фильтровали через Целит® и добавляли 10% водный раствор тиосульфата натрия. Смесь экстрагировали этилацетатом. Органический слой промывали водой и насыщенным соевым раствором и сушили над безводным сульфатом натрия и затем осуществляли отгонку растворителя. Полученный остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (гексан-этилацетат) с получением соединения 21 (223 мг, выход 78%).

МС:  $m/z=655$   $[M+H]^+$ .

Стадия 3.

Соединение 21 (192 мг, 0,29 ммоль) растворяли в 4 моль/л растворе хлористоводородной кислоты в диоксане (1,47 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Растворитель отгоняли и полученный неочищенный продукт растворяли в толуоле (2,0 мл). К раствору добавляли каталитическое количество уксусной кислоты, и смесь перемешивали при 90°C в течение 2 ч. К реакционному раствору добавляли насыщенный водный раствор бикарбоната натрия и смесь экстрагировали этилацетатом. Органический слой промывали водой и насыщенным соевым раствором и сушили над сульфатом натрия и затем осуществляли отгонку растворителя. Полученный остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле с получением диастереомерной смеси. Полученную диастереомерную смесь подвергали оптическому разделению методом SFC с получением соединения 22 (69 мг, выход 44%).

Колонка: использовали последовательно две колонки CHIRALPAK IC/SFC (5 мкм, внутренний диаметр 250×20 мм).

Скорость потока: 20 мл/мин.

Длина волны УФ-детекции: 220 нм.

Условия фракционирования: поддерживали композиционное соотношение MeOH/CO<sub>2</sub>=65/35 и раствор подавали в течение 35 мин.

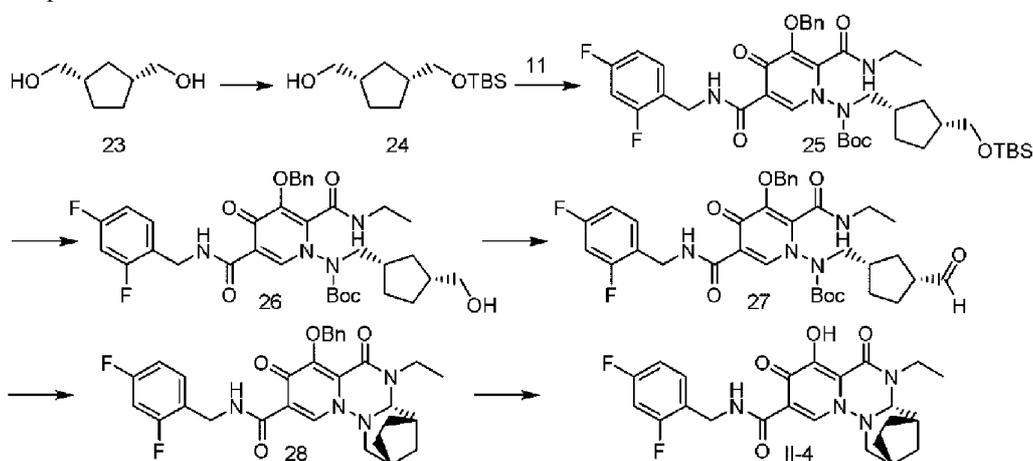
МС:  $m/z=537$   $[M+H]^+$ .

Стадия 4.

Соединение 22 подвергали той же реакции, как на стадии 6 примера 1, с получением соединения II-40.

МС:  $m/z=447$   $[M+H]^+$ .

Пример 5.



Стадия 1.

К раствору соединения 23 (1,59 г, 12,2 ммоль) в DMF (16,0 мл) при 0°C добавляли имидазол (0,998 г, 14,66 ммоль) и трет-бутилдиметилсилилхлорид (1,84 г, 12,21 ммоль) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. К реакционному раствору добавляли насыщенный водный раствор хлорида аммония и смесь экстрагировали этилацетатом. Органический слой промывали водой и насыщенным соевым раствором и сушили над безводным сульфатом натрия, затем осуществляли отгонку растворителя. Полученный остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (гексан-этилацетат) с получением соединения 24 (1,39 г, 47%).

<sup>1</sup>H-ЯМР (CDCl<sub>3</sub>) δ: 3,47-3,55 (м, 4H), 2,09-2,15 (м, 2H), 1,88-1,95 (с, 1H), 1,65-1,79 (м, 2H), 1,32-1,42 (м, 2H), 0,88-0,89 (м, 1H), 0,85 (с, 9H), 0,039 (с, 6H).

Стадия 2.

К раствору соединения 24 (400 мг, 0,164 ммоль), соединения 11 (700 мг, 1,26 ммоль) и трифенилфосфина (660 мг, 2,52 ммоль) в THF (7 мл) при 0°C добавляли ди-2-метоксиэтилазодикарбоксилат

(589 мг, 2,52 ммоль) и смесь оставляли выстаиваться при комнатной температуре в течение 12 ч. К реакционному раствору добавляли воду и смесь экстрагировали этилацетатом. Органический слой промывали водой и сушили над безводным сульфатом натрия и затем осуществляли отгонку растворителя. Полученный остаток подвергали грубой очистке колоночной хроматографией на силикагеле (гексан-этилацетат).

Стадия 3.

К раствору соединения 25 (1,06 г, 1,35 ммоль) в THF (10,0 мл) добавляли 1 моль/л раствор ТВАФ в THF (1,63 мл, 1,63 ммоль) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 12 ч. К реакционному раствору добавляли насыщенный водный раствор хлорида аммония и смесь экстрагировали этилацетатом. Органический слой промывали водой и насыщенным соевым 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 (720 мг, выход 80%).

