

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(11) 044023

(13) B1

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента  
2023.07.18

(21) Номер заявки  
202190324

(22) Дата подачи заявки  
2020.03.27

(51) Int. Cl. C07D 498/14 (2006.01)  
A61K 31/5383 (2006.01)  
A61P 31/16 (2006.01)

(54) ЗАМЕЩЕННЫЙ 3,4,12,12А-ТЕТРАГИДРО-1Н-[1,4]ОКСАЗИНО[3,4-С]ПИРИДО[2,1-*F*][1,2,4]ТРИАЗИН-6,8-ДИОН, ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ, СПОСОБЫ ИХ ПОЛУЧЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ

(31) 2019113751

(32) 2019.05.07

(33) RU

(43) 2021.05.18

(86) PCT/RU2020/000163

(87) WO 2020/226532 2020.11.12

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:  
ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ  
ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ "ХимРар  
Фарма" (RU)

(72) Изобретатель:

Иващенко Андрей Александрович  
(RU), Иващенко Александр  
Васильевич (US), Митькин Олег  
Дмитриевич (RU)

(74) Представитель:

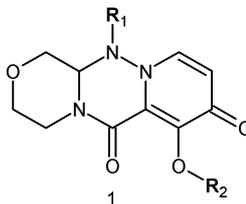
Шмакова Е.А. (RU)

(56) EP-A1-2620436

EP-A1-3290424

US-B2-9827244

(57) Грипп - острое инфекционное заболевание дыхательных путей, вызываемое вирусом гриппа. Входит в группу острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ). Периодически распространяется в виде эпидемий и пандемий. В настоящее время выявлено более 2000 вариантов вируса гриппа, различающихся между собой антигенным спектром. Учитывая, что грипп представляет собой серьезную угрозу для общественного здравоохранения (в глобальном масштабе ежегодные эпидемии приводят к 3-5 млн случаев тяжелой болезни, миллионам госпитализаций и до 650000 смертей во всем мире), представляется целесообразным поиск новых противовирусных препаратов, обладающих улучшенными характеристиками. Авторы неожиданно обнаружили, что неизвестное ранее соединение - замещенный 3,4,12,12а-тетрагидро-1Н-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дион общей формулы 1



где R<sup>1</sup> - 6,7-дифтор-5,10-дигидротиено[3,2-с][2]бензотиепин-10-ил, 7,8-дифтор-4,9-дигидротиено[2,23-с][2]бензотиепин-4-ил, (3,4-дифторфенил)(фенил)метил, (3,4-дифторфенил)(2-метилсульфанилфенил)метил, дифенилметил, бис(4-фторфенил)-метил; R<sup>2</sup> - водород или защитная группа, выбранная из ряда, включающего (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-алкил)оксикарбонилокси, {(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-алкил)оксикарбонил}окси, метокси, {[2-(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-алкил)оксиэтокси]карбонил}окси, {(1R)-2-[(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-алкил)окси]-1-метилэтокси}карбонилокси, {(3S)-тетрагидрофуран-3-илокси}карбонил}окси, [(тетрагидро-2Н-пиран-4-илокси)карбонил}окси, {(1-ацетилазетидин)-3-илокси}карбонил}окси, {(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-алкил)оксикарбонил}окси, метокси, {[2-(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-алкил)оксиэтокси]карбонил}окси, метокси, а также его стереоизомер, их пролекарство, фармацевтически приемлемая соль, сольват гидрат и их кристаллическая или поликристаллическая форма являются эффективным средством для профилактики и лечения вирусных заболеваний, в том числе гриппа.

B1

044023

044023

B1

### Область техники

Данное изобретение относится к неизвестному ранее соединению - замещенному 3,4,12,12а-тетрагидро-1Н-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-диону, которое является эффективным средством для профилактики и лечения вирусных заболеваний, в том числе гриппа.

### Предшествующий уровень техники

Грипп - острое инфекционное заболевание дыхательных путей, вызываемое вирусом гриппа. Входит в группу острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ). Периодически распространяется в виде эпидемий и пандемий. В настоящее время выявлено более 2000 вариантов вируса гриппа, различающихся между собой антигенным спектром. По оценкам ВОЗ от всех вариантов вируса во время сезонных эпидемий в мире ежегодно умирают от 250 до 500 тыс. человек (большинство из них старше 65 лет), в некоторые годы число смертей может достигать миллиона.

Впервые вирус был выделен в 1930-е гг. Вирусы гриппа относятся к семейству ортомиксовирусов (лат. Orthomyxoviridae) - семейство РНК-содержащих вирусов. Это семейство включает семь типов вирусов, в том числе вирус гриппа А, вирус гриппа В, вирус гриппа С, вирус гриппа D. Три типа вируса гриппа, которые идентифицированы антигенными различиями в их нуклеопротеине и матричном белке, заражают позвоночных следующим образом. Вирус гриппа А заражает людей, других млекопитающих и птиц и вызывает все пандемии гриппа. Вирус гриппа В заражает людей и тюленей. Вирус гриппа С заражает людей, свиней и собак. Вирус гриппа D заражает (выделен в 2012 г.) сельскохозяйственных животных. Насколько известно, грипп D человеческие клетки не заражает.

Эпидемическое значение для людей имеют вирусы, содержащие три подтипа поверхностных белков гемагглютинаина (НА) (Н1, Н2, Н3) и два подтипа нейраминидазы (НА) (N1, N2). Вирусы гриппа А и В содержат НА и НА в качестве основных структурных и антигенных компонентов вирусной частицы, обладающих гемагглютинирующей и нейраминидазной активностями. У вируса гриппа С нет нейраминидазы, он обладает вместо этого гемагглютинин-эстеразным (проникающим) белком (HEF).

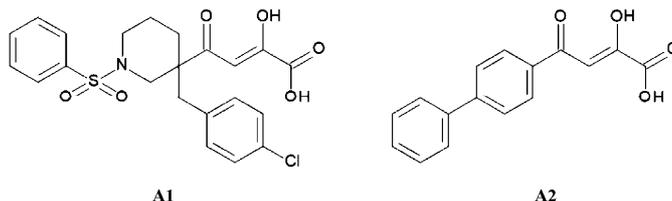
Значительным достижением современной биологии и медицины является разработка и внедрение в практику методов терапии вирусных инфекций, лечение, направленных на устранение причины возникновения заболевания, основанных на применении специфических ингибиторов, блокирующих функциональную активность вируса на разных этапах его цикла репликации.

Большинство противогриппозных препаратов, которые в настоящее время представлены на рынке, являются ингибиторами нейраминидазы (занамивир, озелтамивир, перимивир) или белка М2, формирующего протонные ионные каналы (амантадин, римантадин) [Hayden, F.G., Antivirals for influenza: historical perspectives and lessons learned, Antiviral. Res., 71, 372-8 (2006)]. Однако эти мишени, особенно последние, подвержены быстрым мутациям, которые могут придать противовирусную резистентность из-за неспособности вирусной РНК-зависимой РНК-полимеразы (RdRp) корректировать РНК во время репликации. Фактически Всемирная программа по гриппу Всемирной организации здравоохранения сообщила, что >99% штаммов сезонного гриппа А теперь устойчивы к амантадину и римантадину [Barr, I.G. et al., WHO recommendations for the viruses used in the 2013-2014 Northern Hemisphere influenza vaccine: Epidemiology, antigenic and genetic characteristics of influenza A(H1N1) pdm09, A(H3N2) and B influenza viruses collected from October 2012 to January 2013, vaccine 32, 4713-25 (2014)]. Это привело к поиску новых противовирусных соединений, нацеленных на другие важные вирусные процессы [Yen, H.L., Current and novel antiviral strategies for influenza infection, Curr. Opin. Virol., 18, 126-134 (2016)]. В этой связи РНК-зависимая РНК-полимераза (RdRp) или РНК репликаза вируса гриппа сама по себе является привлекательной лекарственной мишенью, поскольку она относительно медленно развивает лекарственную устойчивость, сохраняется в генотипах и имеет важное значение для репликации вируса.

В последнее десятилетие понимание RdRp вируса гриппа резко расширилось за счет выяснения архитектуры эндонуклеазы вируса гриппа с высоким разрешением [Dias, A. et al., The cap-snatching endonuclease of influenza virus polymerase resides in the PA subunit, Nature, 2009, 458, 914-918; Pflug, A. et al., Structure of influenza A polymerase bound to the viral RNA promoter, Nature, 2014, 516, 355-360.] и открытия полной гетеротримерной структуры RdRp [Hengrung, N. et al., Crystal structure of the RNA-dependent RNA polymerase from influenza C virus, Nature, 2015, 527, 114-117].

Находясь в ядрах инфицированных клеток, RdRp вируса гриппа представлена гетеротримером, состоящим из трех субъединиц: PA, PB1 и PB2. RdRp отвечает за репликацию и транскрипцию восьми разных сегментов РНК вирусного генома. Эта вирусная полимераза синтезирует вирусные мРНК, используя короткие Кэп-праймеры клетки хозяина. Эти Кэп-праймеры получают из клеточных транскриптов (РНК) с помощью уникального "Кэп-зависимого" механизма (The cap-dependent mechanism). В зараженной клетке, вирусная субъединица PB2 связывает Кэп pre-мРНК на их 5'-концах. После этого эти связанные с субъединицей PB2 CAP-РНК расщепляются вирусной эндонуклеазой после 10-13 нуклеотидов. Биохимические и структурные исследования, показывали, что эндонуклеазный активный центр располагается на аминокислотном участке из 209 аминокислотных остатков субъединицы PA. Этот домен имеет эндогенную РНК и ДНК эндонуклеазную активность, которая сильно активируется ионами марганца. Это соответствует наблюдениям, в которых сообщалось о зависимости от марганца эндонуклеазной активности интактной трех-субъединичной полимеразы [Dias, A. et al., 2009]. Возможность ингиби-

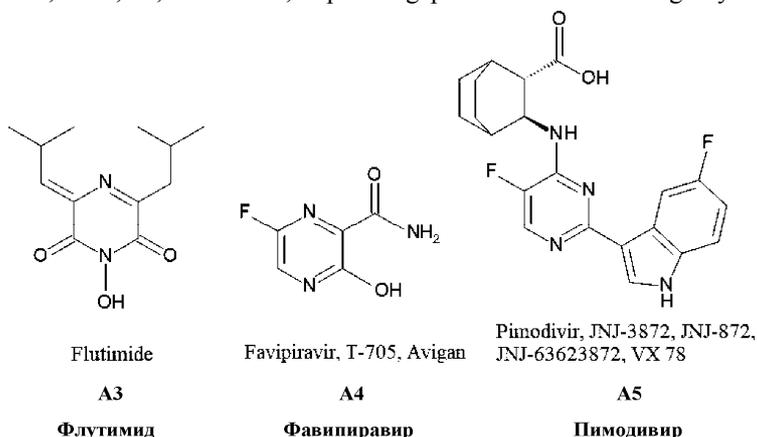
рования этой эндонуклеазной активности впервые была установлена почти четверть века назад на примере 4-замещенных 2,4-диоксобутановых кислот (например, соединения А1 А2) [J. Tomassini et al., Inhibition of cap (m7GpppXm)-dependent endonuclease of influenza vims by 4-substituted 2,4-dioxobutanoic acid compounds, *Antimicrob. Agents Chemoter.*, 1994, 2827-2837].



A1

A2

Несколько позже были выделены из культуры *Delitschia confertaspora* природные ингибиторы Саp-зависимой транскриптазы вирусов гриппа А и В, представляющие собой замещенные 2,6-дикетопиперазины, в том числе Флутимид (Flutimide) (A3) и его аналоги [J. Tomassini et al., A Novel Antiviral Agent Which Inhibits the Endonuclease of Influenza Viruses, *Antimicrob. Agents Chemoter.*, 1996, 1189-1193], а также синтетические препараты Фавипиравир (A4) [Furuta Y. et al., T-705 (favipiravir) and related compounds: Novel broad-spectrum inhibitors of RNA viral infections. *Antiviral Research.* 2009, 82 (3), 95-102] и Пимодивир (A5) [Clark, M.P. et al., Discovery of a novel, first-in-class, orally bioavailable azaindole inhibitor (VX-787) of influenza PB2, *J. Med. Chem.*, 2014, 57, 6668-6678; Byrn, R.A. et al., Preclinical activity of VX-787, a first-in-class, orally bioavailable inhibitor of the influenza virus polymerase PB2 subunit, *Antimicrob. Agents Chemoter.*, 2015, 59, 1569-1582, <https://ichgcp.net/clinical-trials-registry/NCT02342249>].



Flutimide

A3

Флутимид

Favipiravir, T-705, Avigan

A4

Фавипиравир

Pimodivir, JNJ-3872, JNJ-872, JNJ-63623872, VX 78

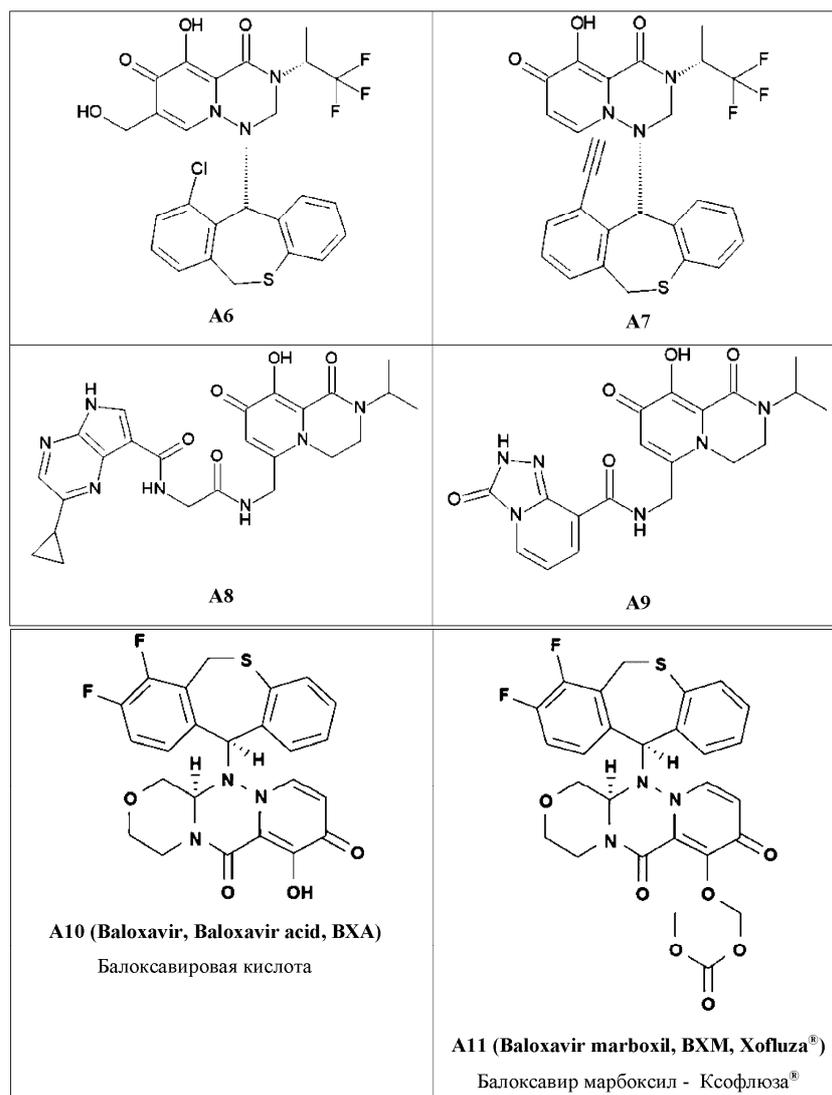
A5

Пимодивир

Фавипиравир (A4) препарат широкого спектра действия, который нацелен на многочисленные вирусные RdRps, включая вирус гриппа, был одобрен в Японии в 2014 г. и США в 2015 г. для экстренного использования в случае пандемии гриппа, несмотря на некоторые существенные опасения по поводу токсичности этого препарата [Nagata, T. et al., Favipiravir: a new medication for the Ebola virus disease pandemic, *Disaster. Med. Public Health Prep.*, 9, 79-81 (2015)].

Пимодивир (A5) первый в своем классе ингибитор репликации вируса гриппа, который блокирует PB2 активность комплекса вирусной полимеразы вируса гриппа [Clark, M.P. et al., Discovery of a novel, first-in-class, orally bioavailable azaindole inhibitor (VX-787) of influenza PB2, *J. Med. Chem.*, 2014, 57, 6668-6678; Byrn, R.A. et al., Preclinical activity of VX-787, a first-in-class, orally bioavailable inhibitor of the influenza virus polymerase PB2 subunit, *Antimicrob. Agents Chemoter.*, 2015, 59, 1569-1582, <https://ichgcp.net/clinical-trials-registry/NCT02342249>]. Препарат находится в фазе 3 клинических исследований, посвященной оценке эффективности и безопасности пимодивира в сочетании со стандартным лечением у подростков, взрослых и пожилых пациентов с инфекцией гриппа А [<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03376321>].

Сравнительно недавно были запатентованы полигетероциклические ингибиторы Саp-зависимой эндонуклеазы, включающие фрагмент замещенной 2,4-диоксобутановой кислоты, в том числе ингибиторы А6, А7 [EP 2620436B1 (приоритет 2010), <https://patents.google.com/patent/EP2620436B1>], А8, А9 [US 9827244B2 (приоритет 2016)] и А10, А11 [WO 2016175224A1; WO 2018030463 (приоритет 2016)].

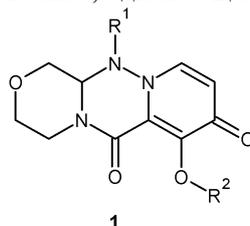


В этом ряду ингибиторов, по-видимому, наиболее эффективным является, Балоксавир A10 (Baloxavir, Baloxavir acid, BXA, (12aR)-7-гидрокси-12-[(11S)-5,11-дигидро[1]бензотиепино[3,4-b]пиридин-5-ил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-c]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-дион), пролекарство которого Балоксавир марбоксил A11 (Baloxavir marboxil, BXM, S-033188) - торговое название Ксофлуза (Xofluzar®) был утвержден в 2018 г. для лечения инфекции гриппа А и В в Японии и США.

Ксофлуза - первый почти за 20 лет пероральный противовирусный препарат с новым механизмом действия для лечения гриппа [S. Omoto at al., Characterization of influenza virus variants induced by treatment with the endonuclease inhibitor baloxavir marboxil, Scientific Reports, 2018, 8, article number: 9633].

Учитывая, что грипп представляет собой серьезную угрозу для общественного здравоохранения (в глобальном масштабе ежегодные эпидемии приводят к 3-5 млн случаев тяжелой болезни, миллионам госпитализаций и до 650000 смертей во всем мире) представляется целесообразным поиск новых противогриппозных препаратов, обладающих улучшенными характеристиками.

Авторы неожиданно обнаружили, что неизвестный ранее замещенный 3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-c]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-дион общей формулы 1



где R<sup>1</sup> - 6,7-дифтор-5,10-дигидротиено[3,2-c][2]бензотиепин-10-ил, 7,8-дифтор-4,9-дигидротиено[2,23-c][2]бензотиепин-4-ил, (3,4-дифторфенил)(фенил)метил, (3,4-дифторфенил)(2-метилсульфанилфенил)метил, дифенилметил, (3,4-дифторфенил)(2-метилсульфанилфенил)метил, дифенилметил, бис(4-фторфенил)метил;  
R<sup>2</sup> - водород или защитная группа,

а также его стереоизомер, их пролекарство, фармацевтически приемлемая соль, сольват гидрат и их кристаллическая или поликристаллическая форма, включающая это новое соединение фармацевтическая композиция, являются эффективными противогриппозными средствами.

Ниже приведены определения различных терминов, используемых для описания данного изобретения. Эти определения применимы к терминам, как они использованы в данном описании и формуле изобретения, если иным не ограничены в конкретных случаях либо по отдельности, либо как часть большей группы.

Термин "арил", используемый здесь, если не оговорено иначе, относится к замещенному или незамещенному фенилу (Ph), бифенилу или нафтилу; предпочтительно термин "арил" относится к замещенному или незамещенному фенилу. Арильная группа может быть замещена одним или несколькими фрагментами, выбранными из гидроксила, F, Cl, Br, I, amino, алкиламино, ариламино, алкокси, арилокси, нитро, циано, сульфокислоты, сульфата, фосфоновой кислоты, фосфата и фосфоната, при необходимости защищенными или нет, известные специалистам в данной области, например, такие, как описанные в книге Грин Т.В. и Ватса П.Г.М. "Защитные группы в органических синтезах" (T.W. Greene & P.G.M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", 3rd ed., John Wiley & Sons, 1999).

Термин "гетероарил", используемый здесь, относится к моно- или полициклическому ароматическому радикалу, у которого один или несколько атомов кольца выбираются из S, O и N, а остальные атомы кольца - углеродные. Гетероарил включает среди прочего пиридинил, пирозинил, пиримидинил, хинолинил, изохинолинил, бензимидазолил, бензооксазолил или хиноксалинил.

Термин "алкил", используемый здесь, относится к насыщенным, линейным или разветвленным углеводородным радикалам, содержащим от одного до шести атомов углерода. Примеры C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкильных радикалов включают среди прочего метил, этил, пропил, изопропил, n-бутил и трет-бутил.

Термин "защитная группа" используемый здесь, относится к заместителям, присоединенным к кислороду спиртовой группы, обычно используемым для блокировки или защиты функциональности спирта, или другого гидроксисоединения, что не мешает взаимодействию с соединением других функциональных групп [в книге Greene's Protective Groups in Organic Synthesis, editor Peter G.M., chapter 2, Protection for the Hydroxyl Group, Including 1,2- and 1,3-Diols, p. 17-471, 2014, <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/9781118905074>]. Предпочтительно выбраны из ряда, включающего (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-алкил)оксикарбонилокси, {[ (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-алкил)оксикарбонил]окси}метокси, {[2-(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-алкил)оксиэтокси]карбонил}окси, {[ (1R)-2-[(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-алкил)окси]-1-метилэтокси]}карбонил}окси, {[ (3S)-тетрагидрофуран-3-илокси]карбонил}окси, [(тетрагидро-2H-пиран-4-илокси)карбонил]окси, {[ (1-ацетилазетидин)-3-илокси]карбонил}окси, {[ (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-алкил)оксикарбонил]окси}метокси, {[2-(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-алкил)оксиэтокси]карбонил}окси}метокси.

Термин "пролекарство" относится к соединениям по изобретению, которые расщепляются химически или метаболически и становятся, путем сольволиза или в физиологических условиях, соединением по настоящему изобретению, которое фармацевтически активно в естественных условиях. Пролекарства часто имеют более высокую растворимость, тканевую совместимость, доставку или замедленное высвобождение у млекопитающих (Bungard, H., Design of products, p. 7-9, 21-24, Elsevier, Amsterdam, 1985). Пролекарства включают кислотные производные, хорошо известные специалистам в данной области техники, такие как, например, сложные эфиры, полученные реакцией исходного кислотного соединения с подходящим спиртом, или амиды, полученные реакцией соединения исходной кислоты с подходящим амином. Примеры пролекарств включают, но не ограничиваются ими, ацетат, формиат, бензоат или другие ацилированные производные спиртов или аминов функциональных групп в соединениях по настоящему изобретению.

Термин "активный компонент" (лекарственное вещество) относится к физиологически активному веществу синтетического или иного (биотехнологического, растительного, животного, бактерицидного и так далее) происхождения, обладающему фармакологической активностью, которое является активным ингредиентом фармацевтической композиции.

Термин "лекарственный препарат" означает вещество (или смесь веществ в виде фармацевтической композиции) в виде таблеток, капсул, инъекций, мазей и др. готовых форм, предназначенное для восстановления, исправления или изменения физиологических функций у человека и животных, а также для лечения и профилактики болезней, диагностики, анестезии, контрацепции, косметологии и прочего.

Термин "терапевтический коктейль" представляет одновременно администрируемую комбинацию двух и более лекарственных препаратов, обладающих различным механизмом фармакологического действия и направленных на различные биомишени, участвующие в патогенезе заболевания.

Термин "фармацевтическая композиция" обозначает композицию, включающую в себя соединение формулы I и по крайней мере один из компонентов, выбранных из группы, состоящей из фармацевтически приемлемых и фармакологически совместимых наполнителей, растворителей, разбавителей, носителей, вспомогательных, распределяющих и восприимчивых средств, средств доставки, таких как консерванты, стабилизаторы, наполнители, измельчители, увлажнители, эмульгаторы, суспендирующие агенты, загустители, подсластители, отдушки, ароматизаторы, антибактериальные агенты, фунгициды, лубриканты, регуляторы пролонгированной доставки, выбор и соотношение которых зависит от природы

и способа назначения и дозировки. Примерами суспендирующих агентов являются этоксилированный изостеариловый спирт, полиоксиэтилен, сорбитол и сорбитовый эфир, микрокристаллическая целлюлоза, метагидроксид алюминия, бентонит, агар-агар и трагакант, а также смеси этих веществ. Защита от действия микроорганизмов может быть обеспечена с помощью разнообразных антибактериальных и противогрибковых агентов, например, таких как парабены, хлорбутанол, сорбиновая кислота и подобные им соединения. Композиция может включать также изотонические агенты, например, сахара, хлористый натрий и им подобные. Пролонгированное действие композиции может быть обеспечено с помощью агентов, замедляющих абсорбцию активного компонента, например, моностеарат алюминия и желатин. Примерами подходящих носителей, растворителей, разбавителей и средств доставки являются вода, этанол, полиспирты, а также их смеси, растительные масла (такие, как оливковое масло) и инъекционные органические сложные эфиры (такие как этилолеат). Примерами наполнителей являются лактоза, молочный сахар, цитрат натрия, карбонат кальция, фосфат кальция и им подобные. Примерами измельчителей и распределяющих средств являются крахмал, альгиновая кислота и ее соли, силикаты. Примерами лубрикантов являются стеарат магния, лаурилсульфат натрия, тальк, а также полиэтиленгликоль с высоким молекулярным весом. Фармацевтическая композиция для перорального, сублингвального, трансдермального, внутримышечного, внутривенного, подкожного, местного или ректального введения активного компонента, одного или в комбинации с другим активным компонентом, может быть введена животным и людям в стандартной форме введения, в виде смеси с традиционными фармацевтическими носителями. Пригодные стандартные формы введения включают пероральные формы, такие как таблетки, желатиновые капсулы, пилюли, порошки, гранулы, жевательные резинки и пероральные растворы или суспензии, сублингвальные и трансбуккальные формы введения, аэрозоли, имплантаты, местные, трансдермальные, подкожные, внутримышечные, внутривенные, интраназальные или внутриглазные формы введения и ректальные формы введения.

Термин "инертный наполнитель", используемый в данном описании, относится к соединению, которое используют для получения фармацевтической композиции, и, как правило, безопасному, нетоксичному и ни биологически, ни иным образом нежелательному, и включает в себя вспомогательные вещества, которые являются приемлемыми для применения в ветеринарии, а также фармакологически приемлемыми для человеческого использования. Соединения по данному изобретению могут быть введены отдельно, но обычно их будут вводить в смеси с одним или более фармацевтически приемлемыми эксципиентами, разбавителями или носителями, выбранными с учетом предполагаемого пути введения и стандартной фармацевтической практики.

Термин "фармацевтически приемлемая соль" означает относительно нетоксичные органические и неорганические соли кислот и оснований, заявленных в настоящем изобретении. Эти соли могут быть получены *in situ* в процессе синтеза, выделения или очистки соединений или приготовлены специально. В частности, соли оснований могут быть получены специально, исходя из очищенного свободного основания заявленного соединения и подходящей органической или неорганической кислоты. Примерами полученных таким образом солей являются гидрохлориды, гидробромиды, сульфаты, бисульфаты, фосфаты, нитраты, ацетаты, оксалаты, валериаты, олеаты, пальмитаты, стеараты, лаураты, бораты, бензоаты, лактаты, тозилаты, цитраты, малеаты, фумараты, сукцинаты, тартраты, мезилаты, малонаты, салицилаты, пропионаты, этансульфонаты, бензолсульфонаты, сульфаматы и им подобные (подробное описание свойств таких солей дано в Berge, S.M. et al., "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci., 1977, 66:1-19). Соли заявленных кислот также могут быть специально получены реакцией очищенной кислоты с подходящим основанием, при этом могут быть синтезированы соли металлов и аминов. К металлическим относятся соли натрия, калия, кальция, бария, цинка, магния, лития и алюминия, наиболее желательными из которых являются соли натрия и калия. Подходящими неорганическими основаниями, из которых могут быть получены соли металлов, являются гидроксид, карбонат, бикарбонат и гидрид натрия, гидроксид и бикарбонат калия, поташ, гидроксид лития, гидроксид кальция, гидроксид магния, гидроксид цинка. В качестве органических оснований, из которых могут быть получены соли заявленных кислот, выбраны амины и аминокислоты, обладающие достаточной основностью, чтобы образовать устойчивую соль, и пригодные для использования в медицинских целях (в частности, они должны обладать низкой токсичностью). К таким аминам относятся аммиак, метиламин, диметиламин, триметиламин, этиламин, диэтиламин, триэтиламин, бензиламин, дибензиламин, дициклогексиламин, пиперазин, этилпиперидин, трис(гидроксиэтил)аминометан и подобные им. Кроме того, для солеобразования могут быть использованы гидроокиси тетраалкиламмония, например, такие как холин, тетраметиламмоний, тетраэтиламмоний и им подобные. В качестве аминокислот могут быть использованы основные аминокислоты - лизин, орнитин и аргинин.

Термин "кристаллическая форма" означает структуру вещества, характеризующуюся упаковкой образующих ее молекул в один из видов кристаллической решетки.

Термин "поликристаллическая форма" означает структуру вещества, имеющую поликристаллическое строение, т.е. состоящую из множества мелких монокристаллов, т.е. кристаллитов определенной кристаллической формы.

Термин "терапевтически эффективное количество", используемый здесь, означает количество суб-

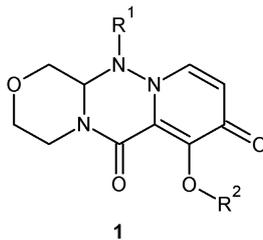
станции, пролекарства или лекарства, необходимое для уменьшения симптомов заболевания у субъекта. Доза субстанции, пролекарства или лекарства будет соответствовать индивидуальным требованиям в каждом конкретном случае. Эта доза может варьироваться в широких пределах в зависимости от многочисленных факторов, таких как тяжесть заболевания, подлежащего лечению, возраста и общего состояния здоровья пациента, других лекарственных средств, с помощью которых пациент проходит лечение, способа и формы введения и опыта лечащего врача. Для перорального введения суточная доза составляет приблизительно от 0,01 до 10 г, включая все значения между ними, в день в монотерапии и/или в комбинированной терапии. Предпочтительная суточная доза составляет примерно от 0,1 до 7 г в день. Как правило, лечение начинают с большой начальной "нагрузочной дозы", чтобы быстро уменьшить или устранить вирус, сопровождающей убывающую дозу до уровня, достаточного для предотвращения всплеска инфекции.

Термин "сольват" означает комплекс или агрегат, образуемый одной или более молекулами растворенного вещества, т.е. соединением согласно изобретению или его фармацевтически приемлемой солью и одной или более молекулами растворителя. Такие сольваты являются типичными твердыми кристаллами, имеющими, по существу, фиксированное молярное отношение растворенного вещества и растворителя. Репрезентативные растворители включают в себя, не ограничиваясь перечисленными, воду, этанол, изопропанол, уксусную кислоту и пр. Когда растворителем является вода, образуемый сольват представляет собой гидрат.

Термин "субъект" означает млекопитающее, которое включает, но не ограничивается ими, крупный рогатый скот, свиней, овец, куриц, индеек, буйволов, лам, страусов, собак, кошек и человека, предпочтительно субъектом является человек. Предполагается, что в способе лечения субъекта может быть любое из пролекарств общей формулы 1, его стереоизомер, изотопно-обогащенный аналог, его фармацевтически приемлемая соль, гидрат, сольват, кристаллическая и полиморфная форма, либо в сочетании их с другим соединением, в том числе с ингибитором NS5A HCV.

#### Раскрытие изобретения

Авторы неожиданно обнаружили, что неизвестный ранее замещенный 3,4,12,12а-тетрагидро-1Н-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-г][1,2,4]триазин-6,8-дион общей формулы 1



где R<sup>1</sup> - 6,7-дифтор-5,10-дигидротиено[3,2-с][2]бензотиепин-10-ил, 7,8-дифтор-4,9-дигидротиено[2,23-с][2]бензотиепин-4-ил, (3,4-дифторфенил)(фенил)метил, (3,4-дифторфенил)(2-метилсульфанилфенил)метил, дифенилметил, бис(4-фторфенил)метил;

R<sup>2</sup> - водород или защитная группа, выбранная из ряда, включающего бензил, (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-алкил)оксикарбонилокси, {(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-алкил)оксикарбонил}окси, метокси, {[2-(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-алкил)оксиэтокси]карбонил}окси, {(1R)-2-[(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-алкил)окси]-1-метилэтокси}карбонил}окси, {[2-(3S)-тетрагидрофуран-3-илокси]карбонил}окси, [(тетрагидро-2Н-пиран-4-илокси)карбонил}окси, {[1-ацетилазетидин]-3-илокси]карбонил}окси, {[2-(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-алкил)оксикарбонил}окси, {[2-(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-алкил)оксиэтокси]карбонил}окси)метокси,

а также его стереоизомер, их пролекарство, фармацевтически приемлемая соль, сольват гидрат и их кристаллическая или поликристаллическая форма, включающая это новое соединение фармацевтическая композиция, являются эффективными противогриппозными средствами.

Предпочтительными являются

(12aR)-12-(6,7-дифтор-5,10-дигидротиено[3,2-с][2]бензотиепин-10-ил)-3,4,12,12а-

тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-г][1,2,4]триазин-6,8-дион общей формулы 1.1,

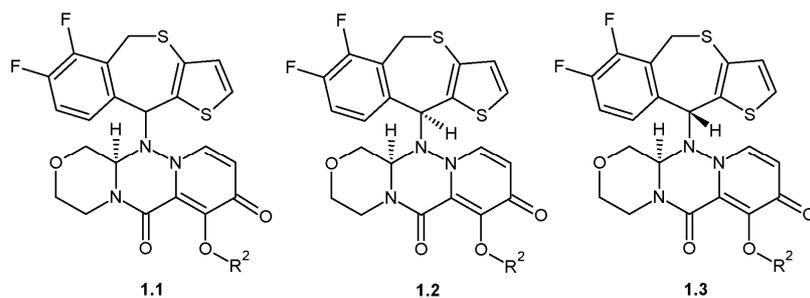
(12aR)-12-[(10S)-6,7-дифтор-5,10-дигидротиено[3,2-с][2]бензотиепин-10-ил]-3,4,12,12а-

тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-г][1,2,4]триазин-6,8-дион общей формулы 1.2,

(12aR)-12-[(10R)-6,7-дифтор-5,10-дигидротиено[3,2-с][2]бензотиепин-10-ил]-3,4,12,12а-

тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-г][1,2,4]триазин-6,8-дион общей формулы 1.3,

его стереоизомер, их пролекарство, фармацевтически приемлемая соль, сольват, гидрат и их кристаллическая или поликристаллическая форма

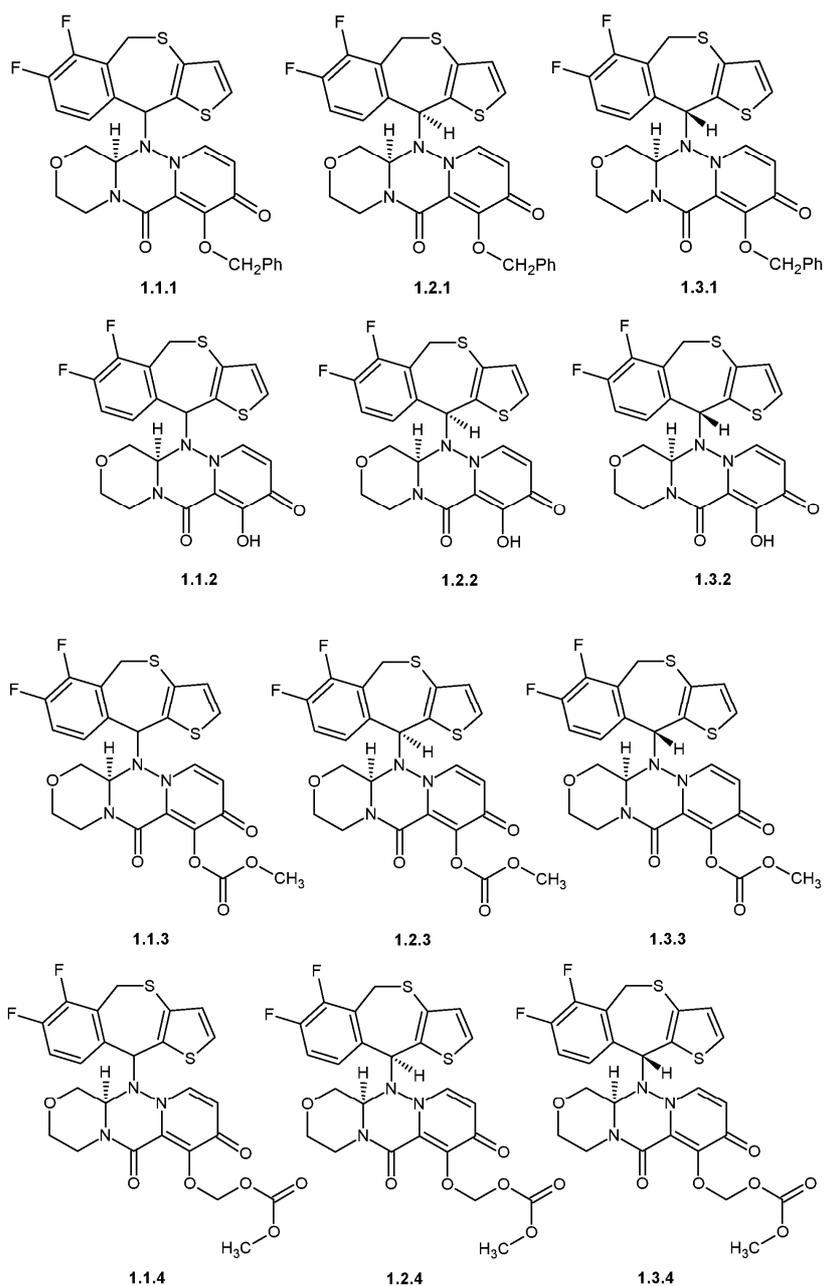


где  $R^2$  имеет вышеуказанное значение.

Более предпочтительными являются

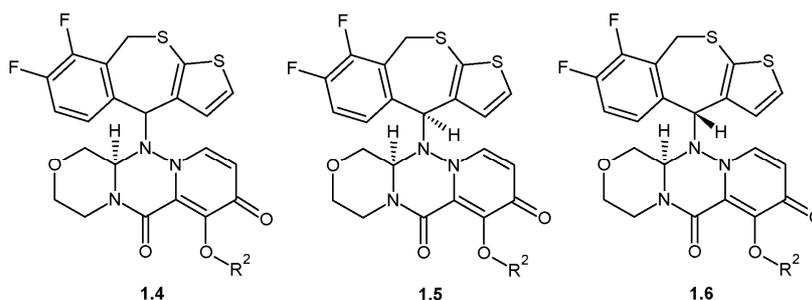
- (12a*R*)-7-бензилокси-12-(6,7-дифтор-5,10-дигидротиено[3,2-*c*][2]бензотиепин-10-ил)-3,4,12,12а-тетрагидро-1*H*-[1,4] оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.1.1),
- (12a*R*)-7-бензилокси-12-[(10*S*)-6,7-дифтор-5,10-дигидротиено[3,2-*c*][2]бензотиепин-10-ил]-3,4,12,12а-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.2.1),
- (12a*R*)-7-бензилокси-12-[(10*R*)-6,7-дифтор-5,10-дигидротиено[3,2-*c*][2]бензотиепин-10-ил]-3,4,12,12а-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.3.1),
- (12a*R*)-7-гидрокси-12-(6,7-дифтор-5,10-дигидротиено[3,2-*c*][2]бензотиепин-10-ил)-3,4,12,12а-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.1.2),
- (12a*R*)-7-гидрокси-12-[(10*S*)-6,7-дифтор-5,10-дигидротиено[3,2-*c*][2]бензотиепин-10-ил]-3,4,12,12а-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.2.2),
- (12a*R*)-7-гидрокси-12-[(10*R*)-6,7-дифтор-5,10-дигидротиено[3,2-*c*][2]бензотиепин-10-ил]-3,4,12,12а-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.3.2),
- (12a*R*)-12-(6,7-дифтор-5,10-дигидротиено[3,2-*c*][2]бензотиепин-10-ил)-6,8-диоксо-3,4,12,12а-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-7-ил метил карбонат (1.1.3),
- (12a*R*)-12-[(10*S*)-6,7-дифтор-5,10-дигидротиено[3,2-*c*][2]бензотиепин-10-ил]-6,8-диоксо-3,4,12,12а-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-7-ил метил карбонат (1.2.3),
- (12a*R*)-12-[(10*R*)-6,7-дифтор-5,10-дигидротиено[3,2-*c*][2]бензотиепин-10-ил]-6,8-диоксо-3,4,12,12а-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-7-ил метил карбонат (1.3.3),
- {[(12a*R*)-12-(6,7-дифтор-5,10-дигидротиено[3,2-*c*][2]бензотиепин-10-ил)-6,8-диоксо-3,4,12,12а-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-7-ил]окси} метил метил карбонат (1.1.4),
- {[(12a*R*)-12-[(10*S*)-6,7-дифтор-5,10-дигидротиено[3,2-*c*][2]бензотиепин-10-ил]-6,8-диоксо-3,4,12,12а-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-7-ил]окси} метил метил карбонат (1.2.4),
- {[(12a*R*)-12-[(10*R*)-6,7-дифтор-5,10-дигидротиено[3,2-*c*][2]бензотиепин-10-ил]-6,8-диоксо-3,4,12,12а-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-7-ил]окси} метил метил карбонат (1.3.4),

их стереоизомер, их пролекарство, фармацевтически приемлемая соль, сольват, гидрат и их кристаллическая или поликристаллическая форма



Предпочтительными являются

(12*aR*)-12-(7,8-дифтор-4,9-дигидротиено[2,3-*c*][2]бензотиопин-4-ил)-3,4,12,12а-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4] триазин-6,8-дион общей формулы 1.4,  
 (12*aR*)-12-[(10*S*)-7,8-дифтор-4,9-дигидротиено[2,3-*c*][2]бензотиопин-4-ил)-3,4,12,12а-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4] триазин-6,8-дион общей формулы 1.5,  
 (12*aR*)-12-[(10*R*)-7,8-дифтор-4,9-дигидротиено[2,3-*c*][2]бензотиопин-4-ил)-3,4,12,12а-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4] триазин-6,8-дион общей формулы 1.6,  
 его стереоизомер, их пролекарство, фармацевтически приемлемая соль, сольват, гидрат и их кристаллическая или поликристаллическая форма



где  $R^2$  имеет вышеуказанное значение.