МС:  $m/z=669$   $[M+H]^+$ .

Стадия 4.

К раствору соединения 26 (720 мг, 1,08 ммоль) в дихлорметане (8,0 мл) добавляли периодинан Деса-Мартина при 0°C. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. К реакционному раствору добавляли 10% водный раствор тиосульфата натрия и насыщенный водный раствор гидрокарбоната натрия, и смесь экстрагировали хлороформом. Органический слой промывали водой и насыщенным соевым раствором и сушили над безводным сульфатом натрия, затем растворитель отгоняли дистилляцией. Полученный остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (гексан-этилацетат) с получением соединения 27 (393 мг, выход 55%).

МС:  $m/z=667$   $[M+H]^+$ .

Стадия 5.

Раствор соединения 27 (393 мг, 0,59 ммоль) в ацетонитриле (8,0 мл) нагревали до 60°C и перемешивали в течение 80 мин. К реакционному раствору добавляли насыщенный водный раствор гидрокарбоната натрия и смесь экстрагировали этилацетатом. Органический слой промывали водой и насыщенным соевым раствором и сушили над безводным сульфатом натрия, затем осуществляли отгонку растворителя. Полученный неочищенный продукт растворяли в DMF (4,0 мл). К раствору добавляли карбонат цезия (576 мг, 1,77 ммоль) и бензилбромид (0,21 мл, 1,77 ммоль) при 0°C и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. К реакционному раствору добавляли воду и смесь экстрагировали этилацетатом. Органический слой промывали водой и насыщенным соевым раствором и сушили над безводным сульфатом натрия, затем осуществляли отгонку растворителя. Полученный остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (гексан-этилацетат) и подвергали оптическому разделению методом SFC с получением соединения 28 (89 мг, выход 28%).

Колонка: использовали последовательно две колонки CHIRALPAK IC/SFC (5 мкм, внутренний диаметр 250×20 мм).

Скорость потока: 20 мл/мин.

Длина волны УФ-детекции: 220 нм.

Условия фракционирования: поддерживали композиционное соотношение MeOH/CO<sub>2</sub>=75/25 и раствор подавали в течение 45 мин.

МС:  $m/z=549$   $[M+H]^+$ .

Стадия 6.

Соединение 28 подвергали той же реакции, как на стадии 6 примера 1, с получением соединения II-4 (11 мг, выход 74%).

МС:  $m/z=459$   $[M+H]^+$ .

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

№	Структура	№	Структура
I-001		I-011	
I-003		I-012	
I-004		I-013	
I-005		I-014	
I-006		I-015	
I-007		I-016	
I-008		I-017	
I-009		I-018	
I-010		I-019	

№	Структура	№	Структура
I-020		I-029	
I-021		I-030	
I-022		I-031	
I-023		I-032	
I-024		I-033	
I-025		I-034	
I-026		I-035	
I-027		I-036	
I-028		I-037	

№	Структура	№	Структура
I-038		I-046	
I-039		I-047	
I-040		I-048	
I-041		I-049	
I-042		I-051	
I-043		I-052	
I-044		I-053	
I-045		II-001	

№	Структура	№	Структура
II-002		II-012	
II-003		II-013	
II-005		II-014	
II-006		II-015	
II-007		II-016	
II-008		II-017	
II-009		II-018	
II-010		II-019	
II-011		II-020	

№	Структура	№	Структура
II-021		II-030	
II-022		II-031	
II-023		II-032	
II-024		II-033	
II-025		II-034	
II-026		II-035	
II-027		II-036	
II-028		II-037	
II-029		II-038	

№	Структура	№	Структура
II-039		II-048	
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	

№	Структура	№	Структура
II-056		II-065	
II-057		II-066	
II-058		II-067	
II-059		II-068	
II-060		II-069	
II-061		II-070	
II-062		II-071	
II-063		II-073	
II-064		II-074	

№	Структура	№	Структура
II-075		II-083	
II-076		II-084	
II-077		II-085	
II-078		II-086	
II-079		II-087	
II-080		II-088	
II-081		II-089	
II-082		II-090	

№	Структура	№	Структура
II-091		II-099	
II-092		II-100	
II-093		II-101	
II-094		II-102	
II-095		II-103	
II-096		II-104	
II-097		II-105	
II-098		II-106	

	Структура	№	Структура
II-107		II-116	
II-108		II-117	
II-109		II-118	
II-110		II-119	
II-111		II-120	
II-112		II-121	
II-113		II-122	
II-114		II-123	
II-115		II-124	

№	Структура	№	Структура
II-125		II-133	
II-126		II-134	
II-127		II-135	
II-128		II-136	
II-129		II-137	
II-130		II-138	
II-131		II-139	
II-132		II-140	

№	Структура	№	Структура
II-141		II-149	
II-142		II-150	
II-143		II-151	
II-144		II-152	
II-145		II-153	
II-146		II-154	
II-147		II-155	
II-148		II-156	

Таблица 13

№	Структура	№	Структура
II-157		II-159	
II-158			

Физические данные по каждому соединению показаны ниже.