Более предпочтительными являются

(12a*R*)-7-бензилокси-12-(7,8-дифтор-4,9-дигидротиено[2,3-*c*][2]бензотиепин-4-ил)-3,4,12,12a-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дион 1.4.1,

(12a*R*)-7-бензилокси-12-[(10*S*)-7,8-дифтор-4,9-дигидротиено[2,3-*c*][2]бензотиепин-4-ил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дион 1.5.1,

(12a*R*)-7-бензилокси-12-[(10*R*)-7,8-дифтор-4,9-дигидротиено[2,3-*c*][2]бензотиепин-4-ил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дион 1.6.1,

(12a*R*)-7-гидрокси-12-(7,8-дифтор-4,9-дигидротиено[2,3-*c*][2]бензотиепин-4-ил)-3,4,12,12a-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дион 1.4.2,

(12a*R*)-7-гидрокси-12-[(10*S*)-7,8-дифтор-4,9-дигидротиено[2,3-*c*][2]бензотиепин-4-ил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дион 1.5.2,

(12a*R*)-7-гидрокси-12-[(10*R*)-7,8-дифтор-4,9-дигидротиено[2,3-*c*][2]бензотиепин-4-ил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дион 1.6.2,

(12a*R*)-12-(7,8-дифтор-4,9-дигидротиено[2,3-*c*][2]бензотиепин-4-ил)-6,8-диоксо-3,4,12,12a-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-7-ил метил карбонат 1.4.3,

(12a*R*)-12-[(10*S*)-7,8-дифтор-4,9-дигидротиено[2,3-*c*][2]бензотиепин-4-ил]-6,8-диоксо-3,4,12,12a-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-7-ил метил карбонат 1.5.3,

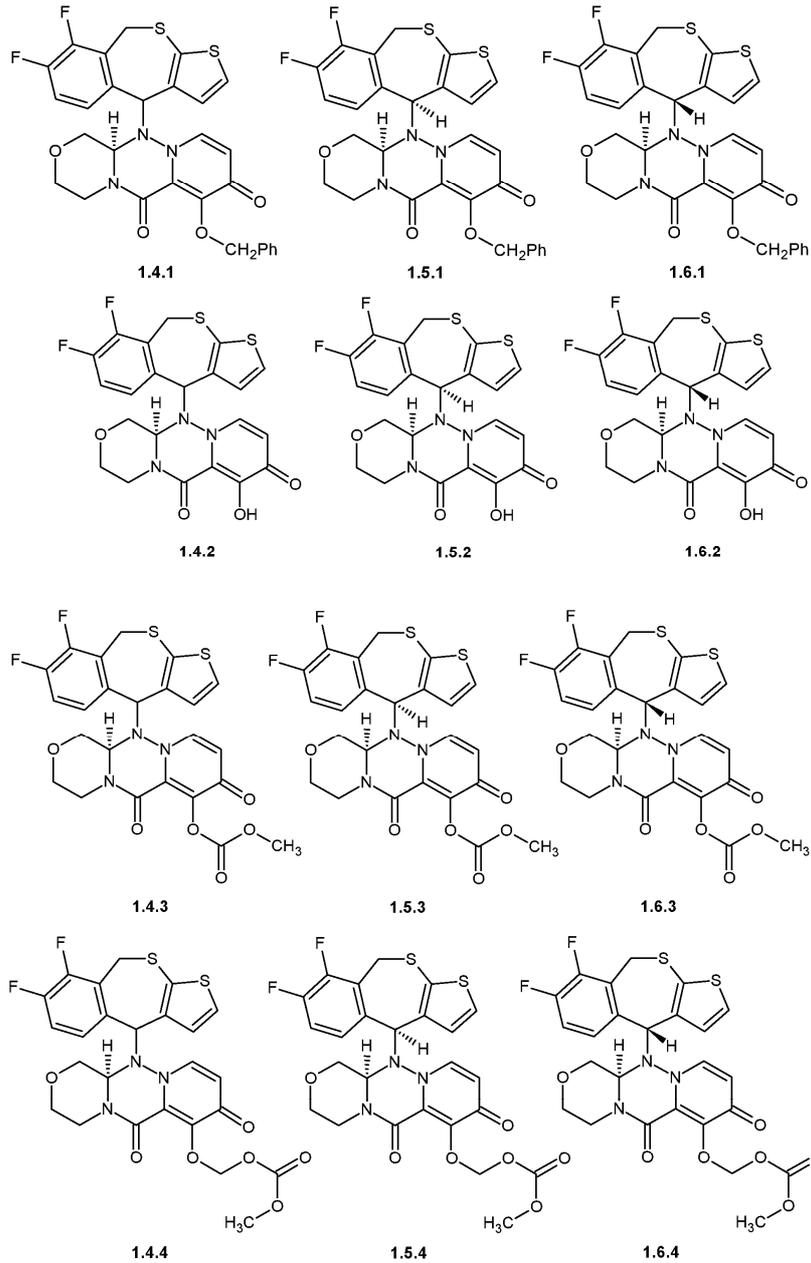
(12a*R*)-12-[(10*R*)-7,8-дифтор-4,9-дигидротиено[2,3-*c*][2]бензотиепин-4-ил]-6,8-диоксо-3,4,12,12a-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-7-ил метил карбонат 1.6.3,

{[(12a*R*)-12-(7,8-дифтор-4,9-дигидротиено[2,3-*c*][2]бензотиепин-4-ил)-6,8-диоксо-3,4,12,12a-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-7-ил]окси} метил метил карбонат 1.4.4,

{[(12a*R*)-12-[(10*S*)-7,8-дифтор-4,9-дигидротиено[2,3-*c*][2]бензотиепин-4-ил]-6,8-диоксо-3,4,12,12a-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-7-ил]окси} метил метил карбонат 1.5.4,

{[(12a*R*)-12-[(10*R*)-7,8-дифтор-4,9-дигидротиено[2,3-*c*][2]бензотиепин-4-ил]-6,8-диоксо-3,4,12,12a-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-7-ил]окси} метил метил карбонат 1.6.4,

его стереоизомер, их пролекарство, фармацевтически приемлемая соль, сольват, гидрат и их кристаллическая или поликристаллическая форма



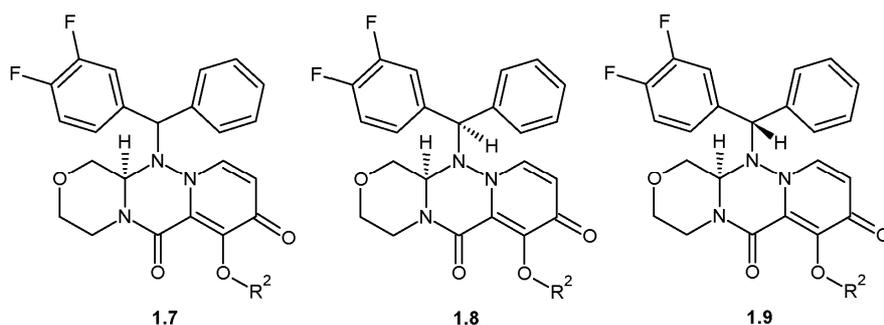
Предпочтительными являются

(12a*R*)-12-[(3,4-дифторфенил)(фенил)метил]-3,4,12а-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксаино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дион общей формулы 1.7,

(12a*R*)-12-[(*R*)-(3,4-дифторфенил)(фенил)метил]-3,4,12а-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксаино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дион общей формулы 1.8,

(12a*R*)-12-[(*S*)-(3,4-дифторфенил)(фенил)метил]-3,4,12а-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксаино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дион общей формулы 1.9,

его стереоизомер, их пролекарство, фармацевтически приемлемая соль, сольват, гидрат и их кристаллическая или поликристаллическая форма



где  $R^2$  имеет вышеуказанное значение.

Более предпочтительными являются

(12a*R*)-7-бензилокси-12-[(3,4-дифторфенил)(фенил)метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.7.1),

(12a*R*)-7-бензилокси-12-[(*R*)-(3,4-дифторфенил)(фенил)метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.8.1),

(12a*R*)-7-бензилокси-12-[(*S*)-(3,4-дифторфенил)(фенил)метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.9.1),

(12a*R*)-7-гидрокси-12-[(3,4-дифторфенил)(фенил)метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.7.2),

(12a*R*)-7-гидрокси-12-[(*R*)-(3,4-дифторфенил)(фенил)метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.8.2),

(12a*R*)-7-гидрокси-12-[(*S*)-(3,4-дифторфенил)(фенил)метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.9.2),

(12a*R*)-12-[(3,4-дифторфенил)(фенил)метил]-6,8-диоксо-3,4,12,12a-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-7-ил метил карбонат (1.7.3),

(12a*R*)-12-[(*R*)-(3,4-дифторфенил)(фенил)метил]-6,8-диоксо-3,4,12,12a-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-7-ил метил карбонат (1.8.3),

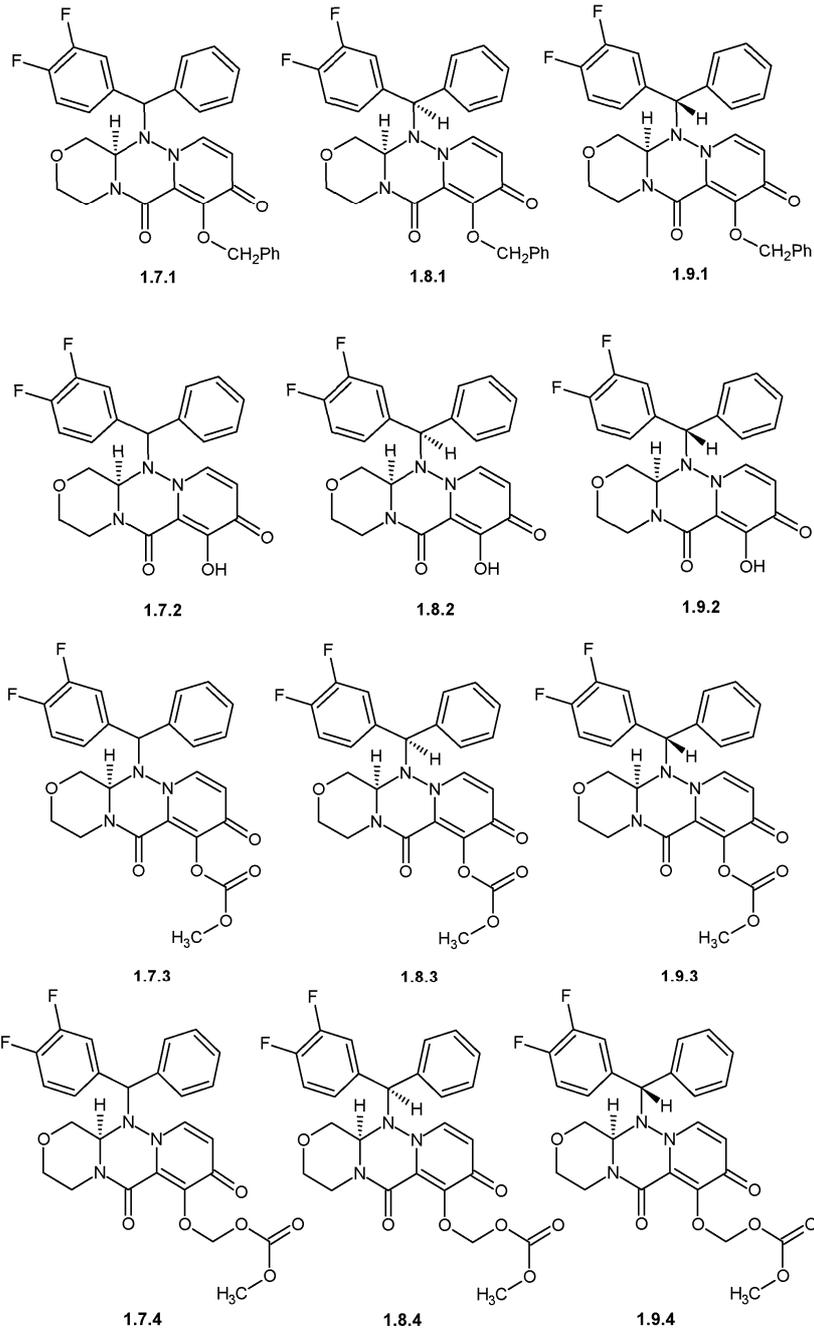
(12a*R*)-12-[(*S*)-(3,4-дифторфенил)(фенил)метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-7-ил метил карбонат (1.9.3),

((12a*R*)-12-[(3,4-дифторфенил)(фенил)метил]-6,8-диоксо-3,4,12,12a-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-7-ил) метил метил карбонат (1.7.4),

((12a*R*)-12-[(*R*)-(3,4-дифторфенил)(фенил)метил]-6,8-диоксо-3,4,12,12a-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-7-ил) метил метил карбонат (1.8.4),

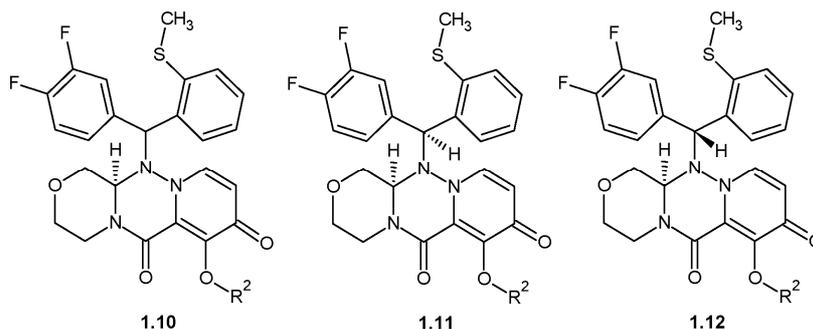
((12a*R*)-12-[(*S*)-(3,4-дифторфенил)(фенил)метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-7-ил) метил метил карбонат (1.9.4),

его стереоизомер, их пролекарство, фармацевтически приемлемая соль, сольват, гидрат и их кристаллическая или поликристаллическая форма



Предпочтительными являются

(12a*R*)-12-[(3,4-дифторфенил)(2-метилсульфанилфенил)метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксаино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дион общей формулы 1.10,  
 (12a*R*)-12-[(*R*)-(3,4-дифторфенил)(2-метилсульфанилфенил)метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксаино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дион общей формулы 1.11,  
 (12a*R*)-12-[(*S*)-(3,4-дифторфенил)(2-метилсульфанилфенил)метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксаино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дион общей формулы 1.12,  
 его стереоизомер, их пролекарство, фармацевтически приемлемая соль, сольват, гидрат и их кристаллическая или поликристаллическая форма

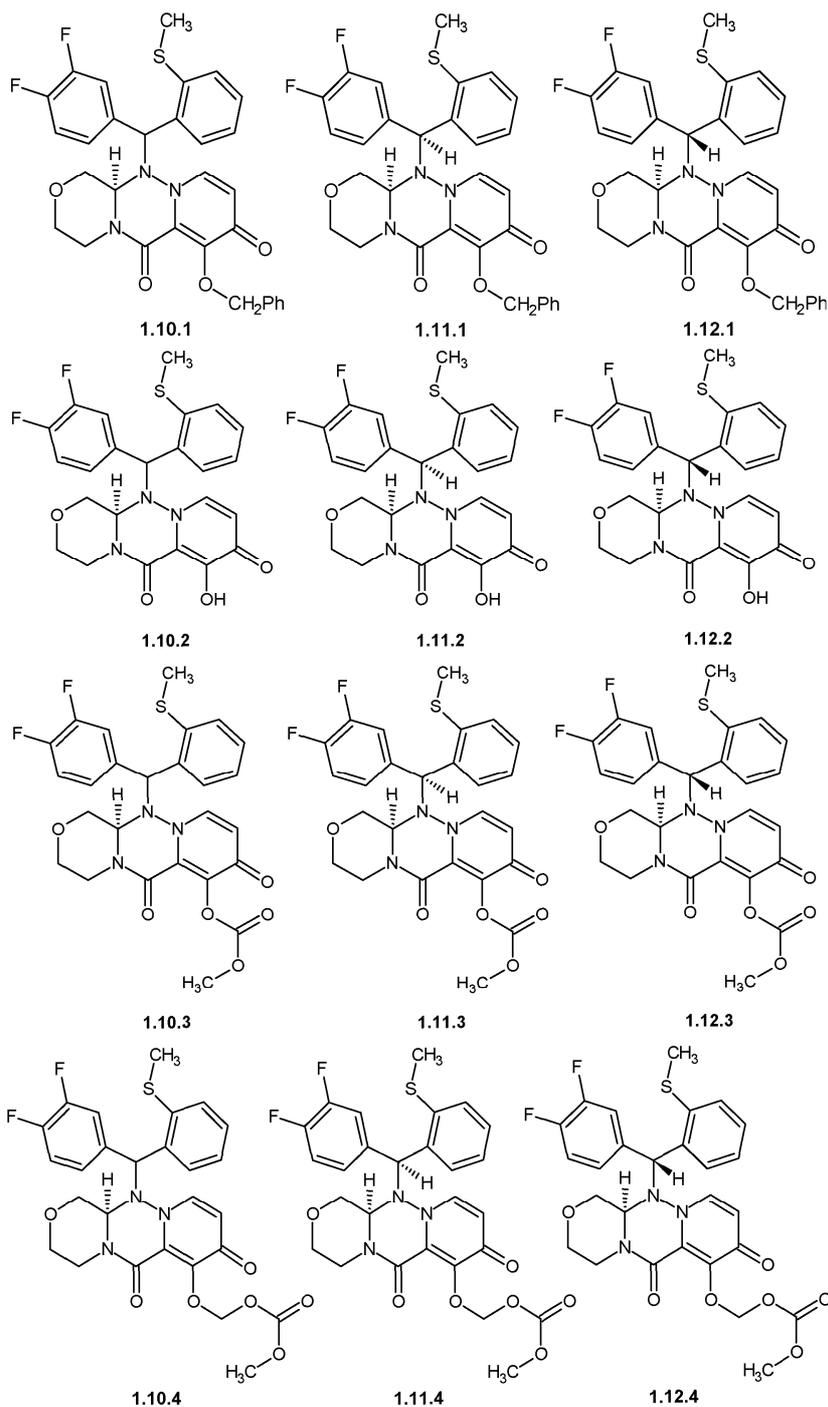


где R<sup>2</sup> имеет вышеуказанное значение.

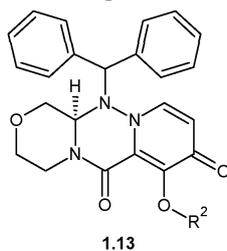
Более предпочтительными являются

- (12aR)-7-бензилокси-12-[(3,4-дифторфенил)(2-метилсульфанилфенил)метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.10.1),  
 (12aR)-7-бензилокси-12-[(R)-(3,4-дифторфенил)(2-метилсульфанилфенил)метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.11.1),  
 (12aR)-7-бензилокси-12-[(S)-(3,4-дифторфенил)(2-метилсульфанилфенил)метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.12.1),  
 (12aR)-7-гидрокси-12-[(3,4-дифторфенил)(2-метилсульфанилфенил)метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.10.2),  
 (12aR)-7-гидрокси-12-[(R)-(3,4-дифторфенил)(2-метилсульфанилфенил)метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.11.2),  
 (12aR)-7-гидрокси-12-[(S)-(3,4-дифторфенил)(2-метилсульфанилфенил)метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.12.2),  
 (12aR)-12-[(3,4-дифторфенил)(2-метилсульфанилфенил)метил]-6,8-диоксо-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-7-ил метил карбонат (1.10.3),  
 (12aR)-12-[(R)-(3,4-дифторфенил)(2-метилсульфанилфенил)метил]-6,8-диоксо-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-7-ил метил карбонат (1.11.3),  
 (12aR)-12-[(S)-(3,4-дифторфенил)(2-метилсульфанилфенил)метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-7-ил метил карбонат (1.12.3),  
 ((12aR)-12-[(3,4-дифторфенил)(2-метилсульфанилфенил)метил]-6,8-диоксо-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-7-ил}окси)метил метил карбонат (1.10.4),  
 ((12aR)-12-[(R)-(3,4-дифторфенил)(2-метилсульфанилфенил)метил]-6,8-диоксо-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-7-ил}окси)метил метил карбонат (1.11.4),  
 ((12aR)-12-[(S)-(3,4-дифторфенил)(2-метилсульфанилфенил)метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-7-ил}окси)метил метил карбонат (1.12.4),

их стереоизомер, их пролекарство, фармацевтически приемлемая соль, сольват, гидрат и их кристаллическая или поликристаллическая форма



Предпочтительным является (12aR)-12-дифенилметил-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дион общей формулы 1.13, его стереоизомер, их пролекарство, фармацевтически приемлемая соль, сольват, гидрат и их кристаллическая или поликристаллическая форма



где R<sup>2</sup> имеет вышеуказанное значение.