Таблица 14

№	МС	Заряд	№	МС	Заряд	№	МС	Заряд	№	МС	Заряд	№	МС	Заряд
I-001	435	M+H	I-050	447	M+H	II-046	479	M+H	II-095	450	M+H	II-144	447	M+H
I-002	433	M+H	I-051	495	M+H	II-047	435	M+H	II-096	449	M+H	II-145	461	M+H
I-003	467	M+H	I-052	523	M+H	II-048	493	M+H	II-097	485	M+H	II-146	512	M+H
I-004	469	M+H	I-053	487	M+H	II-049	451	M+H	II-098	491	M+H	II-147	459	M+H
I-005	453	M+H	II-001	479	M+H	II-050	458	M+H	II-099	449	M+H	II-148	449	M+H
I-006	447	M+H	II-002	507	M+H	II-051	433	M+H	II-100	524	M+H	II-149	475	M+H
I-007	467	M+H	II-003	475	M+H	II-052	447	M+H	II-101	488	M+H	II-150	477	M+H
I-008	433	M+H	II-004	459	M+H	II-053	465	M+H	II-102	461	M+H	II-151	503	M+H
I-009	534	M+H	II-005	493	M+H	II-054	433	M+H	II-103	436	M+H	II-152	477	M+H
I-010	434	M-Cl	II-006	493	M+H	II-055	478	M+H	II-104	419	M+H	II-153	475	M+H
I-011	451	M+H	II-007	451	M+H	II-056	460	M+H	II-105	463	M+H	II-154	499	M+H
I-012	447	M+H	II-008	449	M+H	II-057	434	M+H	II-106	481	M+H	II-155	499	M+H
I-013	448	M-Cl	II-009	459	M+H	II-058	449	M+H	II-107	449	M+H	II-156	475	M+H
I-014	493	M+H	II-010	477	M+H	II-059	463	M+H	II-108	437	M+H	II-157	462	M+H
I-015	419	M+H	II-011	495	M+H	II-060	477	M+H	II-109	417	M+H	II-158	449	M+H
I-016	463	M+H	II-012	463	M+H	II-061	449	M+H	II-110	491	M+H	II-159	461	M+H
I-017	459	M+H	II-013	457	M+H	II-062	450	M+H	II-111	431	M+H			
I-018	467	M+H	II-014	449	M+H	II-063	469	M+H	II-112	467	M+H			
I-019	449	M+H	II-015	477	M+H	II-064	479	M+H	II-113	433	M+H			
I-020	461	M+H	II-016	491	M+H	II-065	435	M+H	II-114	501	M+H			
I-021	447	M+H	II-017	473	M+H	II-066	463	M+H	II-115	465	M+H			
I-022	489	M+H	II-018	473	M+H	II-067	491	M+H	II-116	453	M+H			
I-023	489	M+H	II-019	450	M+H	II-068	433	M+H	II-117	433	M+H			
I-024	477	M+H	II-020	465	M+H	II-069	464	M+H	II-118	459	M+H			
I-025	451	M+H	II-021	475	M+H	II-070	467	M+H	II-119	449	M+H			
I-026	473	M+H	II-022	435	M+H	II-071	447	M+H	II-120	471	M+H			
I-027	481	M+H	II-023	447	M+H	II-072	431	M+H	II-121	419	M+H			
I-028	459	M+H	II-024	449	M+H	II-073	433	M+H	II-122	445	M+H			
I-029	447	M+H	II-025	459	M+H	II-074	437	M+H	II-123	433	M+H			
I-030	447	M+H	II-026	449	M+H	II-075	449	M+H	II-124	501	M+H			
I-031	445	M+H	II-027	467	M+H	II-076	450	M+H	II-125	492	M+H			
I-032	447	M+H	II-028	461	M+H	II-077	415	M+H	II-126	463	M+H			
I-033	466	M+H	II-029	469	M+H	II-078	473	M+H	II-127	463	M+H			
I-034	449	M+H	II-030	473	M+H	II-079	485	M+H	II-128	485	M+H			
I-035	449	M+H	II-031	465	M+H	II-080	451	M+H	II-129	427	M+H			
I-036	451	M+H	II-032	463	M+H	II-081	448	M+H	II-130	451	M+H			
I-037	451	M+H	II-033	453	M+H	II-082	433	M+H	II-131	447	M+H			
I-038	449	M+H	II-034	491	M+H	II-083	431	M+H	II-132	501	M+H			
I-039	477	M+H	II-035	463	M+H	II-084	501	M+H	II-133	463	M+H			
I-040	477	M+H	II-036	449	M+H	II-085	447	M+H	II-134	431	M+H			
I-041	501	M+H	II-037	445	M+H	II-086	431	M+H	II-135	435	M+H			
I-042	433	M+H	II-038	463	M+H	II-087	437	M+H	II-136	461	M+H			
I-043	531	M+H	II-039	461	M+H	II-088	492	M+H	II-137	461	M+H			
I-044	463	M+H	II-040	447	M+H	II-089	447	M+H	II-138	435	M+H			
I-045	451	M+H	II-041	463	M+H	II-090	449	M+H	II-139	449	M+H			
I-046	469	M+H	II-042	435	M+H	II-091	449	M+H	II-140	431	M+H			
I-047	465	M+H	II-043	501	M+H	II-092	415	M+H	II-141	434	M+H			
I-048	467	M+H	II-044	465	M+H	II-093	463	M+H	II-142	451	M+H			
I-049	483	M+H	II-045	435	M+H	II-094	451	M+H	II-143	510	M+H			

Примеры биологических испытаний для соединения по настоящему изобретению описаны ниже.

Любое соединение по настоящему изобретению оказывает заметный ингибирующий эффект на интегразу вируса.

В частности, в способах оценки, описанных ниже, соединение по настоящему изобретению имеет значение  $EC_{50}$  предпочтительно 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 нм и 690 нм, используя микропланшетный ридер. Концентрацию, ингибирующую 50% ВИЧ ( $EC_{50}$ ), определяли по кривой зависимости от концентрации с использованием следующей модели четырех-параметрической логистической кривой.