Более предпочтительными являются

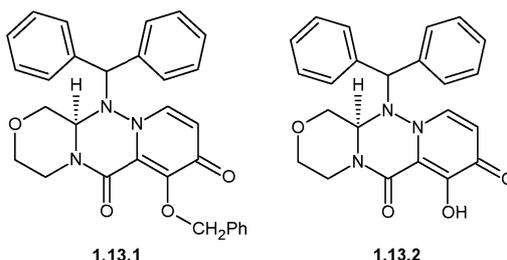
(12a*R*)-7-бензилокси-12-дифенилметил-3,4,12,12a-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.13.1),

(12a*R*)-7-гидрокси-12-дифенилметил-3,4,12,12a-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.13.2),

(12a*R*)-12-дифенилметил-6,8-диоксо-3,4,12,12a-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-7-ил метил карбонат (1.13.3),

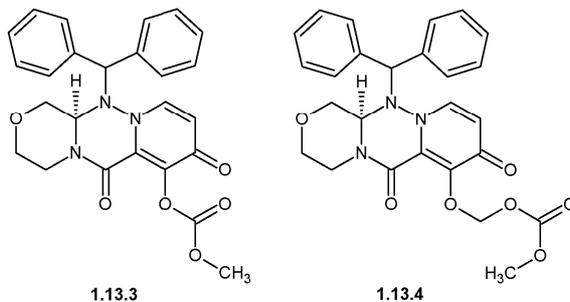
({(12a*R*)-12-дифенилметил-3,4,12,12a-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-7-ил}окси)метил метил карбонат (1.13.4),

его стереоизомер, их пролекарство, фармацевтически приемлемая соль, сольват, гидрат и их кристаллическая или поликристаллическая форма



1.13.1

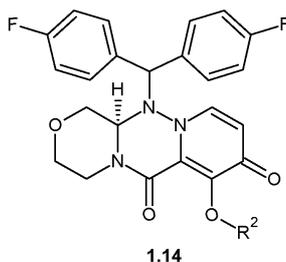
1.13.2



1.13.3

1.13.4

Предпочтительными являются (12a*R*)-12-[бис(4-фторфенил)метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дион общей формулы 1.14, его стереоизомер, их пролекарство, фармацевтически приемлемая соль, сольват, гидрат и их кристаллическая или поликристаллическая форма



1.14

где R<sup>2</sup> имеет вышеуказанное значение.

Более предпочтительными являются

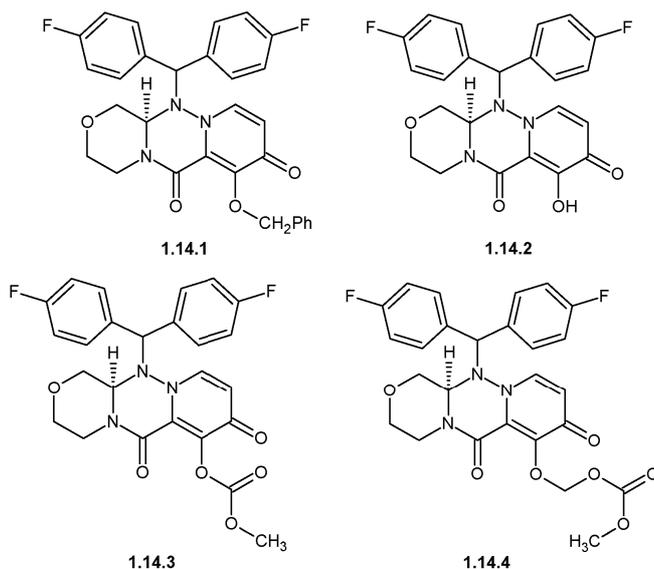
(12a*R*)-7-бензилокси-12-[бис(4-фторфенил) метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.14.1),

(12a*R*)-7-гидрокси-12-[бис(4-фторфенил) метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.14.2),

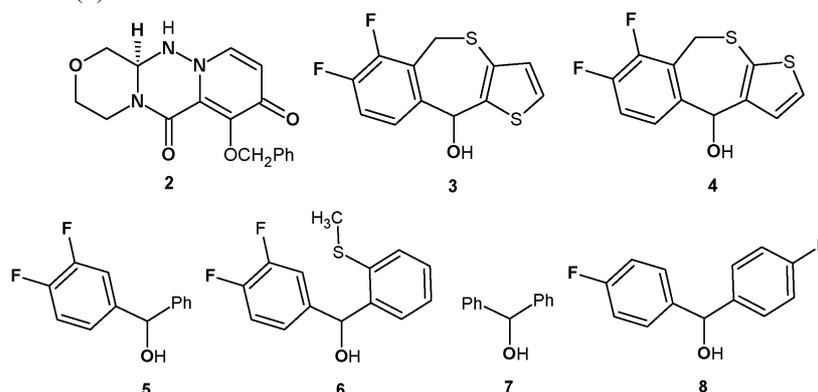
(12a*R*)-12-[бис(4-фторфенил) метил]-6,8-диоксо-3,4,12,12a-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-7-ил метил карбонат (1.14.3),

({(12a*R*)-12-[бис(4-фторфенил) метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-*c*]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-7-ил}окси)метил метил карбонат (1.14.4),

его стереоизомер, их пролекарство, фармацевтически приемлемая соль, сольват, гидрат и их кристаллическая или поликристаллическая форма



Предметом данного изобретения является также способ получения соединений общей формулы 1, который включает получение 7-бензилоксипроизводных 1.1.1-1.14.1 взаимодействием (12aR)-7-(бензилокси)-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-диона (2) соответственно с 6,7-дифтор-5,10-дигидротиено[3,2-с][2]бензотиепин-10-олом (3), или 7,8-дифтор-7,8-дигидротиено[2,3-с][2]бензотиепин-4-олом (4), или (3,4-дифторфенил)(фенил)метанолом (5), (3,4-дифторфенил)(2-метилсульфанилфенил)метанолом (6), дифенилметанолом (7) или бис(4-фторфенил)метанолом (8)

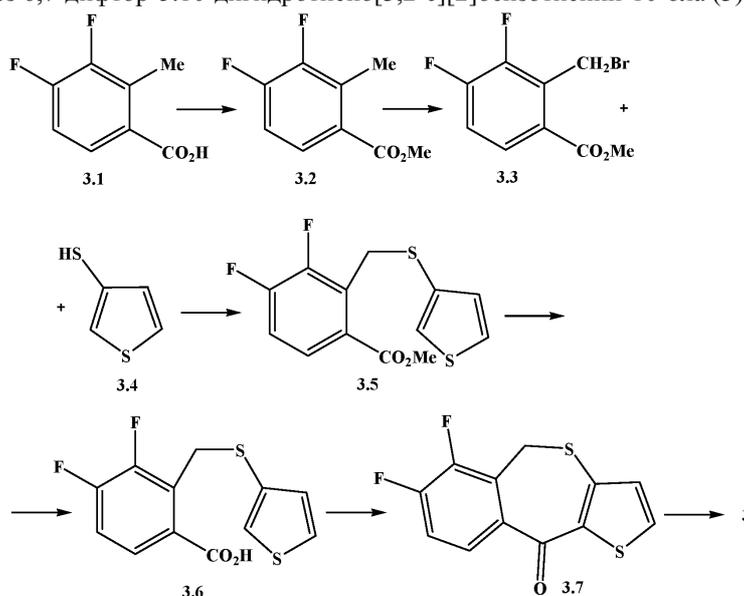


Образующиеся в результате этой реакции 7-бензилоксипроизводные 1.1.1, 1.4.1, 1.7.1 и 1.10.1 разделяют на соответствующие диастереоизомеры 1.2.1, 1.3.1, 1.5.1, 1.6.1, 1.8.1, 1.9.1, 1.11.1 1.12.1 строение которых подтверждено данными рентгеноструктурного анализа (РСА). Так, например, диастереомер (12aR)-7-(бензилокси)-12-[(10S)-5,10-дигидротиено[3,2-с][2]бензотиепин-10-ил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.2.1) был перекристаллизован из этанола и изопропанола, в результате чего были получены ромбические кристаллы, которые по данным РСА представляют собой соответствующие сольваты с этанолом 1.2.1·C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>ОН и изопропанолом 1.2.1·i-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>ОН в соотношениях 4:3 и 8:3 представлены на фиг. 1 и 2.

Диастереомер (12aR)-7-бензилокси-12-[(S)-(3,4-дифторфенил)(фенил)метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дион (1-9.1) был перекристаллизован из смеси дихлорметан-гексан, в результате чего были получены кристаллы, которые по данным рентгеноструктурного анализа отнесены к триклинной кристаллической системе (фиг. 3).

7-Бензилоксипроизводные 1.1.1-1.14.1 дебензилируют при нагревании в диметилсульфоксиде в присутствии хлористого лития в соответствующие 7-гидроксипроизводные 1.1.2-1.14.2, а последние превращают в пролекарства 1.1.3-1.14.3 и 1.1.4-1.14.4. Исходный 6,7-дифтор-5,10-дигидротиено[3,2-с][2]бензотиепин-10-ол (3) является новым соединением, поэтому это соединение и способ его получения являются также предметом настоящего изобретения. Согласно изобретению способ получения 6,7-дифтор-5,10-дигидротиено[3,2-с][2]бензотиепин-10-ола (3) включает циклизацию 3,4-дифтор-2-[(3-тиенилтио)метил]-бензойной кислоты (3.6) в присутствии PCl<sub>5</sub> и восстановление образующегося 6,7-дифтор-5,10-дигидротиено[3,2-с][2]бензотиепин-10(5H)-она (3.7) боргидридом натрия (схема 1).

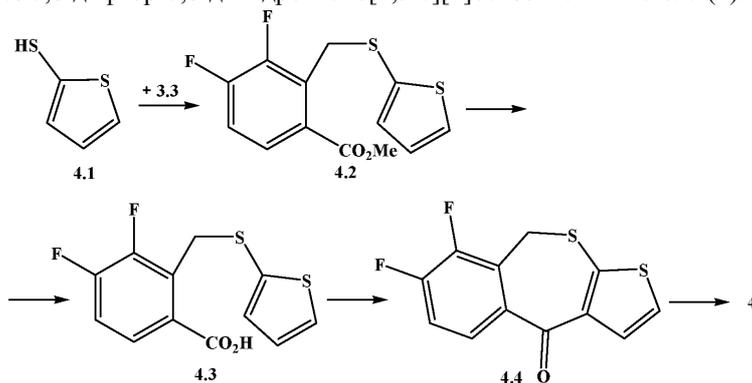
Схема 1. Синтез 6,7-дифтор-5.10-дигидротиено[3,2-с][2]бензотиепин-10-ола (3).



Исходный 7,8-дифтор-7,8-дигидротиено[2,3-с][2]бензотиепин-10-ол (4) является новым соединением, поэтому это соединение и способ его получения являются также предметом настоящего изобретения.

Согласно изобретению способ получения 7,8-дифтор-7,8-дигидротиено[2,3-с][2]бензотиепин-10-ола (4) включает циклизацию 3,4-дифтор-2-[(3-тиенил)метил]-бензойной кислоты (4.3) в присутствии  $PCl_5$  и восстановление образующегося 6,7-дифтор-5,10-дигидротиено[3,2-с][2]бензотиепин-10(5H)-она (4.4) боргидридом натрия (схема 2).

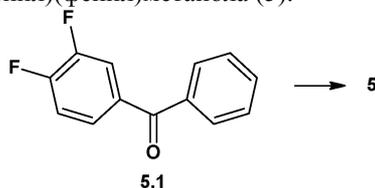
Схема 2. Синтез 7,8-дифтор-7,8-дигидротиено[2,3-с][2]бензотиепин-10-ола (4).



Исходный (3,4-дифторфенил)(фенил)метанол (5) является новым соединением, поэтому это соединение и способ его получения являются также предметом настоящего изобретения.

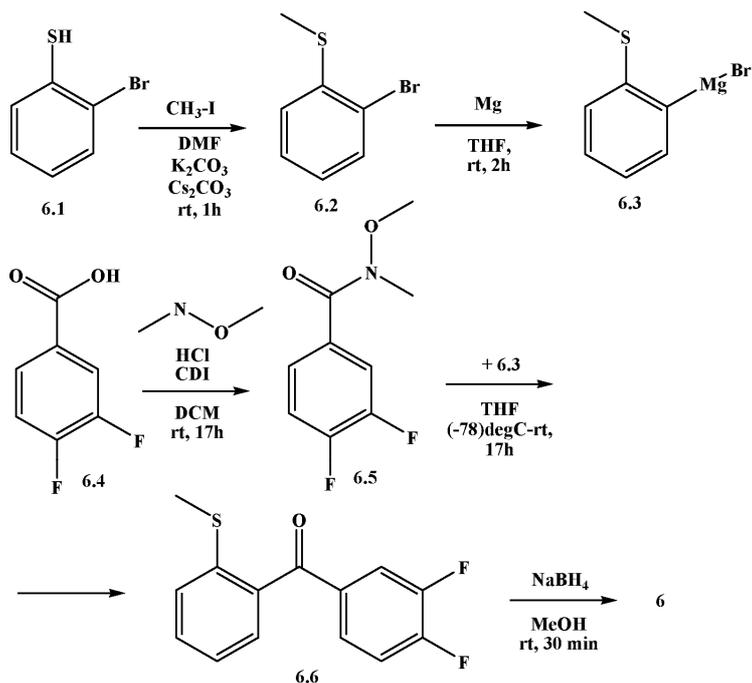
Согласно изобретению способ получения (3,4-дифторфенил)(фенил)метанола (5) заключается в восстановлении 3,4-дифторбензофенона (5.1) боргидридом натрия (схема 3).

Схема 3. Синтез (3,4-дифторфенил)(фенил)метанола (5).



Исходный (3,4-дифторфенил)(2-метилсульфанилфенил)метанол (6) является новым соединением, поэтому это соединение и способ его получения являются также предметом настоящего изобретения. Согласно изобретению способ получения (3,4-дифторфенил)(2-метилсульфанилфенил)метанола (6) заключается в восстановлении (3,4-дифторфенил)[2-метилсульфанилфенил]метанола (6.6) боргидридом натрия (схема 4).

Схема 4. Синтез (3,4-дифторфенил)(2-метилсульфанилфенил)метанола (6).



Новые 7-гидрокси-3,4,12,12а-тетрагидро-1Н-[1,4]оксаино[3,4-с]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дионы, содержащие в положении 12 диарилметильные заместители, в отличие от Балоксавира (ВХА) являются перорально доступными ингибиторами вируса гриппа с достаточно высокой биодоступностью. При этом Смакс и АUCпосл ингибиторов на 1-2 порядка лучше этих параметров ВХА.

Таблица 1

Фармакокинетические параметры в плазме при РО мышам препаратов в дозе 15 мг/кг

Препарат	1.8.2	1.9.2	1.13.2	1.14.4	ВХА
Контроль	1.8.2	1.9.2	1.13.2	1.14.4	ВХА
Кел, 1/ч	0.25	0.27	0.24	0.27	0.19
T1/2, ч	2.75	2.56	2.91	2.55	3.74
Tмакс, ч	1	1	0.5	2	4
Смакс, нг/мл	2090	2375	684	308	11.9
AUCпосл, ч·нг/мл	9448	10958	2,657	1,822	80
AUCINF, ч·нг/мл	9469	10977	2,661	2,069	95
MRTпосл, ч	3.48	3.34	2.64	3.23	4.79
F <sub>AUCпосл</sub> , %	НД*	НД*	42	23	НД*

Кел - константа элиминации.

T1/2 - период полувыведения.

AUCпосл - площадь под кривой "концентрация-время" от момента введения препарата до определения последней поддающийся количественному измерению концентрации.

AUCINF - площадь под фармакокинетической кривой (зависимость концентрации от времени) от 0 до бесконечности.

MRTпосл - среднее время удержания в неизменном виде в организме от момента введения препарата до определения последней поддающийся количественному измерению концентрации.

Фармакокинетические параметры, в частности, Смакс и АUCпосл в плазме при РО введении мышам (табл. 2) новых проингибиторов в 10-40 раз превышают таковые Балоксавира марбоксила (ВХМ).

Таблица 2

Фармакокинетические параметры в  
плазме при РО мышам препаратов в дозе 15 мг/кг

Препарат	1.3.4	1.8.4	1.9.4	1.13.4	1.14.4	5101
Контроль	1.3.2	1.8.2	1.9.2	1.13.2	1.14.4	5107
Kel, 1/ч	0.25	0.25	0.26	0.30	0.74	0.17
T1/2, ч	2.74	2.75	2.71	2.28	0.93	4.05
Tмакс, ч	2	1	1	2	4	4
Cмакс, нг/мл	48.9	2090	397	875	647	55.3
AUCПосл, ч·нг/мл	224	9448	2078	3935	3186	392
AUCINF, ч·нг/мл	233	9469	2082	3938	3189	397
MRTПосл, ч	3.78	3.48	3.78	3.35	3.76	5.55
F <sub>AUCПосл</sub> , %	23.9			62.2	39.6	

7-Гидроксипроизводные 1.1.2-1.14.2 являются наномолярными ингибиторами изолятов вируса гриппа. Так, например, активность ингибиторов 1.8.2, 1.9.2, 1.13.2 и 1.14.2 в отношении изолятов гриппа A/California/2009 (H1N1) в культуре клеток MDCK имеет значение EC<sub>50</sub>=2÷4 нМ, практически совпадающее с этой активностью Балоксавира (по нашим данным EC<sub>50</sub>=2.4 нМ). Ингибитор 1.3.2 в отношении изолятов гриппа A/California/2009 (H1N1), A/Aichi/2/69 (H3N2) и A/Perth/265/2009 (H1N1pdm09) (H275Y) в культуре клеток MDCK даже превышает в идентичных условиях активность Балоксавира (ВХА) (табл. 3).

Таблица 3

Противовирусная активность нового ингибитора 1.2.2 и ВХА  
в отношении изолятов вирусов гриппа А в культуре клеток MDCK

Препарат	A/California/2009 (H1N1)	A/Aichi/2/68 (H3N2)	A/Perth/265/2009 (H1N1pdm09) (H275Y)
	EC <sub>50</sub> , нМ		
1.3.2	<0.3	0.23	0.8
ВХА	2,4	1.04	1.1

Предметом настоящего изобретения является применение 7,8-дифтор-5,10-дигидротиено[3,2-с][2]бензотиопин-10-ола (3), 7,8-дифтор-7,8-дигидротиено[2,3-с][2]бензотиопин-10-ола (4), (3,4-дифторфенил)(фенил)метанола (5), (3,4-дифторфенил)(2-метилсульфанилфенил)метанола (6), дифенилметанола (7) и бис(4-фторфенил)метанола (8) в качестве полупродукта синтеза соединений общей формулы 1.

Предметом настоящего изобретения является применение 7-бензилоксипроизводных 1.1.1-1.14.1 в качестве полупродукта синтеза соответствующих 7-гидроксипроизводных 1.1.2-1.14.2.

Предметом настоящего изобретения является применение 7-гидроксипроизводных 1.1.2-1.14.2 в качестве полупродукта синтеза пролекарств 1.1.3-1.14.3 и 1.1.4-1.14.4.

Предметом настоящего изобретения является применение 7-гидроксипроизводных 1.1.2-1.14.2, или их стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, сольвата, гидрата и их кристаллической или поликристаллической формы, в качестве ингибитора вируса гриппа.

Предметом настоящего изобретения является применение соединений 1.1.3-1.14.3 и 1.1.4-1.14.4 или их стереоизомеров, фармацевтически приемлемых солей, сольватов, гидратов и их кристаллических или поликристаллических форм в качестве проингибиторов (пролекарств) вируса гриппа.

Предметом настоящего изобретения является применение ингибиторов 1.1.2-1.14.2 или пролекарств 1.1.3-1.14.3 и 1.1.4-1.14.4 или их стереоизомеров, фармацевтически приемлемых солей, сольватов, гидратов и их кристаллических или поликристаллических форм для лечения или профилактики вирусных заболеваний.

Предметом данного изобретения является противовирусная фармацевтическая композиция, содержащая соединение, выбранное из ряда 1.1.2-1.14.2 или ряда пролекарств 1.1.3-1.14.3 и 1.1.4-1.14.4 или ряда их стереоизомеров, фармацевтически приемлемых солей, сольватов, гидратов и их кристаллических или поликристаллических форм в терапевтически эффективном количестве для лечения или профилактики вирусных заболеваний.

Более предпочтительной является противовирусная фармацевтическая композиция, содержащая соединение, выбранное из ряда 1.1.2-1.14.2 или ряда пролекарств 1.1.3-1.14.3 и 1.1.4-1.14.4 или ряда их стереоизомеров, фармацевтически приемлемых солей, сольватов, гидратов и их кристаллических или поли-

кристаллических форм в терапевтически эффективном количестве для лечения или профилактики гриппа.

Предметом данного изобретения является способ лечения и/или профилактики вирусного заболевания, характеризующийся введением пациенту соединения, выбранное из ряда 1.1.2-1.14.2, или ряда пролекарств 1.1.3-1.14.3 и 1.1.4-1.14.4, или ряда их стереоизомеров, фармацевтически приемлемых солей, сольватов, гидратов и их кристаллических или поликристаллических форм или фармацевтической композиции по данному изобретению.

С целью лечения вышеупомянутых заболеваний, в том числе гриппа, у людей соединения по настоящему изобретению можно вводить перорально в виде порошка, гранулы, таблеток, капсул, пилюль, жидкости и т.п. или парентерально в виде инъекций, суппозиториев, чрескожное лекарственное средство, ингалятор и т.п. Эффективные дозы настоящих соединений могут быть смешаны с эксципиентами, подходящими для дозированной формы, такими как наполнители, связующие, увлажнители, дезинтеграторы и смазывающие вещества, если это необходимо, для получения фармацевтических препаратов. Для подготовки инъекции стерилизацию проводят с подходящим носителем.

Фармацевтические композиции в соответствии с настоящим изобретением могут вводиться перорально или парентерально. Для перорального введения обычно используемые лекарственные формы, такие как таблетки, гранулы, порошок и капсулы, могут быть получены в соответствии с обычными способами. Для парентерального введения можно использовать подходящую обычную лекарственную форму, такую как инъекция.

Эффективные дозы соединений по настоящему изобретению могут быть смешаны с различными фармацевтическими эксципиентами, подходящими для лекарственной формы, такими как наполнители, связующие вещества, дезинтеграторы и смазывающие вещества, если это необходимо, для получения фармацевтических композиций.