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

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 15

№	EC50 нМ	№	EC50 нМ	№	EC50 нМ	№	EC50 нМ	№	EC50 нМ
I-001	0.52	I-044	1.20	II-034	0.73	II-077	1.10	II-120	0.22
I-002	0.63	I-045	0.73	II-035	1.30	II-078	1.10	II-121	0.71
I-003	1.40	I-046	0.43	II-036	3.80	II-079	0.66	II-122	0.61
I-004	0.56	I-047	1.50	II-037	0.64	II-080	0.58	II-123	1.60
I-005	1.30	I-048	1.20	II-038	2.00	II-081	3.10	II-124	2.60
I-006	0.76	I-049	2.30	II-039	2.90	II-082	0.74	II-125	1.30
I-007	4.00	I-050	0.62	II-040	2.60	II-083	0.95	II-126	0.45
I-008	2.00	I-051	0.72	II-041	0.66	II-084	1.80	II-127	3.60
I-009	1.20	I-052	5.50	II-042	3.20	II-085	1.30	II-128	0.72
I-010	1.90	I-053	0.94	II-043	1.40	II-086	1.00	II-129	1.90
I-011	2.20	II-001	1.00	II-044	0.84	II-087	1.40	II-130	0.13
I-012	4.00	II-002	0.77	II-045	2.00	II-088	3.10	II-131	0.49
I-013	5.60	II-003	6.20	II-046	0.19	II-089	0.94	II-132	0.51
I-014	10.00	II-004	0.92	II-047	0.57	II-090	3.20	II-133	0.43
I-015	3.60	II-005	0.62	II-048	0.55	II-091	4.10	II-134	3.00
I-016	1.40	II-006	0.58	II-049	0.77	II-092	0.33	II-135	18.00
I-017	6.10	II-007	0.62	II-050	2.80	II-093	0.32	II-136	0.65
I-018	2.10	II-008	1.50	II-051	0.74	II-094	0.57	II-137	33.00
I-019	1.80	II-009	2.60	II-052	0.62	II-095	1.90	II-138	2.10
I-020	1.30	II-010	1.00	II-053	1.40	II-096	0.68	II-139	0.62
I-021	1.10	II-011	0.49	II-054	0.34	II-097	1.00	II-140	3.60
I-022	1.10	II-012	3.60	II-055	0.58	II-098	4.00	II-141	0.65
I-023	0.62	II-013	0.40	II-056	0.83	II-099	0.33	II-142	0.74
I-024	2.90	II-014	0.55	II-057	1.70	II-100	3.00	II-143	3.20
I-025	1.90	II-015	0.95	II-058	0.79	II-101	1.60	II-144	1.60
I-026	3.50	II-016	0.65	II-059	0.66	II-102	0.61	II-145	0.68
I-027	0.89	II-017	1.60	II-060	0.27	II-103	3.70	II-146	1.60
I-028	1.90	II-018	2.90	II-061	3.40	II-104	0.69	II-147	0.66
I-029	12.00	II-019	0.23	II-062	3.20	II-105	0.58	II-148	0.50
I-030	36.00	II-020	1.50	II-063	3.60	II-106	0.22	II-149	1.20
I-031	0.69	II-021	0.72	II-064	1.20	II-107	2.30	II-150	0.55
I-032	1.20	II-022	0.74	II-065	4.90	II-108	0.61	II-151	1.60
I-033	2.50	II-023	0.46	II-066	0.17	II-109	2.40	II-152	0.70
I-034	1.30	II-024	1.40	II-067	0.62	II-110	2.10	II-153	0.74
I-035	3.20	II-025	1.10	II-068	0.61	II-111	0.56	II-154	0.67
I-036	1.40	II-026	0.18	II-069	0.90	II-112	0.70	II-155	1.20
I-037	2.00	II-027	0.39	II-070	0.58	II-113	0.72	II-156	0.33
I-038	0.72	II-028	1.40	II-071	0.74	II-114	1.50	II-157	2.20
I-039	4.40	II-029	3.80	II-072	0.83	II-115	0.87	II-158	0.27
I-040	0.70	II-030	0.86	II-073	0.25	II-116	0.68	II-159	0.56
I-041	0.66	II-031	0.34	II-074	0.71	II-117	2.00		
I-042	0.72	II-032	1.50	II-075	6.30	II-118	2.20		
I-043	3.50	II-033	0.22	II-076	3.30	II-119	0.54		

Результаты испытаний показали, что соединение по настоящему изобретению обладает высокой активностью против ВИЧ, таким образом, было обнаружено, что соединение по настоящему изобретению 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 CO<sub>2</sub>. 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). Хемиллюминесцентный 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 (EC<sub>50</sub>), определяли по кривой зависимости от концентрации с использованием следующей модели четырех-параметрической логистической кривой.

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

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.

$$FC=EC_{50} \text{ мутантного штамма}/EC_{50} \text{ дикого штамма}$$

Результаты

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

Таблица 16

№	Мутантный штамм 1	Мутантный штамм 2	№	Мутантный штамм 1	Мутантный штамм 2	№	Мутантный штамм 1	Мутантный штамм 2
I-002	24	22	II-026	8.1	14	II-090	38	25
I-006	24	16	II-028	9.9	15	II-093	39	38
I-011	13	10	II-031	10	6.9	II-099	44	26
I-015	51	18	II-040	15	16	II-102	47	45
II-004	3.1	4.2	II-041	15	28	II-104	48	17
II-005	3.1	7.4	II-042	15	7.9	II-105	48	62
II-009	4.6	7.7	II-046	17	28	II-106	49	25
II-013	5.6	6.4	II-048	17	34	II-108	50	27
II-015	5.7	7.3	II-049	18	17	II-112	53	24
II-018	6.1	8.7	II-051	19	21	II-133	76	17
II-020	6.4	8.9	II-060	22	16	II-136	78	110
II-021	6.6	9	II-066	25	15	II-153	18	10
II-022	6.8	7.7	II-071	27	22	II-156	26	16
II-023	7	4.2	II-077	32	36	II-157	36	25
II-024	7.3	7	II-087	38	14			

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

Соединение I-15: 7,7.

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

Соединение I-15: 10.

На основании приведенных выше результатов испытаний было выявлено, что соединение по настоящему изобретению имеет высокий барьер резистентности и с меньшей вероятностью будет генерировать ВИЧ резистентные вирусы.

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-этоксирезорифина (CYP1A2), метилгидроксилирования толбутиама (CYP2C9), 4'-гидроксилирования мефенитоина (CYP2C19), О-деметиличивания 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 индексов.

Реакционные условия были следующими: субстрат 0,5 мкмоль/л этоксирезорифина (CYP1A2), 100 мкмоль/л толбутиама (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 буфера Нерес добавляли в 96-луночный планшет в композиции, описанной выше, и добавляли NADPH, в качестве кофермента, для инициирования реакций метаболизма. После инкубации при 37°C в течение 15 мин добавляли раствор метанол/ацетонитрил=1/1 (об./об.) для остановки ре-

акции. После центрифугирования при 3000 об/мин в течение 15 мин количественно определяли резорфин (метаболит СYP1A2) в полученном в результате центрифугирования супернатанте с использованием флуоресцентного многоканального счетчика или ЖХ/МС/МС, а гидроксид толбутамида (метаболит СYP2C9), 4'-гидроксид мефенитоина (метаболит СYP2C19), декстрометорфан (метаболит СYP2D6) и терфенадиновый спирт (метаболит СYP3 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 IC<sub>50</sub> рассчитывали путем обратной оценки на основе логистической модели с использованием концентраций и процентов подавления.

Пример испытания 4. Испытание MBI СYP3A4 (MDZ).

Это испытание в отношении ингибирования СYP3A4 соединением по настоящему изобретению предназначено для оценки способности к механизму-основанному ингибированию (МБИ) от усиления ингибирующего эффекта, вызванного реакцией метаболизма, соединения по настоящему изобретению. Ингибирование СYP3A4 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 минуты; 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 буфере К-Рi (рН 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 буфером К-Рi, 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 буфером К-Рi, 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 планшет, в котором осуществляли каждую маркерную реакцию, центрифугировали при 3000 об/мин в течение 15 мин, 1-гидроксимидазолам в супернатанте количественно оценивали при помощи ЖХ/МС/МС.

Образец, полученный путем добавления к реакционной смеси только DMSO, который представляет собой растворитель, растворяющий соединение, вместо соединения по настоящему изобретению, был принят в качестве контроля (100%). Остаточную активность (%) рассчитывали при каждой концентрации соединения по настоящему изобретению по сравнению с контролем, и значение IC рассчитывали путем обратной вероятности при помощи логистической модели с использованием концентрации и степени ингибирования. Сдвинутое 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 (-).

Результат

Соединение I-15: (-).

Соединение II-066: (-).

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 солюбилизации.

(5) Пути введения. Пероральное введение осуществляли принудительно в желудок при помощи перорального зонда. Внутривенное введение осуществляли в хвостовую вену шприцом с 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: 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 (BA) 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 солибилизируют 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<sub>tot</sub>) и период полу выведения (t<sub>1/2</sub>) рассчитывали как изменение концентрации соединения по настоящему изобретению в плазме с использованием анализа моментов.

Соединение I-15: 0,111 мл/мин/кг, 12,3 ч.

Соединение II-028: 0,102 мл/мин/кг, 26,7 ч.

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

Пример испытания 7. (Испытание на метаболическую стабильность.)

Осуществляли взаимодействие коммерчески доступных объединенных микросом печени человека с соединением по настоящему изобретению в течение определенного времени. Остаточное содержание рассчитывали путем сравнения прореагировавшего образца и непрореагировавшего образца для оценки степени, в которой соединение по настоящему изобретению метаболизируется в печени.

Реакцию осуществляли (окислительная реакция) при 37°C в течение 0 мин или 30 мин в присутствии 1 ммоль/л NADPH в 0,2 мл буфера (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 17

№	Остаточное содержание										
I-002	103	II-015	74.3	II-028	74.2	II-051	96	II-099	88.6	II-136	77.2
I-006	92.5	II-018	77.6	II-031	86	II-060	61.6	II-102	101	II-153	75.4
I-011	88	II-020	90.7	II-040	88.3	II-066	97.7	II-104	96.9	II-156	98.6
I-015	103	II-021	89.1	II-041	94.3	II-071	104	II-105	84.3	II-157	105
II-004	81.6	II-022	101	II-042	97.4	II-077	100	II-106	96.1		
II-005	80.2	II-023	82.9	II-046	88.4	II-087	105	II-108	97.2		
II-009	80.8	II-024	84.1	II-048	73.3	II-090	95.7	II-112	90		
II-013	87	II-026	87.5	II-049	83.2	II-093	97.5	II-133	101		

Пример испытания 8. Метод флуктуации Эймса.