Доза соединений по настоящему изобретению зависит от состояния заболевания, пути введения, возраста или веса пациента. Обычная пероральная доза для взрослых составляет от 0,1 до 100 мг/кг в день, предпочтительно от 1 до 20 мг/кг в день. Доза фармацевтической композиции по настоящему изобретению предпочтительно определяется исходя из возраста и веса пациента, типа и тяжести заболевания, пути введения и т.п. Обычная пероральная доза для взрослых находится в диапазоне от 0,05 до 100 мг/кг в день, предпочтительно от 0,1 до 10 мг/кг в день. Парентеральная доза для взрослых значительно варьируется в зависимости от пути введения, но обычно находится в диапазоне от 0,005 до 10 мг/кг в день, предпочтительно от 0,01 до 1 мг/кг в день. Дозу можно вводить один раз в день или можно разделить на несколько суточных доз. Соединение по настоящему изобретению можно использовать в комбинации с другими лекарственными средствами (далее называемые комбинированными лекарственными средствами) для увеличения активности соединения, уменьшения дозы соединения или т.п.

В случае лечения гриппа соединение по настоящему изобретению можно использовать в сочетании с ингибитором нейраминидазы (например, Озелтамивир, Занамивир, Перамивир, AV-5080, Инабиру и т.п.); РНК-зависимый ингибитор РНК-полимеразы (например, Favipiravir); М2-ингибитор белка (например, Амантадин); РВ2-ингибитор связывания белка (cap-binding protein РВ2, например, VX-787); анти-НА-антитело (например, МНАА4549А); интерфероны (например, Гриппферон), индукторы интерферона (например, Кагоцел). Также возможны иммунные агонисты (например, Нитазоксанид). В этом случае время введения для соединения по настоящему изобретению и комбинированного лекарственного средства не ограничено. Их можно назначать пациентам, которых нужно лечить, в то время или в разное время. Кроме того, соединение настоящее изобретение и комбинированное лекарственное средство можно вводить в виде двух или более композиций, независимо от каждого активного ингредиента или одной композиции, содержащей каждый активный ингредиент.

Доза для комбинированных препаратов может быть выбрана соответствующим образом в отношении клинической дозы. Соотношение компаундирования соединений по настоящему изобретению и совместно вводимых лекарственных средств может быть соответствующим образом выбрано в зависимости от подлежащего лечению, пути введения, заболевания, подлежащего лечению, симптомов, комбинации лекарств и т.п. Для введения у людей, например, 1 часть по массе соединений по настоящему изобретению может использоваться в комбинации с 0,01-100 вес. ч. совместно вводимых лекарств.

Изобретение иллюстрируется следующими чертежами.

На фиг. 1 показаны фрагменты упаковки сольватов 1.2.1·C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>ОН (А) и 1.2.1·i-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>ОН (Б), полученные в результате рентгеноструктурного анализа кристаллов с использованием программы Platon.

На фиг. 2 показан общий вид одной из двух симметрически-независимых молекул сольватов 1.2.1·C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>ОН (А) и 1.2.1·i-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>ОН (Б) в представлении атомов эллипсоидами тепловых колебаний р=50%. Сольватные молекулы этанола и изопропанола для ясности не показаны.

На фиг. 3 - общий вид молекулы 1.9.1 в представлении атомов эллипсоидами тепловых колебаний р=50% (А) и версия полученная с использованием программы Platon (Б).

#### **Лучший вариант осуществления изобретения**

Настоящее изобретение более подробно иллюстрируется, но не ограничивается посредством примеров синтеза соединений общей формулы 1 и их испытаний.

Общие процедуры по химии. Все химические вещества и растворители использовались в том виде, в котором они были получены от поставщиков, без дальнейшей очистки. Неочищенные реакционные смеси концентрировали при пониженном давлении путем удаления органических растворителей на роторном испарителе.

Спектры ядерного магнитного резонанса (NMR) регистрировали с использованием спектрометра Bruker DPX-400 при комнатной температуре (к. т.) с тетраметилсиланом в качестве внутреннего стандарта. Химические сдвиги ( $\delta$ ) представлены в частях на миллион (ppm), а сигналы представлены в виде s (синглет), d (дублет), t (триплет), q (квартет), m (мультиплет) или br s. (широкий синглет).

Масс-спектры высокого разрешения (HRMS) получали на масс-спектрометре Orbitrap Elite (Thermo, Бремен, Германия), оборудованном источником ионов HESI.

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ). Чистота конечных соединений была определена с помощью ВЭЖХ и составляла более 98%. Условия ВЭЖХ для оценки чистоты были следующими: ВЭЖХ Shimadzu, XBridge C18, 4,6×250 мм (3,5 мкм); градиент 0,1% TFA в 5% ацетонитриле/воде (А) и 0,1% TFA ацетонитриле (В); скорость потока 0,5 мл/мин; время сбора 20 мин; длина волны, УФ 214 и 254 нм. Система препаративной ВЭЖХ включала два набора насосов Shimadzu LC-8A, контроллер Shimadzu SCL 10Avr и детектор Shimadzu SPD 10Avr. Использовали колонку Reprosil-Pur C18-AQ 10 мкм, 250×20 мм. Подвижная фаза имела градиент 0,1% TFA в воде (А) и 0,1% TFA в ацетонитриле (В). ЖХ/МС (LC/MS) проводили на системе PE Sciex API 165 с использованием электрораспыления в режиме положительных ионов  $[M+H]^+$  и системы ВЭЖХ Shimadzu, оснащенной колонкой Waters XBridge C18 3,5 мкм (4,6×150 мм). Диастереоизомеры делили на хиральной ВЭЖХ Phenomenex Lux 5u Cellulose-4, AXIA F, 250×30.00 мм. Скорость потока: 25 мл/мин. Детектор: УФ, 215 нм.

Рентгеноструктурное исследование образцов проводили на дифрактометре Bruker APEX2 DUO с использованием CuK $\alpha$ -излучения (графитовый монокристалл,  $\omega$ -сканирование). Структуры расшифрованы прямым методом и уточнены МНК в анизотропном полноматричном приближении по  $F^2_{hkl}$ . Атомы водорода ОН групп сольватных молекул этанола и изопропанола локализованы в разностных Фурье-синтезах, а положения остальных атомов рассчитаны геометрически. Все атомы водорода уточнены в изотропном приближении по модели наездника. Расчеты проведены с использованием программ SHELXTL PLUS [Sheldrick, G.M. *Acta Cryst.*, 2008, A64:112-122] и Olex2 [Dolomanov, O.V. et al., *J. Appl. Cryst.*, 2009, 42, 339-341].

Пример 1. 6,7-Дифтортиено[3,2-с][2]бензотиопин-10(5Н)-он (4.1) и 6,7-дифтор-5,10-дигидротиено[3,2-с][2]бензотиопин-10-ол (3) получают по схеме 1.

К раствору 30 г (174.3 ммоль, 1 экв.) 3,4-дифтор-2-метилбензойной кислоты (3.1) в 300 мл метанола прибавили по каплям 207 г (1.74 моль, 10 экв.) хлористого тионила. Смесь нагрели до кипения с обратным холодильником и выдержали 17 ч. Реакционную массу упарили на роторном испарителе, остаток залили водой, продукт отфильтровали и сушили на воздухе. Получали 26.4 г метилового эфира 3,4-дифтор-2-метилбензойной кислоты (3.2) в виде белого кристаллического порошка.

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.77-7.67 (m, 1H), 7.04 (dd,  $J=16.9, 8.9$  Hz, 1H), 3.91 (s, 3H), 2.56 (d,  $J=2.7$  Hz, 3H).

К раствору 28.0 г (150.4 ммоль, 1 экв.) полученного эфира 3.2 в 650 мл тетрагидрофурана при перемешивании и комнатной температуре прибавили 67.0 г (376.0 ммоль, 2.5 экв.) N-бромсукцинимид. Реакционную массу нагрели до кипения и одной порцией прибавили 360 мг (1.5 ммоль, 0.01 экв.) перекиси бензоила. Реакционную массу перемешивали при кипячении с обратным холодильником 17 ч. Реакционную массу охладили до комнатной температуры, осадок отфильтровали и промыли тетрагидрофураном. Фильтрат упарили на роторном испарителе, а остаток очищали методом колоночной хроматографии (силикагель, этилацетат:гексан 1:9). Получали 39.9 г метилового эфира 2-(бромметил)-3,4-дифторбензойной кислоты (3.3) в виде желтого масла, которое кристаллизовалось при стоянии, давая белые кристаллы.

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.87-7.77 (m, 1H), 7.19 (dd,  $J=16.8, 8.8$  Hz, 1H), 5.02 (d,  $J=2.1$  Hz, 2H), 3.96 (s, 3H).

К суспензии 12.5 г (90.3 ммоль, 1.5 экв.)  $\text{K}_2\text{CO}_3$  и 3.9 г (12.0 ммоль, 0.2 экв.)  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  в 70 мл ДМФ прибавили 7.0 г (60.2 ммоль, 1.1 экв.) тиофен-3-тиола (3.4) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. К реакционной массе прибавили 14.5 г (54.7 ммоль, 1 экв.) метилового эфира 2-(бромметил)-3,4-дифторбензойной кислоты (3.3) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 17 ч. Смесь упарили на роторном испарителе досуха, к остатку прибавили 150 мл этилацетата и 250 мл воды. Органический слой отделили и воду экстрагировали 150 мл этилацетата. Объединенные органические экстракты промыли водой, рассолом, сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и упарили на роторном испарителе досуха. Продукт очищен методом колоночной хроматографии (силикагель, гексан: этилацетат=1:0-100:1-50:1-10:1). Получили 12,2 г метилового эфира 3,4-дифтор-2-[(3-тиенилтио)метил]бензойной кислоты (3.5) в виде желтого масла.

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO)  $\delta$  7.72-7.66 (m, 1H), 7.56 (dd,  $J=5.0, 3.0$  Hz, 1H), 7.48-7.39 (m, 1H), 7.36 (dd,  $J=3.0, 1.2$  Hz, 1H), 6.94 (dd,  $J=5.0, 1.2$  Hz, 1H), 4.43 (d,  $J=1.6$  Hz, 2H), 3.78 (s, 3H).

К раствору 7.9 г (26.3 ммоль, 1 экв.) метилового эфира 3,4-дифтор-2-[(3-тиенилтио)метил]бензойной кислоты (3.5) в 80 мл метанола прибавили раствор 5.0 г (118.4 ммоль, 4.5 экв.) гидрата гидроксида лития в 40 мл воде. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 17 ч и упарили на роторном испарителе досуха. К остатку прибавили 100 мл воды, 2 N HCl до pH~1-3 и перемешивали суспензию при комнатной температуре в течение 30 мин. Осадок фильтруют и сушат на воздухе. Получили 7 г 3,4-дифтор-2-[(3-тиенилтио)метил]бензойной кислоты (3.6) в виде белого порошка.

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, DMSO)  $\delta$  13.36 (br.s, 1H), 7.78-7.71 (m, 1H), 7.56 (dd,  $J=5.0, 3.0$  Hz, 1H), 7.47-7.34 (m, 2H), 6.98-6.92 (m, 1H), 4.48 (s, 2H).

К раствору 1.0 г (3.5 ммоль, 1 экв.) 3,4-дифтор-2-[(3-тиенилтио)метил]бензойной кислоты (3.6) в 120 мл бензола прибавили 0.87 г (4.2 ммоль, 1.2 экв.)  $\text{PCl}_5$  и смесь перемешивали и кипятили с обратным холодильником в течение 10 мин, затем охладили до комнатной температуры. Через реакционную массу пропускали аргон (слабый ток) 10 мин для удаления хлористого водорода. Реакционную массу охладили до  $0^\circ\text{C}$  и прибавили по каплям 0.91 г (3.5 ммоль, 1 экв.) тетраоксида олова. Реакционную массу перемешивали и кипятили с обратным холодильником в течение 10 мин, затем охладили. К реакционной массе прибавили 70 мл эфира и смесь промыли дважды по 50 мл 2N HCl, 50 мл воды, рассолом, сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и упарили досуха на роторном испарителе. Продукт выделен методом колоночной хроматографии (силикагель, гексан: этилацетат=30:1-20:1). Получили 3,9 г 6,7-дифтортиено[3,2-с][2]бензотиэпин-10(5H)-она (3.7) в виде желтого порошка.

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, DMSO)  $\delta$  8.07 (d,  $J=5.3$  Hz, 1H), 7.64-7.47 (m, 2H), 7.23 (d,  $J=5.2$  Hz, 1H), 4.39 (s, 2H).

К суспензии 3.9 г (14.5 ммоль, 1 экв.) 6,7-дифтортиено[3,2-с][2]бензотиэпина-10(5H)-она (3.7) в 100 мл метанола прибавили 0.28 г (7.3 ммоль, 0.5 экв.) боргидрид натрия и реакционную массу перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Реакционную массу упарили на роторном испарителе, к остатку прибавили 100 мл насыщ. раствор  $\text{NaHCO}_3$  в воде. Продукт отфильтровали, промыли водой и сушили на воздухе. Получили 3,9 г 6,7-дифтор-5,10-дигидротииено[3,2-с][2]бензотиэпин-10-ола (3) в виде желтоватого порошка.

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, DMSO)  $\delta$  7.47-7.26 (m, 3H), 6.84-6.63 (m, 2H), 6.27 (s, 1H), 4.59 (d,  $J=14.2$  Hz, 1H), 4.42 (d,  $J=14.3$  Hz, 1H).

Пример 2. 7,8-Дифтор-4,9-дигидротииено[2,3-с][2]бензотиэпин-4-ол (4) получают по схеме 2.

К суспензии 8.9 г (64.5 ммоль)  $\text{K}_2\text{CO}_3$  и 2.8 г (8.6 ммоль)  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  в 50 мл ДМФ прибавили 5.0 г (43.0 ммоль) тиофен-2-тиола (4.1) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. К реакционной массе прибавили 11.4 г (43.0 ммоль) метилового эфира 2-(бромметил)-3,4-дифторбензойной кислоты (3.3) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 17 ч. Полученную смесь упарили на роторном испарителе досуха, к остатку прибавили 150 мл этилацетата и 250 мл воды. Органический слой отделили, а водный слой экстрагировали 150 мл этилацетата. Объединенные органические экстракты промыли водой, рассолом, сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и упарили на роторном испарителе досуха. Продукт очищен методом колоночной хроматографии (силикагель, дихлорметан-гексан 1:4). Получили 9.2 г метилового эфира 3,4-дифтор-2-[(2-тиенилтио)метил]бензойной кислоты (4.2) в виде желтого масла.

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, DMSO)  $\delta$  7.76-7.70 (m, 1H), 7.64 (dd,  $J=5.3, 1.2$  Hz, 1H), 7.47 (dd,  $J=18.1, 8.6$  Hz, 1H), 7.00 (dd,  $J=5.3, 3.6$  Hz, 1H), 6.97-6.93 (m, 1H), 4.41 (s, 2H), 3.77 (s, 3H).

К раствору 9.2 г (30.6 ммоль) метилового эфира 3,4-дифтор-2-[(2-тиенилтио)метил]бензойной кислоты (4.2) в 50 мл метанола прибавили раствор 2.6 г (45.9 ммоль) KOH в 50 мл воды. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 17 ч, затем отогнали метанол при пониженном давлении. Водный остаток экстрагировали дважды по 50 мл эфира после чего подкислили 2 N HCl до pH~1-3. Выпавший осадок перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Осадок отфильтровывали и сушили на воздухе. Получали 8.4 г 3,4-дифтор-2-[(2-тиенилтио)метил]бензойной кислоты (4.3) в виде белого порошка.

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, DMSO)  $\delta$  13.36 (s, 1H), 7.81-7.74 (m, 1H), 7.63 (dd,  $J=5.2, 1.2$  Hz, 1H), 7.43 (dd,  $J=17.8, 8.7$  Hz, 1H), 7.03-6.94 (m, 2H), 4.44 (s, 2H).

К раствору 4.2 г (4.7 ммоль) 3,4-дифтор-2-[(2-тиенилтио)метил]бензойной кислоты (4.3) в 70 мл бензола прибавили 3.7 г (17.6 ммоль)  $\text{PCl}_5$  и смесь перемешивали и кипятили с обратным холодильником в течение 10 мин, затем охлаждали до комнатной температуры. Через реакционную массу для удаления хлористого водорода пропускали 10 мин аргон (слабый ток). Реакционную массу охлаждали в бане лед-вода до  $0^\circ\text{C}$  и прибавляли по каплям 3.8 г (14.7 ммоль, 1 экв.) тетраоксида олова. Реакционную массу перемешивали и кипятили с обратным холодильником в течение 10 мин, затем охлаждали до комнатной температуры. К реакционной массе прибавляли 70 мл эфира и промывали дважды по 50 мл 2 N HCl, 50 мл воды, рассолом, сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и упаривали досуха на роторном испарителе. Продукт выделен методом колоночной хроматографии (силикагель, гексан: этилацетат 20:1). Получали 1.8 г 7,8-дифтортиено[2,3-с][2]бензотиэпин-4(9H)-она (4.4) в виде желтого порошка.

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, DMSO)  $\delta$  7.62-7.45 (m, 4H), 4.49 (s, 2H).

К суспензии 1.8 г (6.7 ммоль) 7,8-дифтортиено[2,3-с][2]бензотиопин-4(9H)-она (4.4) в 50 мл метанола прибавляли 0.25 г (6.7 ммоль) боргидрид натрия и реакционную массу перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Реакционную массу упарили на роторном испарителе, остаток суспендировали в 50 мл хлористого метилена, промывали 50 мл насыщенного раствора  $\text{NaHCO}_3$ . Метиленовый раствор сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и упаривали досуха. Остаток в колбе закристаллизовался. Продукт промывали водой и сушили на воздухе. Получали 1.7 г 7,8-дифтор-4,9-дигидротиено[2,3-с][2]бензотиопин-4-ола (4) в виде желтоватого порошка.

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, DMSO)  $\delta$  7.35-7.25 (m, 2H), 7.25-7.18 (m, 1H), 7.07 (d,  $J=4.7$  Hz, 1H), 6.27 (d,  $J=4.0$  Hz, 1H), 5.96 (d,  $J=3.9$  Hz, 1H).

Пример 3. (3,4-Дифторфенил)(фенил)метанол (5) получают аналогично синтезу спиртов 3 и 4 из соответствующих кетонов 3.7 и 4.4 (3,4-дифторфенил)(фенил)метанол (5).

LC-MS (ESI, 20 мин), 221 (M+H)<sup>+</sup>.

$^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  7.29-7.42 (m, 6H), 7.17-7.24 (m, 2H), 6.06 (d,  $J=4.0$  Hz, 1H), 5.71 (d,  $J=4.0$  Hz, 1H).

Пример 4. (3,4-Дифторфенил)(2-метилсульфанилфенил)метанол (6).

К суспензии 11.0 г (79.4 ммоль, 1.5 экв.)  $\text{K}_2\text{CO}_3$  и 3.5 г (10.6 ммоль, 0.2 экв.)  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  в 50 мл ДМФ прибавили 10.0 г (52.9 ммоль, 1 экв.) 1-бром-2-тиофенол (6.1) и реакционную массу перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. К реакционной смеси прибавили 11.3 г (79.4 ммоль, 1.5 экв.) подметана и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Смесь выливают в 200 мл воды, экстрагируют диэтиловым эфиром, объединенные органические фазы промывают водой, рассолом и сушат над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Растворитель упарили на роторном испарителе досуха и продукт использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. Получили в виде желтого масла 10.4 г (97%) 1-бром-2-метилсульфанилбензола (6.2).

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.54 (dd,  $J=7.9$ , 1.2 Hz, 1H), 7.36-7.28 (m, 1H), 7.15 (d,  $J=7.9$  Hz, 1H), 7.02 (td,  $J=7.8$ , 1.4 Hz, 1H), 2.49 (s, 3H).

К раствору 18.7 г (118.3 ммоль, 1 экв.) 3,4-дифторбензойной кислоты (6.4) в 374 мл хлористого метилена медленно прибавили 20.1 г (124.2 ммоль, 1.05 экв.) CDI и перемешивали при комнатной температуре в течение 15 минут до прекращения выделения  $\text{CO}_2$ . К реакционной смеси прибавили 12.7 г (130.1 ммоль, 1.1 экв.) гидрохлорида N,O-диметилгидроксиламина и перемешивали при комнатной температуре 17 ч. Смесь разбавили 400 мл воды, слои разделили и водный слой экстрагировали хлористым метиленом (дважды по 100 мл). Объединенные органические слои промывают 200 мл воды, 100 мл рассола, сушат над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и упаривают на роторном испарителе. Получают в виде бесцветного масла 12 г (50%) 3,4-дифтор-N-метокси-N-метилбензамида (6.5).

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.66-7.57 (m, 1H), 7.57-7.49 (m, 1H), 7.20 (dd,  $J=18.1$ , 8.3 Hz, 1H), 3.56 (s, 3H), 3.37 (s, 3H).

К суспензии 1.49 г (61.4 ммоль, 1.2 экв.) Mg в 60 мл ТГФ прибавили 10.4 г (51.2 ммоль, 1 экв.) 1-бром-2-(метилсульфанил)бензола (6.2) и смесь перемешивали при комнатной температуре 2 ч. Получали раствор [2-(метилсульфанил)фенил]магнийбромида (6.3) в ТГФ.

К охлажденному до (-78) $^\circ\text{C}$  (ацетон, сухой лед) раствору 10.3 г (51.2 ммоль, 1 экв.) 3,4-дифтор-N-метокси-N-метилбензамида (6.5) в 60 мл ТГФ по каплям прибавили раствор [2-(метилсульфанил)фенил]магнийбромида (6.3) в ТГФ, поддерживая температуру (-78)-(-60) $^\circ\text{C}$ . Смесь перемешивали при (-70) $^\circ\text{C}$  в течение 15 мин, затем нагрели до комнатной температуры и перемешивали в течение 17 ч. Реакционную массу охладили до 0 $^\circ\text{C}$ , к реакционной массе прибавили 200 мл 1 N HCl и смесь перемешивали в ледяной бане в течение 15 мин. К смеси прибавили 50 мл этилацетата и 100 мл воды, органический слой отделили и водный слой экстрагировали этилацетатом (дважды по 100 мл). Объединенный органический экстракт промыли водой (дважды по 50 мл), рассолом, сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и упарили на роторном испарителе досуха. Продукт очищали методом колоночной хроматографии (силикагель, этилацетат:гексан=30:1-20:1). Получали в виде бесцветного масла 3.6 г (3,4-дифторфенил)(2-метилсульфанилфенил)метанола (6.6).

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.71-7.64 (m, 1H), 7.58-7.47 (m, 2H), 7.46-7.41 (m, 1H), 7.39-7.34 (m, 1H), 7.28-7.22 (m, 2H), 2.44 (s, 3H).

К раствору 3.6 г (13.6 ммоль, 1 экв.) (3,4-дифторфенил)(2-метилсульфанилфенил)метанола (6.6) в 36 мл метанола прибавили 0.26 г (6.8 ммоль, 0.5 экв.)  $\text{NaBH}_4$  и реакционную массу перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Реакционную массу упарили на роторном испарителе, к остатку прибавили 10 мл 2 N HCl и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5 мин. К смеси порциями прибавили насыщенный раствор 100 мл  $\text{NaHCO}_3$  и органический продукт экстрагировали этилацетатом (трижды по 60 мл). Объединенный экстракт промывали рассолом, сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и упарили на роторном испарителе досуха. Продукт очищали методом колоночной хроматографии (силикагель, гексан:этилацетат=30:1-15:1-9:1-7:1-5:1). Получали в виде бесцветного масла 2.9 г (77%) (3,4-дифторфенил)(2-метилсульфанилфенил)метанола (6).

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, DMSO)  $\delta$  7.51 (d,  $J=7.5$  Hz, 1H), 7.38-7.26 (m, 4H), 7.23-7.17 (m, 1H), 7.13-7.07

(m, 1H), 6.10 (d, J=4.3 Hz, 1H), 5.97 (d, J =4.3 Hz, 1H), 2.44 (s, 3H).

Пример 5. (12aR)-7-(Бензилокси)-12-(6,7-дифтор-5,10-дигидро[3,2-c][2]бензотиэпин-10-ил)-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксаино[3,4-с1пиридо[2,1-е][1,2,4]триазин-6,8-дионы 1.1.1 и его диастереомеры 1.2.1, 1.3.1.

К смеси 3.3 г (10.1 ммоль, 1 экв.) 7-(бензилокси)-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксаино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-диона (2) и 4.1 г (15.2 ммоль, 1.5 экв.) 6,7-дифтор-5,10-дигидротиено[3,2-с][2]бензотиэпин-10-ола (3) прибавили 64.3 г (101 ммоль, 10 экв.) 50% Т<sub>3</sub>Р в этилацетате. Реакционную массу перемешивали при комнатной температуре в течении 5 дней, вылили в смесь 200 мл насыщ. раствора NaHCO<sub>3</sub> и 200 мл этилацетата. Водный раствор отделили и слой этилацетата снова промыли насыщ. раствором NaHCO<sub>3</sub>, рассолом, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и упарили на ротормном испарителе. Продукт очищали методом колоночной хроматографии (EtOAc). Продукт 1.1.1 получен в виде белого порошка (5.7 г, 97%). Полученная смесь диастереомеров перекристаллизована из 170 мл этилацетата. Осадок отфильтрован и промыт на фильтре этилацетатом. Получен диастереомер 1.3.1 в виде белого порошка 1.46 г (25%). Фильтрат упарен на ротормном испарителе досуха, остаток разделяли на хиральной HPLC, получили диастереомер 1.2.1, который выходил из колонки первым, и диастереомера 1.3.1, который выходил из колонки вторым. Дополнительно перекристаллизовали 2.8 г диастереомера 1.2.1 из 100 мл изопропанола. Абсолютная конфигурация диастереомеров 1.2.1 и 1.3.1 установлена на основании данных PCA (табл. 4) ромбических сольватов (фиг. 1 и 2) 1.2.1·C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH и 1.2.1·i-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>OH (соотношениях 4:3 и 8:3 соответственно), полученных в результате кристаллизации диастереомера 1.2.1 из этанола и изопропанола.

Таблица 4

Основные кристаллографические данные и параметры уточнения 1.2.1·C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH и 1.2.1·i-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>OH

Параметры	1.2.1·C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH	1.2.1·i-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> OH
Брутто формула	C <sub>122</sub> H <sub>110</sub> F <sub>8</sub> N <sub>12</sub> O <sub>19</sub> S <sub>8</sub>	C <sub>241</sub> H <sub>208</sub> F <sub>16</sub> N <sub>24</sub> O <sub>35</sub> S <sub>16</sub>
Молекулярная масса	2456.69	4817.26
T, K	120	120
Кристаллическая система	Ромбическая	Ромбическая
Пространственная группа	P2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub> 2	P2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub> 2
Z	2	1
a, Å	15.2405(4)	15.2647(3)
b, Å	33.4723(8)	33.3600(7)
c, Å	11.2776(3)	11.4164(3)
α, °	90.00	90.00
β, °	90.00	90.00
γ, °	90.00	90.00
V, Å <sup>3</sup>	5753.1(3)	5813.6(2)
d <sub>выч</sub> , г×см <sup>-3</sup>	1.418	1.376
μ, см <sup>-1</sup>	21.77	21.35
F(000)	2556	2502
2θ <sub>max</sub> , °	135	135
Число измеренных отражений	76014	82664
Число независимых отражений	10279	10421
Число отражений с I>2σ(I)	9918	9852

Количество уточняемых параметров	779	760
R1	0.0347	0.0522
wR2	0.0904	0.1513
GOF	1.077	1.107
Остаточная электронная плотность, $e \times \text{Å}^{-3} (d_{\text{max}}/d_{\text{min}})$	0.692/-0.413	0.810/-0.390

## Диастереомер 1.2.1:

LC MS, m/z 580 (M+1);

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO)  $\delta$  7.76 (d, J=5.3 Hz, 1H), 7.56 (d, J=7.4 Hz, 2H), 7.40-7.29 (m, 3H), 7.21-7.11 (m, 1H), 7.03 (d, J=7.7 Hz, 1H), 6.91 (d, J=5.4 Hz, 1H), 6.83-6.75 (m, 1H), 5.76-5.65 (m, 2H), 5.34-5.22 (m, 2H), 5.15 (d, J=11.0 Hz, 1H), 4.56-4.48 (m, 2H), 4.13 (d, J=14.4 Hz, 1H), 3.99-3.92 (m, 1H), 3.73-3.66 (m, 1H), 3.39 (t, J=10.3 Hz, 1H), 2.96-2.86 (m, 1H), 1.04 (d, J=6.0 Hz, 1H).

## Диастереомер 1.3.1:

LC MS, m/z 580 (M+1);

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO)  $\delta$  7.57 (d, J=7.0 Hz, 2H), 7.51-7.29 (m, 6H), 7.23 (d, J=7.7 Hz, 1H), 6.77 (d, J=5.4 Hz, 1H), 5.88-5.80 (m, 2H), 5.49-5.34 (m, 1H), 5.25 (d, J=10.7 Hz, 1H), 5.14 (d, J=10.8 Hz, 1H), 4.50-4.40 (m, 1H), 4.35 (dd, J=9.9, 2.9 Hz, 1H), 4.07 (d, J=9.8 Hz, 1H), 3.85 (dd, J=10.7, 2.8 Hz, 1H), 3.70-3.59 (m, 1H), 3.36 (t, J=10.3 Hz, 1H), 3.28-3.19 (m, 1H), 2.99-2.81 (m, 1H).

Пример 6. (12aR)-7-гидрокси-12-(6,7-дифтор-5,10-дигидро[3.2-с][2]бензотиепин-10-ил)-3,4,12,12а-тетрагидро-1Н-[1,4]оксаино[3,4-с]пиридо[2,1-е][1,2,4]триазин-6,8-дион 1.1.2 и его диастереомеры 1.2.2 и 1.3.2.

К раствору 0.173 моль (1 экв.) (12aR)-7-(бензилокси)-12-(6,7-дифтор-5,10-дигидро[3,2-с][2]бензотиепин-10-ил)-3,4,12,12а-тетрагидро-1Н-[1,4]оксаино[3,4-с]пиридо[2,1-е][1,2,4]триазин-6,8-циона (1.1.1) или его диастереомеров 1.2.1 и 1.3.1 в 15 мл диметилацетамида прибавили 36 мг (0.863 ммоль, 5 экв.) LiCl, реакционную массу нагрели до 80°C и перемешивали в течении 2 ч. Реакционную массу упарили на роторном испарителе досуха, к остатку прибавили 50 мл водного 0.5N HCl и продукт экстрагировали этилацетатом (трижды по 30 мл). Объединенный экстракт промыли рассолом, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и упарили на роторном испарителе досуха. Остаток очищена методом HPLC и получили, соответственно ингибитор 1.1.2 (LC MS, m/z 454 (M+1)), или его диастереомеры 1.1.2, 1.3.2 (LC MS, m/z 454 (M+1)). Ингибитор 1.1.2 представляет собой по данным NMR смесь диастереомеров 1.2.2 и 1.3.2 в соотношении 65:35.

## Диастереомер 1.2.2:

LC MS, m/z 454 (M+1);

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO)  $\delta$  7.53-7.37 (m, 3H), 7.14 (d, J=7.8 Hz, 1H), 6.77 (d, J=5.3 Hz, 1H), 5.86 (s, 1H), 5.69 (d, J=7.7 Hz, 1H), 5.41 (d, J=14.1 Hz, 1H), 4.42 (d, J=10.6 Hz, 2H), 4.09 (d, J=14.2 Hz, 1H), 3.90-3.81 (m, 1H), 3.70-3.56 (m, 2H), 3.46-3.39 (m, 2H), 3.00 (s, 1H).

## Диастереомер 1.3.2:

LC MS, m/z 454 (M+1);

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO)  $\delta$  7.76 (d, J=5.3 Hz, 1H), 7.20 (dd, J=18.5, 8.3 Hz, 1H), 7.05-6.87 (m, 3H), 5.84 (s, 1H), 5.56 (d, J=7.7 Hz, 1H), 5.28 (d, J=14.9 Hz, 1H), 4.57 (dd, J=9.8, 2.8 Hz, 1H), 4.49 (d, J=11.8 Hz, 1H), 4.13 (d, J=14.5 Hz, 1H), 4.01-3.93 (m, 1H), 3.76-3.68 (m, 1H), 3.62 (t, J=10.3 Hz, 1H), 3.49-3.39 (m, 2H), 3.05-2.94 (m, 1H).

Пример 7. ((12aR)-12-[(10S)-6,7-дифтор-5,10-дигидротиено[3.2-с][2]бензотиепин-10-ил]-4,8-диоксо-3,4,6,8,12,12а-гексагидро-1Н-[1,4]оксаино[3,4-с]пиридо[2,1-ф][1,2,4]триазин-6-ил}окси)метил метил карбонат 1.1.4 и его диастереоизомеры 1.2.4, 1.3.4.

К суспензии 0.5 ммоль соединения 1.1,2 или его диастереомера 1.2.2, 1.3.2 в 1 мл диметилацетамида прибавили 93 мг (0.75 ммоль) хлорметил метил карбоната, 137 мг (1.0 ммоль) карбоната калия и 82 мг (0.5 ммоль) йодистого калия, затем реакционную массу нагрели до 60°C и перемешивали в течении 48 ч. Реакционную массу упарили на роторном испарителе досуха, к остатку прибавили 10 мл 0.5 N HCl и продукт экстрагировали EtOAc (трижды по 30 мл). Объединенный экстракт промыли 30 мл насыщенного водного раствора NaHCO<sub>3</sub>, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и упарили на роторном испарителе досуха. Остаток чистили HPLC. Получили соответственно пролекарство 1.1.4 (LC MS, m/z 578 (M+1)) или его диастереоизомеры 1.2.4 (LC MS, m/z 578 (M+1)), 1.3.4 (LC MS, m/z 578 (M+1)).

Пример 8. (12aR)-12-[(10S)-6,7-дифтор-5,10-дигидротиено[3,2-с][2]бензотиепин-10-ил]-4,8-диоксо-3,4,6,8,12,12а-гексагидро-1Н-[1,4]оксаино[3,4-с]пиридо[2,1-ф][1,2,4]триазин-6-ил метил карбонат 1.1.3 и его диастереоизомеры 1.2.3, 1.3.3.

Пролекарства 1.1.3 (LC MS, m/z 548 (M+1), 1.2.3 (LC MS, m/z 548 (M+1)) и 1.3.3 (LC MS, m/z 548

(M+1)) получали аналогично примеру 6, используя метиловый эфир хлормуравьиной кислоты для карбометоксилирования соответственно соединений 1.1.2, 1.2.2 и 1.3.2.

Пример 9. (12aR)-7-(Бензилокси)-12-(7,8-дифтор-4,9-дигидротиено[2,3-с][2]бензотиепин-4-ил)-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксаино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-дионы 1.4.1 и его диастереомеры 1.5.1, 1.6.1.

К раствору 4.6 ммоль 7,8-дифтор-4,9-дигидротиено[2,3-с][2]бензотиепин-4-ола (4) в 50 мл пиридина при 0°C прикапали 0.52 г (4.6 ммоль) мезилхлорида и полученную смесь перемешивали при комнатной температуре 24 ч. Затем к смеси добавили 7-(бензилокси)-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксаино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-дион (2) и перемешивали при 70°C еще 24 ч. Упарили пиридин при пониженном давлении, остаток растворили в 100 мл хлористого метилена, промыли 50 мл воды, сушили над сульфатом натрия, упарили. Полученный продукт чистили колоночной хроматографией на силикагеле чистым этилацетатом. Получили (12aR)-7-(бензилокси)-12-(7,8-дифтор-4,9-дигидротиено[2,3-с][2]бензотиепин-4-ил)-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксаино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-дион 1.4.1, состоящий из диастереомеров 1.5.1, 1.6.1, которые выделяли на препаративной хиральной колонке Phenomenex Lux 5u Cellulose-4, AXIA F, 250×30.00 мм. Скорость потока: 25 мл/мин. Детектор: УФ, 254 нм. Подвижная фаза постоянного состава ацетонитрил:изопропанол 80:20.

(12aR)-7-(Бензилокси)-12-(7,8-дифтор-4,9-дигидротиено[2,3-с][2]бензотиепин-4-ил)-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксаино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-диона (1.4.1):

LC MS, m/z 580 (M+1);

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.61-7.51 (m, 2.6H), 7.48-7.29 (m, 3.8H), 7.25 (d, J=7.7 Hz, 0.4H), 7.20-7.09 (m, 1H), 7.02 (dd, J=12.0, 6.5 Hz, 1.2H), 6.76-6.67 (m, 0.6H), 6.26 (d, J=5.2 Hz, 0.4H), 5.83 (s, 0.4H), 5.73-5.66 (m, 1.2H), 5.48 (d, J=14.6 Hz, 0.4H), 5.35-5.26 (m, 1.6H), 5.18-5.10 (m, 1H), 4.54-4.41 (m, 1H), 4.36-4.29 (m, 1H), 4.24 (d, J=14.5 Hz, 0.6H), 4.18 (d, J=14.3 Hz, 0.4H), 3.94 (d, J=7.6 Hz, 0.6H), 3.84 (d, J=7.8 Hz, 0.4H), 3.72-3.61 (m, 1H), 3.42-3.32 (m, 1.4H), 3.29-3.20 (m, 1H), 2.91 (t, J=11.0 Hz, 0.4H), 2.83 (t, J=10.9 Hz, 0.6H).

Диастереомер 1.5.1:

LC MS, m/z 580 (M+1);

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.54 (t, J=5.5 Hz, 3H), 7.38 (t, J=7.2 Hz, 2H), 7.33 (t, J=7.2 Hz, 1H), 7.22-7.11 (m, 1H), 7.02 (dd, J=12.0, 6.5 Hz, 2H), 6.76-6.67 (m, 1H), 5.73-5.66 (m, 2H), 5.35-5.26 (m, 2H), 5.14 (d, J=10.9 Hz, 1H), 4.49 (d, J=11.8 Hz, 1H), 4.32 (d, J=6.9 Hz, 1H), 4.24 (d, J=14.5 Hz, 1H), 3.94 (d, J=7.6 Hz, 1H), 3.68 (d, J=8.8 Hz, 1H), 3.39-3.34 (m, 1H), 3.29-3.21 (m, 1H), 2.83 (t, J=10.9 Hz, 1H).

Диастереомер 1.6.1:

LC MS, m/z 580 (M+1);

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.57 (d, J=6.9 Hz, 2H), 7.48-7.29 (m, 5H), 7.25 (d, J=7.7 Hz, 1H), 7.11 (d, J=5.2 Hz, 1H), 6.26 (d, J=5.2 Hz, 1H), 5.83 (s, 1H), 5.48 (d, J=14.6 Hz, 1H), 5.29 (d, J=11.0 Hz, 1H), 5.12 (d, J=10.9 Hz, 1H), 4.46 (d, J=12.0 Hz, 1H), 4.33 (d, J=7.0 Hz, 1H), 4.18 (d, J=14.3 Hz, 1H), 3.84 (d, J=7.8 Hz, 1H), 3.65 (d, J=11.2 Hz, 1H), 3.42-3.34 (m, 2H), 3.25 (t, J=10.7 Hz, 1H), 2.91 (t, J=11.0 Hz, 1H).

Пример 10. 7-Гидрокси-(12aR)-12-(7,8-дифтор-4,9-дигидротиено[2,3-с][2]бензотиепин-4-ил)-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксаино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-дионы 1.4.2 и его диастереомеры 1.5.2 и 1.6.2.

К раствору 0.14 ммоль 7-бензилокси производного 1.4.2, 1.5.2 или 1.6.2 в 5 мл диметилацетамида прибавляли 9 мг (0.70 ммоль) LiCl, реакционную массу нагревали до 80°C и перемешивали в течении 3 ч. Реакционную массу упаривали на роторном испарителе досуха, а остаток чистили на HPLC. Получали соответствующий продукт 1.4.2, 1.5.2 и 1.6.2.

7-Гидрокси-(12aR)-12-(7,8-дифтор-4,9-дигидротиено[2,3-с][2]бензотиепин-4-ил)-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксаино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-дионы 1.4.2:

LC MS, m/z 454 (M+1);

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.53 (d, J=5.2 Hz, 0.5H), 7.44 (dd, J=18.2, 8.4 Hz, 0.5H), 7.38-7.31 (m, 0.5H), 7.27-7.13 (m, 1.5H), 7.03 (d, J=5.3 Hz, 0.5H), 6.97 (d, J=7.7 Hz, 0.5H), 6.92-6.85 (m, 0.5H), 6.42 (d, J=5.3 Hz, 0.5H), 5.87 (s, 0.5H), 5.80 (s, 0.5H), 5.69 (d, J=7.6 Hz, 0.5H), 5.56 (d, J=7.7 Hz, 0.5H), 5.48 (d, J=13.5 Hz, 0.5H), 5.33 (d, J=14.4 Hz, 0.5H), 4.53-4.35 (m, 2H), 4.30-4.14 (m, 1H), 3.96 (dd, J=10.6, 2.7 Hz, 0.5H), 3.90-3.81 (m, 0.5H), 3.69 (t, J=12.4 Hz, 1H), 3.59 (t, J=10.3 Hz, 1H), 3.46-3.41 (m, 1H), 3.08-2.97 (m, 0.5H), 2.91 (t, J=11.0 Hz, 0.5H).

Диастереомер 1.5.2:

LC MS, m/z 454 (M+1);

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO) δ 11.80 (br.s, 1H), 7.43 (dd, J=18.2, 8.6 Hz, 1H), 7.38-7.29 (m, 1H), 7.17 (t, J=6.3 Hz, 2H), 6.42 (d, J=5.2 Hz, 1H), 5.87 (s, 1H), 5.69 (d, J=7.6 Hz, 1H), 5.49 (d, J=14.7 Hz, 1H), 4.55-4.33 (m, 2H), 4.19 (d, J=14.4 Hz, 1H), 3.86 (d, J=8.0 Hz, 1H), 3.67 (d, J=9.2 Hz, 1H), 3.59 (t, J=10.4 Hz, 1H), 3.40 (t, J=10.5 Hz, 1H), 3.03 (t, J=11.0 Hz, 1H).

Диастереомер 1.6.2:

LC MS, m/z 454 (M+1);

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO) δ 11.77 (s, 1H), 7.53 (d, J=5.1 Hz, 1H), 7.21 (dd, J=17.9, 8.6 Hz, 1H), 7.03

(d, J=5.2 Hz, 1H), 6.97 (d, J=7.6 Hz, 1H), 6.93-6.82 (m, 1H), 5.80 (s, 1H), 5.56 (d, J=7.6 Hz, 1H), 5.33 (d, J=14.6 Hz, 1H), 4.48 (d, J=12.6 Hz, 1H), 4.39 (d, J=7.6 Hz, 1H), 4.25 (d, J=14.5 Hz, 1H), 3.96 (d, J=8.6 Hz, 1H), 3.71 (d, J=9.3 Hz, 1H), 3.59 (t, J=10.2 Hz, 1H), 3.42 (t, J=10.8 Hz, 1H), 2.91 (t, J=11.2 Hz, 1H).