Оценивали мутагенность соединения 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. Для TA98 штамма, 7,70-8,00 мл бактериального раствора центрифугировали (2000×g, 10 мин) для удаления культуральной среды. Бактерии суспендировали в Micro F буфере (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>: 3,5 г/л, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>: 1 г/л, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: 1 г/л, тринатрий цитрата дигидрата: 0,25 г/л и MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O: 0,1 г/л) с таким же объемом, как объем бактериального раствора, используемого для центрифугирования. Суспензию добавляли к 120 мл Воздействующей среды (Micro F буфер, содержащий биотин: 8 мкг/мл, гистидин: 0,2 мкг/мл и глюкозу: 8 мг/мл). Для TA100 штамма, 3,10-3,42 мл бактериального раствора добавляли к 120-130 мл Воздейст-

вующей 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-нитрохиолин-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 (Misto F буфер, 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 росту в результате мутации гена аминокислота (гистидин)-синтезирующего фермента, меняет цвет от пурпурного до желтого из-за изменения pH, бактериальный рост 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 секунд. Раствор 0,1% диметилсульфоксида во внеклеточном растворе (NaCl: 145 ммоль/л, KCl: 4 ммоль/л, CaCl<sub>2</sub>: 2 ммоль/л, MgCl<sub>2</sub>: 1 ммоль/л, глюкоза: 10 ммоль/л, HEPES (4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновая кислота): 10 ммоль/л, pH=7,4) использовали в качестве носителя. Носитель и раствор соединения по настоящему изобретению, растворенного при целевой концентрации во внеклеточном растворе, соответственно, прилагали к клетке в течение 7 минут или более при комнатной температуре. На основании полученного  $I_{Kr}$  измеряли абсолютное значение максимального следового тока на основании значения тока при мембранном потенциале покоя с использованием программы для анализа (QPatch Assay software; Sophion Bioscience A/S). Максимальный следовой ток после применения соединения по настоящему изобретению относительно максимального следового тока после применения носителя затем рассчитывали как процент ингибирования для оценки влияния соединения по настоящему изобретению на  $I_{Kr}$ .

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 соответственно добавляли к 198 мкл JP-1 жидкости или JP-2 жидкости. После встряхивания при комнатной температуре в течение 1 ч смешанные растворы фильтровали путем аспирации. Фильтраты разбавляли 10- или 100-кратно метанолом/водой=1/1 (об./об.) или ацетонитрилом/метанолом/водой=1/1/2 (об./об./об.) и концентрации в фильтратах измеряли методом абсолютной калибровочной кривой с использованием ЖХ/МС или твердофазной экстракции (ТФЭ)/МС.

Композиция JP-1 жидкости показана ниже.

Воду добавляют к 2,0 г хлорида натрия и 7,0 мл хлористоводородной кислоты до достижения 1000 мл.

Композиция JP-2 жидкости показана ниже.

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

Пример испытания 11. Испытание растворимости порошка.

Подходящее количество соединения по настоящему изобретению помещали в подходящие контейнеры и 200 мкл JP-1 жидкости (вода добавлена к 2,0 г хлорида натрия и 7,0 мл хлористоводородной кислоты до достижения 1000 мл), JP-2 жидкости (1 объем воды добавлен к 1 объему раствора, в котором 3,40 г дигидрофосфата калия и 3,55 г безводного динатрий гидрофосфата растворены в воде до достижения 1000 мл) или 20 ммоль/л натрий таурохолат (ТСА) в JP-2 жидкости (JP-2 жидкость добавлена к 1,08 г ТСА до достижения 100 мл) добавляли к каждому контейнеру. Когда соединение полностью растворялось, добавляли подходящее количество соединения по настоящему изобретению. После встряхивания в течение 1 ч при 37°C смесь фильтровали и 100 мкл метанола добавляли к 100 мкл каждого фильтрата

(двукратное разбавление). 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 оценивают 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 смешивают с 0,5 мл S9 смеси в метаболических активирующих условиях или 0,5 мл фосфатно-буферного раствора и 0,1 мл каждого испытываемого бактериального раствора в неметаболических активирующих условиях и смесью покрывают чашку с агаром с минимальным содержанием глюкозы вместе с 2 мл мягкого агара для покрытия, содержащего гистидин и биотин или триптофан. Одновременно также осуществляют подобные тесты в отношении вещества, используемого в качестве отрицательного контроля (DMSO), и вещества, используемого в качестве положительного контроля (2-(2-фурил)-3-(5-нитро-2-фурил)акриламид, азид натрия, 9-аминоакридин или 2-аминоантрацен). После культивирования при 37°C в течение 48 ч появившиеся ревертантные колонии подсчитывают и оценивают путем сравнения с группой отрицательного контроля. Когда количество ревертантных колоний увеличивается зависимым от концентрации образом и превышает в два или более раз количество колоний в группе отрицательного контроля, определяют положительный результат (+).

Пример испытания 13. Испытание для определения Nav.

В целях оценки риска аритмогенеза, связанного с соединением по настоящему изобретению, эффекты соединения по настоящему изобретению на  $\text{Na}^+$  ток ( $I_{\text{Na}}$ ), 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  $I_{\text{Na}}$ , индуцированный стимуляцией деполяризации при -10 мВ в течение 20 миллисекунд. Раствор 0,3% диметилсульфоксида во внеклеточном растворе (NaCl: 145 ммоль/л, KCl: 4 ммоль/л,  $\text{CaCl}_2$ : 2 ммоль/л,  $\text{MgCl}_2$ : 1 ммоль/л, глюкоза: 10 ммоль/л, HEPES (4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновая кислота): 10 ммоль/л, ТЕА (гидроксид тетраэтиламмония): 10 ммоль/л, pH=7,4) использовали в качестве носителя. Носитель и раствор соединения по настоящему изобретению, растворенного при целевой концентрации во внеклеточном растворе, соответственно, прилагали к клетке в течение 5 мин или более при комнатной температуре. На основании полученного  $I_{\text{Na}}$  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 максимальный пиковый ток при применении соединения по настоящему изобретению относительно максимального пикового тока при применении носителя для оценки влияния соединения по настоящему изобретению на  $I_{\text{Na}}$ .

#### Результат

Соединение I-2: 101%.

Соединение I-15: 92,1%.

Соединение II-31: 79%.

На основании результатов, показывающих, что не наблюдали никакого явного увеличения тока, было определено, что соединение по настоящему изобретению не вызывает опасений по поводу аритмии из-за повышения Na тока.

Пример испытания 14. Испытание для оценки активности против ВИЧ с использованием мононуклеарных клеток периферической крови (РВМС) здоровых людей.

Серийные разведения испытываемого образца получали в 96-луночном микропланшете (50 мкл/луночка).  $1,0 \times 10^5$ /луночка РВМС, стимулированных Фитогемагглютинином (РНА), и раствор вируса ВИЧ смешивали в количестве, соответствующем необходимому количеству лунок, и смеси давали прореагировать при 37°C в течение 1 ч. После реакции клеточную суспензию центрифугировали и супернатант сливали и инфицированные клетки распределяли в культуральной среде в необходимом количестве лунок при 150 мкл/луночка. Полученную среду распределяли при 150 мкл/луночка в 96-луночный микропланшет, содержащий исследуемый образец. Планшет перемешивали при помощи миксера для планшетов и культивировали в течение 4 дней в инкубаторе с  $\text{CO}_2$ . Измеряли активность обратной транскриптазы в культуральной среде. ВИЧ-ингибирующую концентрацию 90% ( $\text{EC}_{90}$ ) определяли из кривой зависимости от концентрации с использованием следующей модели четырех-параметрической логистической кривой.

$$y = A + \frac{(B - A)}{(1 + (C/x)^D)}$$

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 II-31: 0,73 нМ.

Соединение II-51: 3,3 нМ.

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

Серийные разведения испытываемого образца получали в 96-луночном микропланшете (50 мкл/лунка). Раствор сывороточного белка человека (50% концентрация сывороточного белка человека) распределяли при 100 мкл/лунка в 96-луночный микропланшет, содержащий исследуемый образец, и оставляли выстаиваться при комнатной температуре в течение 1 ч. Для планшета, не содержащего сыворотку, культуральную среду распределяли при 100 мкл/лунка.  $3,0 \times 10^5$ /лунка клеток МТ-4 и 3 мкл/лунка вирусного раствора ВИЧ смешивали в количестве, соответствующем необходимому количеству лунок, и смеси давали прореагировать при 37°C в течение 1 ч. После реакции клеточную суспензию центрифугировали и супернатант сливали и инфицированные клетки распределяли в культуральной среде в количестве, соответствующем необходимому количеству лунок, при 50 мкл/лунка и распределяли при 50 мкл/лунка в 96-луночный микропланшет, содержащий исследуемый образец и человеческий сывороточный белок (конечная концентрация человеческого сывороточного белка: 25%). Планшет перемешивали при помощи миксера для планшетов и культивировали в течение 4 дней в инкубаторе с CO<sub>2</sub>. 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<sub>2</sub>. 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. После перемешивания в планшете измеряли оптическую плотность смешанного при двух длинах волн 560 нм и 690 нм, используя микропланшетный ридер. Концентрацию 50% ингибирования ВИЧ (EC<sub>50</sub>) определяли по кривой зависимости от концентрации с использованием следующей модели четырех-параметрической логистической кривой.

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

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 (%).

Изменение активности (PS) также рассчитывали на основании выражения, представленного ниже. Следует отметить, что PS представляет собой 100% экстраполированное значение концентрации человеческого сывороточного белка.

PS=4×(EC<sub>50</sub> в присутствии 25% человеческого сывороточного белка/EC<sub>50</sub> в отсутствие человеческого сывороточного белка).

#### Результат

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

Соединение II-31: 364.

Соединение II-51: 236.

#### Пример получения

Соединение по настоящему изобретению можно вводить в виде фармацевтической композиции любым обычным путем, в частности, энтерально, например перорально, например, в форме таблетки или капсулы, или парентерально, например, в форме инъекции или суспензии, или местно, например, в форме 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 с по меньшей мере 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 форме таблетки, гранулы или капсулы, содержащей эксципиент, разрыхлитель, связующее, лубрикант или т.п., и активный ингредиент или т.п. Кроме того, композицию для инъекций можно получить в форме раствора или суспензии, и она может быть стерилизована. Композиция для инъекций может также содержать консервант, стабилизатор, буферный агент и т.п.

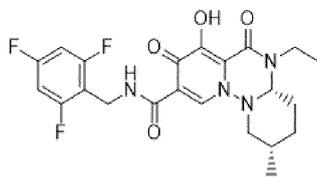
#### Промышленная применимость

Соединение по настоящему изобретению обладает активностью, направленной на ингибирование интегразы, и/или активностью, направленной на ингибирование клеточного роста, против вируса, в частности ВИЧ. Следовательно, соединение по настоящему изобретению полезно для профилактики или ле-

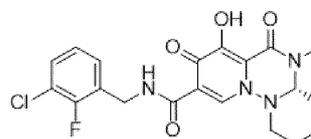
чения различных заболеваний, вирусных инфекций (например, СПИДа) и т.д., в которые вовлечена интеграза.

### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

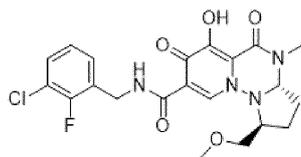
1. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение выбрано из группы, состоящей из



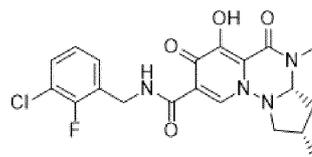
II-20,



II-22,

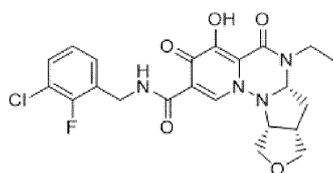


II-31,



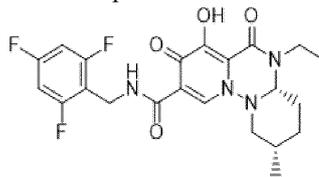
II-42

и



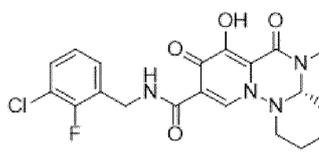
II-60.