Пример 11. ((12aR)-12-[(4S)-7,8-Дифтор-4,9-дигидропиено[2,3-с][2]бензотиепин-4-ил]-6,8-диоксо-3,4,6,8,12,12а-гексагидро-1H-[1,4]оксаино[3,4-с]пиридо[2,1-ф][1,2,4]триазин-7-ил}окси)метил карбонаты 1.5.4 и ((12aR)-12-[(4R)-7,8-дифтор-4,9-дигидропиено[2,3-с][2]бензотиепин-4-ил]-6,8-диоксо-3,4,6,8,12,12а-гексагидро-1H-[1,4]оксаино[3,4-с]пиридо[2,1-ф][1,2,4]триазин-7-ил}окси)метил карбонат 1.6.4.

Получали в условиях описанных в примере 6, исходя из соответствующих диастереомеров 1.5.2 и 1.6.2.

Пролекарство 1.5.4:

LC MS, m/z 578 (M+1).

Пролекарство 1.6.4:

LCMS, m/z 578 (M+1).

Пример 12. (12aR)-7-(Бензилокси)-12-[(3,4-дифторфенил)(фенил)метил]-3,4,12,12а-тетрагидро-1H-[1,4]оксаино[3,4-с]пиридо[2,1-ф][1,2,4]триазин-6,8-дион 1.7.1 и его диастереомеры 1.8.1, 1.9.1.

К смеси 900 мг (2.7 ммоль) (12aR)-7-(бензилокси)-3,4,12,12а-тетрагидро-1H-[1,4]оксаино[3,4-с]пиридо[2,1-ф][1,2,4]триазин-6,8-диона (2) и 605 мг (2.7 ммоль) (3,4-дифторфенил)(фенил)метанола (5) в 17.5 г (27.0 ммоль) 50% Т<sub>3</sub>Р в этилацетате прибавили 528 мг (5.4 ммоль) метансульфокислоты и перемешивали при 70°C 16 ч. Реакционную массу охладил до комнатной температуры, добавили 50 мл этилацетата и промыли 50 мл насыщенного раствора NaHCO<sub>3</sub>, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и упаривали на ротаторном испарителе досуха. Полученный продукт чистили колоночной хроматографией на силикагеле чистым этилацетатом. После упаривания соответствующих фракций получили 240 мг продукта (1.7.1): LC MS (20 мин): Rt=15.53 (220 нм), m/z 530 (M+1), состоящий из (12aR)-7-(бензилокси)-12-[(R)-(3,4-дифторфенил)(фенил)метил]-3,4,12,12а-тетрагидро-1H-[1,4]оксаино[3,4-с]пиридо[2,1-ф][1,2,4]триазин-6,8-диона (1.8.1) и (12aR)-7-(бензилокси)-12-[(S)-(3,4-дифторфенил)(фенил)метил]-3,4,12,12а-тетрагидро-1H-[1,4]оксаино[3,4-с]пиридо[2,1-ф][1,2,4]триазин-6,8-диона (1.9.1), которые разделяли на препаративной хиральной колонке Phenomenex Lux 5u Cellulose-4, AXIA F, 250×30.00 мм. Скорость потока: 25 мл/мин. Детектор: УФ, 254 нм. Подвижная фаза постоянного состава ацетонитрил-изопропанол 80:20.

Диастереомер 1.8.1:

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.61 (d, J=6.6 Hz, 2H), 7.40-7.33 (m, 4H), 7.25-7.17 (m, 3H), 7.12 (t, J=7.6 Hz, 2H), 6.93 (d, J=7.5 Hz, 2H), 6.73 (d, J=7.7 Hz, 1H), 5.75 (d, J=7.9 Hz, 1H), 5.59 (d, J=10.7 Hz, 1H), 5.45 (d, J=10.8 Hz, 1H), 5.39 (s, 1H), 4.65 (d, J=13.8 Hz, 1H), 4.58-4.50 (m, 1H), 3.97 (d, J=10.4 Hz, 1H), 3.73 (d, J=8.9 Hz, 1H), 3.37-3.22 (m, 2H), 2.96 (t, J=10.9 Hz, 1H).

Диастереомер 1.9.1:

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.62 (d, J=7.2 Hz, 2H), 7.50-7.32 (m, 8H), 7.06-6.95 (m, 1H), 6.91-6.76 (m, 2H), 6.61-6.46 (m, 1H), 5.94 (d, J=7.9 Hz, 1H), 5.64 (d, J=10.7 Hz, 1H), 5.47 (d, J=10.8 Hz, 1H), 5.36 (s, 1H), 4.60 (t, J=12.8 Hz, 2H), 3.95 (d, J=10.7 Hz, 1H), 3.71 (d, J=8.8 Hz, 1H), 3.39-3.20 (m, 2H), 2.99-2.83 (m, 1H).

После кристаллизации из смеси дихлорметан-гексан диастереомера 1.9.1 полученные кристаллы проанализировали методом PCA. Полученные данные (фиг. 3, табл. 5) подтвердили его стереохимическое строение.

Таблица 5  
Основные кристаллографические данные  
и параметры уточнения диастереомера 1.9.1

Брутто формула	$C_{30}H_{25}F_2N_3O_4$
Молекулярная масса	529.53
T, K	120
Кристаллическая система	Триклинная
Пространственная группа	P1
Z	1
a, Å	7.2293(7)
b, Å	9.5120(9)
c, Å	10.0046(9)
$\alpha$ , °	70.501(2)
$\beta$ , °	85.503(2)
$\gamma$ , °	87.171(2)
V, Å <sup>3</sup>	646.32(11)
$d_{\text{выч}}$ , г×см <sup>-3</sup>	1.360
$\mu$ , см <sup>-1</sup>	1.01
F(000)	276
$2\theta_{\text{max}}$ , °	56
Число измеренных отражений	7474
Число независимых отражений	6090
Число отражений с $I > 2s(I)$	5042
Количество уточняемых параметров	352
R1	0.0459
wR2	0.0938
GOF	1.0188
Остаточная электронная плотность, $e \times \text{Å}^{-3} (d_{\text{max}}/d_{\text{min}})$	0.259-0.228

Пример 13. (12aR)-7-Гидрокси-12-[(3,4-дифторфенил)(фенил)метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-c]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.7.2) и его диастереомеры 1.8.2 и 1.9.2.

К раствору 64 мг (0.12 ммоль) (12aR)-7-(бензилокси) производного 1.7.1, 1.8.1 или 1.9.1 в 3 мл диметилацетамида прибавили 40 мг (0.95 ммоль) LiCl, реакционную массу нагрели до 80°C и перемешивали в течении 3 ч. Реакционную массу упарили на роторном испарителе досуха, остаток чистили на HPLC.

Получили соответственно

(12aR)-7-гидрокси-12-[(3,4-дифторфенил)(фенил)метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксаино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.7.2):

LC MS (20 мин), m/z 440 (M+1),

по данным <sup>1</sup>H NMR смесь диастереоизомеров 1.8.2 и 1.9.2 в соотношении 1.5:1;

(12aR)-7-гидрокси-12-[(10R)-(3,4-дифторфенил)(фенил)метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксаино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.8.2):

LC MS (20 мин), Rt=13.99 (220 нм), m/z 440 (M+1),

<sup>1</sup>H NMR (400 МГц, DMSO) δ 7.89-7.76 (m, 1H), 7.59-7.44 (m, 2H), 7.33-7.13 (m, 6H), 5.74 (s, 1H), 5.44 (d, J=7.6 Hz, 1H), 4.60 (d, J=7.4 Hz, 1H), 4.37 (d, J=12.7 Hz, 1H), 3.96 (d, J=8.3 Hz, 1H), 3.75-3.56 (m, 2H), 3.44-3.37 (m, 2H), 3.22-3.14 (m, 1H); и

(12aR)-7-гидрокси-12-[(10S)-(3,4-дифторфенил)(фенил)метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксаино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.9.2):

LC MS (20 мин), Rt=14.32 (220 нм), m/z 440 (M+1),

<sup>1</sup>H NMR (400 МГц, DMSO) δ 7.66 (d, J=7.4 Hz, 2H), 7.46 (t, J=7.4 Hz, 3H), 7.43-7.32 (m, 2H), 7.28 (dd, J=18.9, 8.6 Hz, 1H), 7.22-7.14 (m, 1H), 5.78 (s, 1H), 5.58 (d, J=7.6 Hz, 1H), 4.52 (dd, J=10.0, 2.8 Hz, 1H), 4.37 (d, J=12.0 Hz, 1H), 3.92 (dd, J=10.8, 2.8 Hz, 1H), 3.69-3.60 (m, 2H), 3.42-3.35 (m, 1H), 3.03 (t, J=11.1 Hz, 1H).

Пример 14. ((12aR)-12-[(R)-(3,4-Дифторфенил)(фенил)метил]-7-гидрокси-6,8-диоксо-3,4,6,8,12,12a-гексагидро-1H-[1,4]оксаино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-7-ил)окси)метил метил карбонат (1.8.4) и ((12aR)-12-[(S)-(3,4-дифторфенил)(фенил)метил]-7-гидрокси-6,8-диоксо-3,4,6,8,12,12a-гексагидро-1H-[1,4]оксаино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-7-ил)окси)метил метил карбонат (1.9.4).

Получены по аналогии с соединениями 1.1.4, 1.2.4 и 1.3.4, синтез которых описан в примере 7.

Диастереоизомер 1.8.4:

LC MS (20 мин), m/z 528 (M+1);

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 300 МГц, 80°C) δ 7.76 (m, 1H), 7.48 (m, 2H), 7.35 (m, 1H), 7.24 (m, 5H), 5.73 (m, 1H), 5.66 (m, 3H), 4.57 (m, 1H), 4.37 (m, 1H), 4.00 (m, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.71 (m, 1H), 3.43 (m, 1H), 3.30 (m, 1H), 3.10 (m, 1H).

Диастереоизомер 1.9.4:

LC MS (20 мин), m/z 528 (M+1);

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 300 МГц, 80°C) δ 7.65 (m, 2H), 7.43 (m, 5H), 7.21 (m, 2H), 5.79 (d, J=8.0 Hz, 1H), 5.70 (m, 3H), 4.51 (m, 1H), 4.36 (m, 1H), 3.97 (m, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.68 (m, 1H), 3.45 (m, 1H), 3.29 (m, 1H), 2.95 (m, 1H).

Пример 15. (12aR)-7-(Бензилокси)-12-[(3,4-дифторфенил)[2-(метилтио)фенил]метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксаино[3,4-с]пиридо[2,1-e][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.10.1) и его диастереоизомеры 1.11.1 и 1.12.1.

К смеси 400 мг (1.222 ммоль, 1 экв.) 7-(бензилокси)-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксаино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-диона (2) и 358 мг (1.344 ммоль, 1.1 экв.) (3,4-дифторфенил)[2-(метилтио)фенил]метанола (6) прибавили 1166.5 мг (1,833 ммоль, 1.5 экв.) 50% ТЗР в этилацетате и 0.4 мл этилацетата. К суспензии прибавили 235 мг (2.444 ммоль, 2 экв.) метансульфонокислоты и смесь грели в микроволновом реакторе (СЕМ) MW, 100°C, 5.5 ч. К реакционной смеси прибавили при охлаждении льдом 4 мл воды и смесь перемешивали в ледяной бане в течение 1 ч. К реакционной смеси прибавили 30 мл воды и органическую фазу экстрагировали этилацетатом (трижды по 30 мл). Объединенный органический слой промыли насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub>, рассолом, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и упаривали на роторном испарителе досуха. Продукт 1.10.1, состоящий из его диастереоизомеров 1.11.1 и 1.12.1, частично дебензилируется, поэтому смесь направлена на следующую стадию без очистки.

LC MS (3 мин): Rt=1.40 (220 нм), m/z 576 (M+1).

Пример 16. (12aR)-7-Гидрокси-12-[(3,4-дифторфенил)[2-(метилтио)фенил]метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксаино[3,4-с]пиридо[2,1-e][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.10.2), состоящий из его диастереомеров 1.11.2 и 1.12.2.

Продукт, полученный в примере 15 растворяли в 10 мл диметилацетамида и к раствору прибавили 259 мг (6.11 ммоль, 5 экв.) LiCl. Смесь нагрели до 80°C и перемешивали в течение 3 ч. Реакционную массу упарили на роторном испарителе досуха, к остатку прибавили 50 мл 0.5 М HCl, перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин и полученный осадок отфильтровали. Осадок промыли водой и сушили на воздухе. Продукт очищен методом HPLC. Продукт 1.10.2 (LC MS (20 мин): Rt=14.49 (220 нм), m/z486 (M+1)) по данным <sup>1</sup>H NMR анализа состоял из диастереомеров 1.11.2 и 1.12.2 в соотношении 60:40.

Пример 17. (12aR)-7-(Бензилокси)-12-дифенилметил-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксаино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.13.1).

К смеси 380 мг (1.2 ммоль) 7-(бензилокси)-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксаино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-диона (2) и 214 мг (1.2 ммоль) дифенилметанола (7) в 7.4 г (12.0 ммоль) 50% ТЗР в этилацетате прибавили 223 мг (2.4 ммоль) метансульфонокислоты и перемешивали при 50°C

16 ч. Реакционную массу охладили до комнатной температуры, добавили 50 мл этилацетата, промыли 50 мл насыщенного раствора  $\text{NaHCO}_3$ , сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и упаривали на ротаторном испарителе досуха. Полученный продукт чистили колоночной хроматографией на силикагеле этилацетатом. После упаривания соответствующих фракций получили 407 мг (71%) продукта 1.13.1:

LC MS (20 мин),  $R_t=17.10$  (220 нм),  $m/z$  494 (M+1);

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO)  $\delta$  7.66 (d,  $J=7.5$  Hz, 2H), 7.55 (d,  $J=7.3$  Hz, 2H), 7.45 (t,  $J=7.5$  Hz, 2H), 7.40-7.28 (m, 5H), 7.21 (d,  $J=7.2$  Hz, 2H), 7.19-7.09 (m, 3H), 5.66 (s, 1H), 5.57 (d,  $J=7.7$  Hz, 1H), 5.24 (d,  $J=10.8$  Hz, 1H), 5.05 (d,  $J=10.9$  Hz, 1H), 4.53-4.45 (m, 1H), 4.40 (d,  $J=12.8$  Hz, 1H), 3.92 (d,  $J=8.2$  Hz, 1H), 3.64 (d,  $J=9.0$  Hz, 1H), 3.45-3.37 (m, 1H), 3.23 (t,  $J=10.9$  Hz, 1H), 2.96 (t,  $J=10.9$  Hz, 1H).

Пример 18. (12aR)-7-Гидрокси-12-дифенилметил-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-c]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.13.2).

К раствору 360 мг (0.73 ммоль) (12aR)-7-(бензилокси)-12-дифенилметил-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-c]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-диола (1.13.1) в 5 мл диметилацетамида прибавили 155 мг (3.65 ммоль) LiCl, реакционную массу нагрели до  $80^\circ\text{C}$  и перемешивали в течении 3 ч. Реакционную массу упарили на ротаторном испарителе досуха, к остатку прибавили 50 мл 0.5N HCl и продукт экстрагировали  $\text{EtOAc}$  (трижды по 30 мл). Объединенный экстракт промыли рассолом, сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и упарили на ротаторном испарителе досуха. Получили 62 мг продукта 1.13.2:

LC MS (20 мин),  $R_t=12.85$  (220 нм),  $m/z$  404 (M+1);

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO)  $\delta$  7.66 (d,  $J=7.3$  Hz, 2H), 7.45 (t,  $J=7.3$  Hz, 2H), 7.40-7.33 (m, 1H), 7.28 (s, 2H), 7.25-7.13 (m, 4H), 5.68 (s, 1H), 5.44 (d,  $J=7.7$  Hz, 1H), 4.56 (d,  $J=8.0$  Hz, 1H), 4.38 (d,  $J=13.0$  Hz, 1H), 3.94 (d,  $J=9.1$  Hz, 1H), 3.72-3.59 (m, 2H), 3.45-3.37 (m, 2H), 3.12-3.00 (m, 1H).

Пример 19. ((12aR)-12-Дифенилметил-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-c]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-7-ил)окси)метил метил карбонат (1.13.4).

Пролекарство 1.13.4 получали в условиях описанных в примере 7 по аналогии с получением ((12aR)-12-[(10S)-5,10-дигидротиено[3,2-c][2]бензотиопин-10-ил]-4,8-диоксо-3,4,6,8,12,12a-гексагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-c]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6-ил)окси)метил метил карбоната (1.1.4).

Пролекарство 1.13.4:

LC MS (20 мин),  $R_t=12.85$  (220 нм),  $m/z$  492 (M+1);

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  7.67 (d,  $J=7.6$  Hz, 2H), 7.46 (t,  $J=7.6$  Hz, 2H), 7.37 (m, 2H), 7.27 (m, 2H), 7.19 (m, 3H), 5.68 (s, 1H), 5.67 (d,  $J=6.8$  Hz, 1H), 5.63 (d,  $J=7.6$  Hz, 1H), 5.61 (d,  $J=6.8$  Hz, 1H), 4.51 (dd,  $J_1=10.0$  Hz,  $J_2=2.8$  Hz, 1H), 4.34 (d,  $J=13.2$  Hz, 1H), 3.96 (dd,  $J_1=10.8$  Hz,  $J_2=2.4$  Hz, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.68 (dd,  $J_1=11.2$  Hz,  $J_2=2.8$  Hz, 1H), 3.45 (t,  $J=10.4$  Hz, 1H), 3.26 (m, 1H), 3.01 (dt,  $J_1=12.4$  Hz,  $J_2=2.8$  Hz, 1H).

Пример 20. (12aR)-7-(Бензилокси)-12-[бис(4-фторофенил)метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-c]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.14.1).

К смеси 0.67 г (3.1 ммоль) 7-(бензилокси)-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-c]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-диола (2) и 1.0 г (3.1 моль) бис(4-фторофенил)метанола (8) в 19.4 г (31.0 ммоль) 50%  $\text{T}_3\text{P}$  в этилацетате прибавили 0.59 г (6.2 ммоль) метансульфонокислоты и перемешивали при  $80^\circ\text{C}$  16 ч. Реакционную массу охладили до комнатной температуры, добавили 150 мл этилацетата и промыли 200 мл насыщенного водного раствора  $\text{NaHCO}_3$ , сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и упаривали на ротаторном испарителе досуха. Полученный продукт чистили колоночной хроматографией на силикагеле этилацетатом. После упаривания соответствующих фракций получили продукт 1.14.1:

LC MS (20 мин),  $R_t=15.66$  (220 нм),  $m/z$  530 (M+1);

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO)  $\delta$  7.76-7.67 (m, 2H), 7.55 (d,  $J=7.1$  Hz, 2H), 7.42-7.21 (m, 8H), 6.97 (t,  $J=8.7$  Hz, 2H), 5.76 (s, 1H), 5.65 (d,  $J=7.7$  Hz, 1H), 5.24 (d,  $J=10.9$  Hz, 1H), 5.06 (d,  $J=10.8$  Hz, 1H), 4.47 (d,  $J=7.2$  Hz, 1H), 4.40 (d,  $J=12.6$  Hz, 1H), 3.91 (d,  $J=8.3$  Hz, 1H), 3.64 (d,  $J=9.0$  Hz, 1H), 3.42 (t,  $J=10.5$  Hz, 1H), 3.23 (t,  $J=10.8$  Hz, 1H), 3.01 (t,  $J=11.4$  Hz, 1H).

Пример 21. (12aR)-12-[Бис(4-фторофенил)метил]-7-гидрокси-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-c]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.14.2).

Продукт 1.14.2:

LC MS (20 мин),  $R_t=12.72$  (220 нм),  $m/z$  440;

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO)  $\delta$  11.61 (br.s, 1H), 7.76-7.64 (m, 2H), 7.39-7.18 (m, 5H), 7.03 (t,  $J=8.7$  Hz, 2H), 5.77 (d,  $J=11.9$  Hz, 1H), 5.52 (d,  $J=7.6$  Hz, 1H), 4.63-4.46 (m, 1H), 4.37 (d,  $J=13.4$  Hz, 1H), 3.92 (d,  $J=8.1$  Hz, 1H), 3.72-3.57 (m, 2H), 3.39 (t,  $J=10.8$  Hz, 1H), 3.11 (t,  $J=11.1$  Hz, 1H);

получали в условиях описанных в примере 17 для соединения 1.13.2.

Пример 22. ((12aR)-12-[Бис(4-фторофенил)метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-c]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-7-ил)окси)метил метил карбонат (1.14.4).

Пролекарство 1.14.4 получали в условиях, описанных в примере 7, по аналогии с получением ((12aR)-12-[(10S)-5,10-дигидротиено[3,2-c][2]бензотиопин-10-ил]-4,8-диоксо-3,4,6,8,12,12a-гексагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-c]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6-ил)окси)метил метил карбоната (1.1.4).

Пролекарство 1.14.4:

LC MS (20 мин),  $R_t=12.85$  (220 нм),  $m/z$  528 (M+1);

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz) δ 7.73 (m, 2H), 7.39 (d, J=7.6 Hz, 1H), 7.27-7.32 (m, 4H), 7.02 (m, 2H), 5.78 (s, 1H), 5.71 (d, J=7.6 Hz, 1H), 5.68 (d, J=6.8 Hz, 1H), 5.61 (d, J=6.8 Hz, 1H), 4.50 (dd, J<sub>1</sub>=10.0 Hz, J<sub>2</sub>=3.2 Hz, 1H), 4.33 (d, J=13.2 Hz, 1H), 3.95 (dd, J<sub>1</sub>=10.8 Hz, J<sub>2</sub>=2.8 Hz, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.68 (dd, J<sub>1</sub>=11.2 Hz, J<sub>2</sub>=3.2 Hz, 1H), 3.46 (t, J=10.4 Hz, 1H), 3.26 (dt, J<sub>1</sub>=11.6 Hz, J<sub>2</sub>=2.0 Hz, 1H), 3.05 (dt, J<sub>1</sub>=12.4 Hz, J<sub>2</sub>=3.2 Hz, 1H).