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



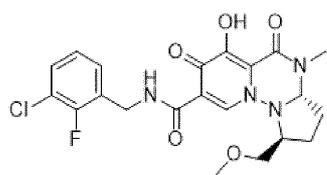
II-20.

3. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль по п.1, где соединение представляет собой



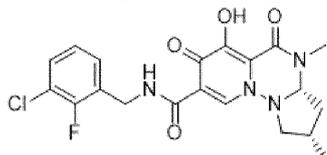
II-22.

4. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль по п.1, где соединение представляет собой



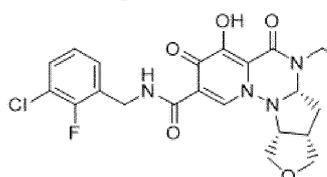
II-31.

5. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль по п.1, где соединение представляет собой



II-42.

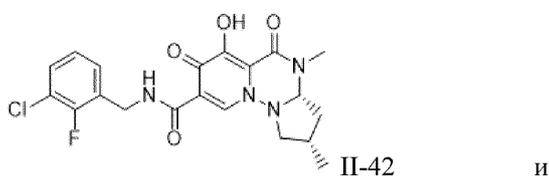
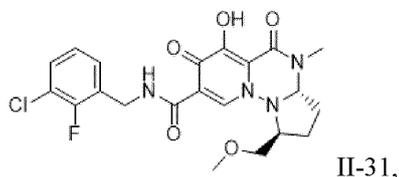
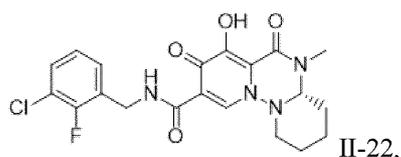
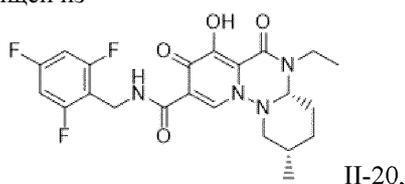
6. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль по п.1, где соединение представляет собой



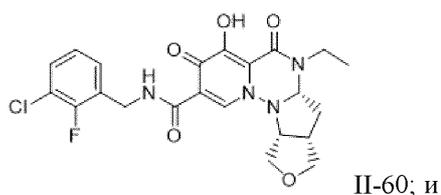
II-60.

7. Фармацевтическая композиция для лечения и/или профилактики ВИЧ-инфекции, включающая

эффективное количество соединения или его фармацевтически приемлемой соли, выбранного из группы, состоящей из

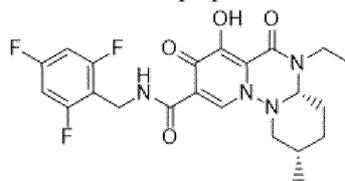


и



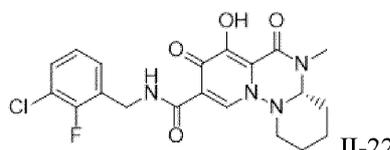
фармацевтически приемлемый носитель или фармацевтически приемлемый разбавитель.

8. Фармацевтическая композиция для лечения и/или профилактики ВИЧ-инфекции по п.7, содер-



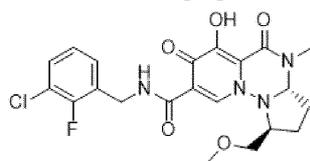
жащая эффективное количество соединения фармацевтически приемлемой соли и фармацевтически приемлемый носитель или фармацевтически приемлемый разбавитель.

9. Фармацевтическая композиция для лечения и/или профилактики ВИЧ-инфекции по п.7, содер-



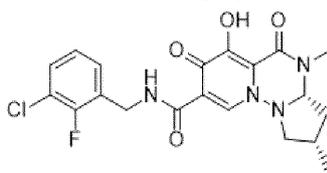
жащая эффективное количество соединения фармацевтически приемлемой соли и фармацевтически приемлемый носитель или фармацевтически приемлемый разбавитель.

10. Фармацевтическая композиция для лечения и/или профилактики ВИЧ-инфекции по п.7, содер-



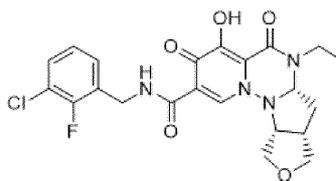
жащая эффективное количество соединения фармацевтически приемлемой соли и фармацевтически приемлемый носитель или фармацевтически приемлемый разбавитель.

11. Фармацевтическая композиция для лечения и/или профилактики ВИЧ-инфекции по п.7, содер-



жащая эффективное количество соединения фармацевтически приемлемой соли и фармацевтически приемлемый носитель или фармацевтически приемлемый разбавитель.

12. Фармацевтическая композиция для лечения и/или профилактики ВИЧ-инфекции по п.7, содер-



П-60 или его фармацевтиче-

жески приемлемой соли и фармацевтически приемлемый носитель или фармацевтически приемлемый разбавитель.

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

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

15. Применение соединения по любому из пп.1-6 или его фармацевтически приемлемой соли для получения лекарственного средства, обладающего анти-ВИЧ активностью.