Пример 23. *In vitro* активность новых ингибиторов в отношении изолятов вируса гриппа в культуре клеток MDCK методом иммуноферментного анализа (ИФА).

Протокол 1 компании ImQuest BioSciences (Frederick, Maryland, USA) использовался для определения активности соединений изолятов гриппа A/California/2009 (H1N1).

Подготовка клеток. Клетки MDCK (клетки почек собак, CCL-34) получали из АТСС и пассировали в DMEM с добавлением 10% FBS, 2 mM L-глутамин, 100 Е/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина, 1 mM пирувата натрия и 0,1 mM NEAA, колбы T-75 перед использованием в противовирусном анализе. В день, предшествующий анализу, клетки разделяли 1:2, чтобы гарантировать, что они находились в экспоненциальной фазе роста во время инфекции. Определение количества клеток и жизнеспособности проводили с использованием гемоцитометра и исключения красителя трипановым синим. Жизнеспособность клеток была более 95% для клеток, которые будут использоваться в анализе. Клетки ресуспендировали при 1×10<sup>4</sup> клеток на лунку в среде для тканевых культур и добавляли в планшеты для микротитрования с плоским дном в объеме 100 мкл. Планшеты инкубировали при 37°C/5% CO<sub>2</sub> в течение ночи, чтобы обеспечить адгезию клеток.

Приготовление вируса. Вирус гриппа A/CA/04/09 (NR-13685-) был получен из BEI Resources (Manassas, VA) и выращен в клетках MDCK для производства пулов исходных вирусов. Предварительно титрованную аликвоту вируса удаляли из морозильника (-80°C) и позволяли медленно оттаивать до комнатной температуры в шкафу биологической безопасности. Вирус ресуспендировали и разбавляли в среде для анализа (DMEM с добавлением 2 mM L-глутамин, 100 Е/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина, 1 mM пирувата натрия, 0,1 mM NEAA и 1 мкг/мл ТПКК-обработанного трипсина) таким образом, чтобы количество вируса, добавляемого в каждую лунку в объеме 100 мкл, было определено для того, чтобы убить от 85 до 95% клеток через 4 дня после заражения (МОИ 0,01).

Формат планшета. Каждый планшет содержал лунки для контроля клеток (только клетки), лунки для контроля вирусов (клетки плюс вирус), лунки для колориметрического контроля лекарств (только лекарство), а также экспериментальные лунки (лекарство плюс клетки плюс вирус). Образцы тестировали трижды на эффективность с пятью половинными разведениями на соединение.

Эффективность и токсичность ХТТ. После инкубации при 37°C в 5% CO<sub>2</sub>-инкубаторе тестовые планшеты окрашивали тетразолиевым красителем ХТТ (2,3-бис(2-метокси-4-нитро-5-сульфофенил)-5-[(фениламино)карбонил]-2Н-тетразолий гидроксид, Sigma-Aldrich). ХТТ-тетразолий метаболизируется митохондриальными ферментами метаболически активных клеток до растворимого продукта формазана, что позволяет проводить быстрый количественный анализ ингибирования вызванного вирусом уничтожения клеток антивирусными тестируемыми веществами. Раствор ХТТ готовили ежедневно в виде запаса 1 мг/мл в RPMI1640. Раствор метазульфата феназина (PMS, Sigma-Aldrich) готовили в концентрации 0,15 мг/мл в PBS и хранили в темноте при -20°C. Исходный материал ХТТ/PMS готовили непосредственно перед использованием путем добавления 40 мкл PMS на мл раствора ХТТ. Пятьдесят микролитров ХТТ/PMS добавляли в каждую лунку планшета и планшет реинкубировали в течение 4 ч при 37 °C. Планшеты герметично закрывали клеевыми герметизаторами пластин и осторожно встряхивали или переворачивали несколько раз, чтобы смешать растворимый продукт формазан, и планшет считывали спектрофотометрически при 450/650 нм с помощью устройства для считывания планшетов Molecular Devices Vmax.

Анализ данных. Необработанные данные были собраны из Softmax Pro и импортированы в электронную таблицу Microsoft Excel XLfit4 для анализа с использованием расчетов соответствия четырех параметров.

Протокол 2 научно-исследовательского института вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова (ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва) использовался для определения активности соединений изолятов гриппа A/Aichi/2/69 (H3N2) и A/Perth/265/2009 (H1N1pdm09) (H275Y).

Для определения противогриппозной активности новых ингибиторов (J и прототипа) клетки MDCK рассаживали в 96-луночных планшетах фирмы "Costar" со средней плотностью 30000-35000 клеток на лунку и выращивали в минимальной среде Игла в присутствии 5% фетальной сыворотки телят и 10 mM глутамин до полного монослоя. Перед заражением вирусом клетки 2 раза промывали средой без сыворотки. Исследуемые соединения добавляли к клеткам в 2-х кратной концентрации в 100 мкл минимальной среды Игла. К вирусному контролю добавляли по 100 мкл этой же среды, а к клеточному контролю по 200 мкл. Поскольку использовались штаммы вируса гриппа человека, изучаемые образцы и разведения вируса готовились на среде с добавлением 2,5 мкг/мл трипсина ТРСК. После инкубации клеток с исследуемыми препаратами в течение 2 ч при 37°C в лунки, исключая клеточный контроль, добавляли по 100 мкл аллантаоисного вируса, разведенного на среде с добавлением 5 мкг/мл трипсина ТРСК (от 0,1 до 5 БОЕ на клетку). Далее планшеты инкубировали в течение 24 ч в атмосфере 5% CO<sub>2</sub> при 37°C.

После инкубации среду удаляли и клетки фиксировали 80% ацетоном на фосфатно-солевом буфере в течение 20 мин, хорошо высушивали, а затем отмывали 3 раза фосфатно-солевым буфером с 0,05% Твин-20 (ИФА-раствор). Эти и все дальнейшие процедуры отмывки проводили указанным раствором. Далее к клеткам добавляли по 100 мкл раствора фосфатно-солевого буфера с 1% фетальной сывороткой и 0,05% Твин-20 и инкубировали при 37°C в течение 30 мин. После удаления раствора к клеткам добавляли по 100 мкл моноклональных антител (МКА) к внутренним белкам вируса гриппа А (NP+M1), разведенным 1:1000 на ИФА-растворе. После инкубации с антителами в течение 1 ч при 37°C и последующей 3-х-кратной промывки в лунки вносили по 100 мкл IgG кролика против IgG мыши, меченных пероксидазой хрена в разведении 1:5000. и инкубировали еще 1 ч при 37°C. После 4-кратной промывки связанную пероксидазу выявляли добавлением в лунки 100 мкл 0,05% раствора ортофенилендиамина в 0,003% цитратном буфере pH 5,0, содержащем 0,003% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Планшеты выдерживали 15-30 мин в темноте до появления окраски, реакцию останавливали добавлением 50 мкл 4N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, далее оптическую плотность (ОП) измеряли на автоматическом спектрофотометре при длине волны 450 нм. В качестве клеточного контроля использовали лунки, не зараженные вирусом. Процент ингибирования вирусной репродукции изучаемым соединением определяли по формуле

$$\text{Процент ингибирования} = 100 - (\text{ОП опыта} - \text{ОП клеточного контроля}) / \text{ОП вирусного контроля в отсутствии соединения} - \text{ОП клеточного контроля}$$

Для одной точки опыта использовали четыре лунки планшета, а каждое значение представляет среднее арифметическое, вычисленное из этого опыта. Концентрация препарата, уменьшающая значение величины ОП на 50%, принималась за ингибирующую концентрацию 50 (IC<sub>50</sub>). Противовирусная активности новых ингибиторов и Балоксавира в изолятов вирусов гриппа А в культуре клеток MDCK представлены в табл. 3.

Пример 24. Фармацевтическая композиция в виде таблетки.

Крахмал (1700 мг), молотую лактозу (1700 мг), тальк (400 мг) и 1200 мг пролекарства 1.1.4, или 1.11.4, или 1.14.4 смешивали и прессовали в бар. Полученный брусок измельчали в гранулы и просеивали через сито, чтобы собрать гранулы размером 14-16 меш. Полученные таким образом гранулы были сформированы в таблетки подходящей формы весом 80 или 160 мг каждая.

Пример 25. Фармацевтическая композиция в виде капсул.

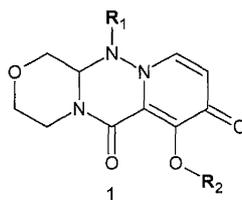
Пролекарство формулы 1.1.4, или 1.11.4, или 1.14.4 тщательно смешивали с порошком лактозы в соотношении 2:1. Полученную порошкообразную смесь упаковывали в желатиновые капсулы подходящего размера по 36 или 72 мг в каждой капсуле.

### Промышленная применимость

Изобретение может быть использовано в медицине и ветеринарии.

### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Замещенный 3,4,12,12а-тетрагидро-1Н-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-дион общей формулы 1



где R<sup>1</sup> - 6,7-дифтор-5,10-дигидроотиено[3,2-с][2]бензотиепин-10-ил, (3,4-дифторфенил)(фенил)метил, дифенилметил, бис(4-фторфенил)метил;

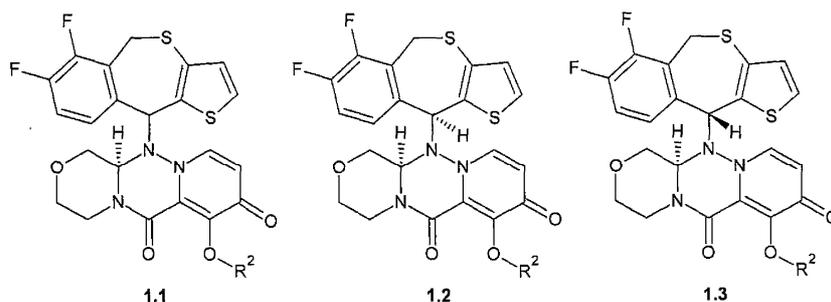
R<sup>2</sup> - водород, бензил или {(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-алкил)оксикарбонил}окси метил, и его стереоизомер.

2. Соединение по п.1, представляющее собой

(12aR)-12-(6,7-дифтор-5,10-дигидроотиено[3,2-с][2]бензотиепин-10-ил)-3,4,12,12а-тетрагидро-1Н-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-дион общей формулы 1.1;

(12aR)-12-[(10S)-6,7-дифтор-5,10-дигидроотиено[3,2-с][2]бензотиепин-10-ил]-3,4,12,12а-тетрагидро-1Н-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-дион общей формулы 1.2;

(12aR)-12-[(10R)-6,7-дифтор-5,10-дигидроотиено[3,2-с][2]бензотиепин-10-ил]-3,4,12,12а-тетрагидро-1Н-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-дион общей формулы 1.3:



где R<sup>2</sup> имеет вышеуказанное значение.

3. Соединение по п.1 или 2, представляющее собой

(12aR)-7-бензилокси-12-(6,7-дифтор-5,10-дигидротиено[3,2-с][2]бензотиепин-10-ил)-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксаино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.1.1);

(12aR)-7-бензилокси-12-[(10S)-6,7-дифтор-5,10-дигидротиено[3,2-с][2]бензотиепин-10-ил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксаино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.2.1);

(12aR)-7-бензилокси-12-[(10R)-6,7-дифтор-5,10-дигидротиено[3,2-с][2]бензотиепин-10-ил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксаино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.3.1);

(12aR)-7-гидрокси-12-(6,7-дифтор-5,10-дигидротиено[3,2-с][2]бензотиепин-10-ил)-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксаино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.1.2);

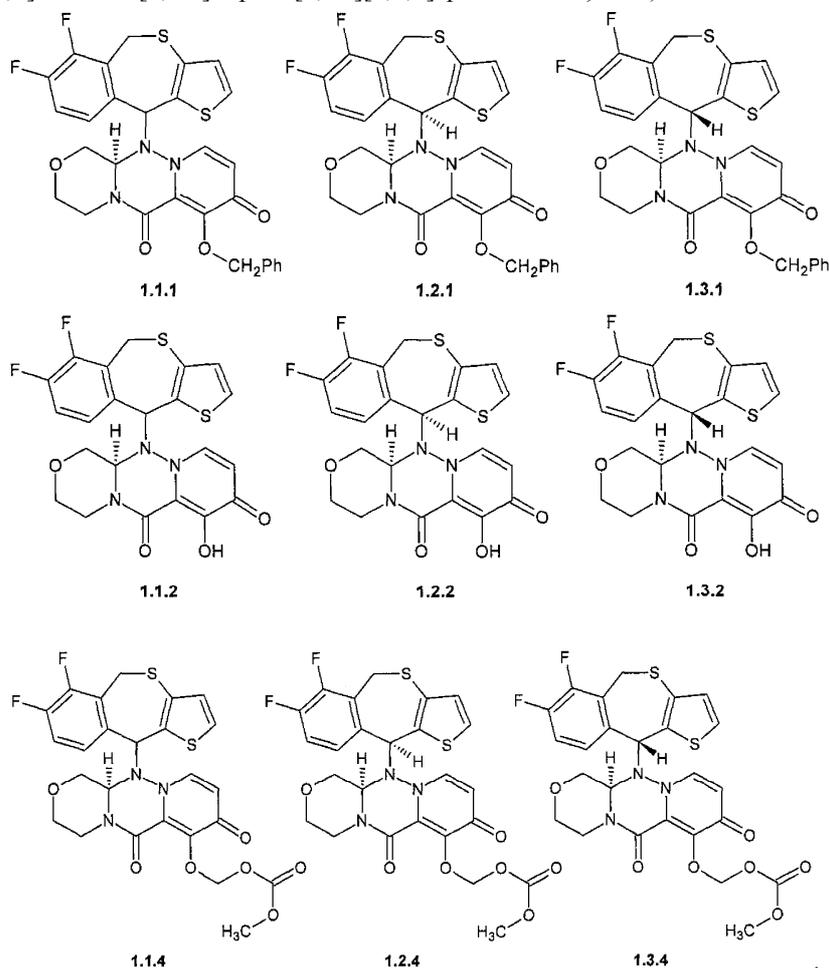
(12aR)-7-гидрокси-12-[(10S)-6,7-дифтор-5,10-дигидротиено[3,2-с][2]бензотиепин-10-ил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксаино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.2.2);

(12aR)-7-гидрокси-12-[(10R)-6,7-дифтор-5,10-дигидротиено[3,2-с][2]бензотиепин-10-ил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксаино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.3.2);

{[(12aR)-12-(6,7-дифтор-5,10-дигидротиено[3,2-с][2]бензотиепин-10-ил)-6,8-диоксо-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксаино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-7-ил}окси} метил метил карбонат (1.1.4);

{[(12R)-12-[(10S)-6,7-дифтор-5,10-дигидротиено[3,2-с][2]бензотиепин-10-ил]-6,8-диоксо-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксаино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-7-ил}окси} метил метил карбонат (1.2.4);

{[(12aR)-12-[(10R)-6,7-дифтор-5,10-дигидротиено[3,2-с][2]бензотиепин-10-ил]-6,8-диоксо-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксаино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-7-ил}окси} метил метил карбонат (1.3.4):



4. Соединение по любому из пп.2 или 3, представляющее (12aR)-7-бензилокси-12-[(10S)-6,7-дифтор-5,10-дигидротиено[3,2-с][2]бензотиепин-10-ил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.2.1) в виде сольвата с этанолом или изопропанолом в форме ромбических кристаллов, характеризующихся следующими кристаллографическими данными:

для сольвата с этанолом соответственно в соотношении 4:3 с пространственной группой  $P2_12_12=Z2$ ,  $a=15.2405(4)$  Å,  $b=33.4723(8)$  Å,  $c=11.2776(3)$  Å,  $\alpha=90.00^\circ$ ,  $\beta=90.00^\circ$ ,  $\gamma=90.00^\circ$ , с объемом ячейки  $V=5753.1(3)$  Å<sup>3</sup>;

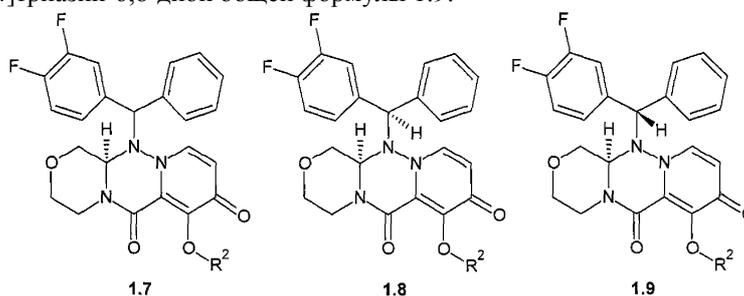
для сольвата с изопропанолом в соответственно соотношении 8:3 с пространственной группой  $P2_12_12=Z12$ ,  $a=15.2647(3)$  Å,  $b=33.3600(7)$  Å,  $c=11.4164(3)$  Å,  $\alpha=90.00^\circ$ ,  $\beta=90.00^\circ$ ,  $\gamma=90.00^\circ$ , с объемом ячейки  $V=5813.6(2)$  Å<sup>3</sup>.

5. Соединение по п.1, представляющее собой

(12aR)-12-[(3,4-дифторфенил)(фенил)метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дион общей формулы 1.7;

(12aR)-12-(R)-(3,4-дифторфенил)(фенил)метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дион общей формулы 1.8;

(12aR)-12-(S)-(3,4-дифторфенил)(фенил)метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дион общей формулы 1.9:



где  $R^2$  имеет вышеуказанное значение.

6. Соединение по пп.1 и 5, представляющее собой

(12aR)-7-бензилокси-12-[(3,4-дифторфенил)(фенил)метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.7.1);

(12aR)-7-бензилокси-12-[(R)-(3,4-дифторфенил)(фенил)метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.8.1);

(12aR)-7-бензилокси-12-[(S)-(3,4-дифторфенил)(фенил)метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.9.1);

(12aR)-7-гидрокси-12-[(3,4-дифторфенил)(фенил)метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.7.2);

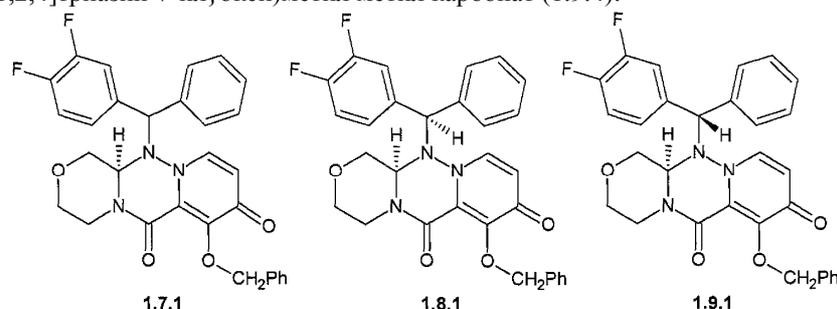
(12aR)-7-гидрокси-12-[(R)-(3,4-дифторфенил)(фенил)метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.8.2);

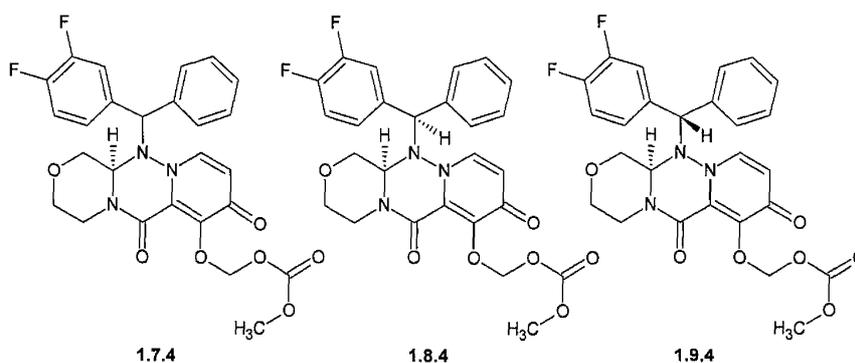
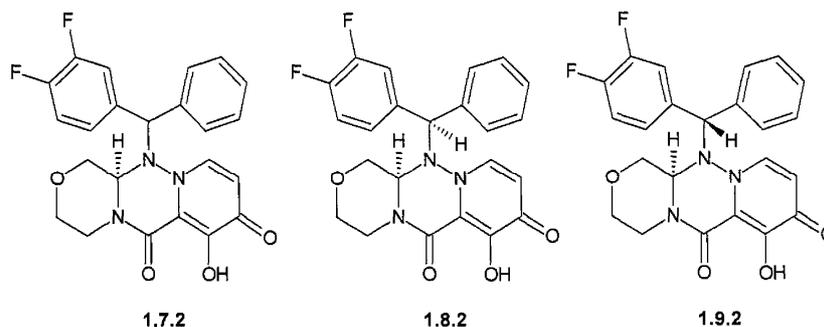
(12aR)-7-гидрокси-12-[(S)-(3,4-дифторфенил)(фенил)метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.9.2);

({(12aR)-12-[(3,4-дифторфенил)(фенил)метил]-6,8-диоксо-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-7-ил} окси)метил метил карбонат (1.7.4);

({(12aR)-12-[(R)-(3,4-дифторфенил)(фенил)метил]-6,8-диоксо-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-7-ил} окси)метил метил карбонат (1.8.4);

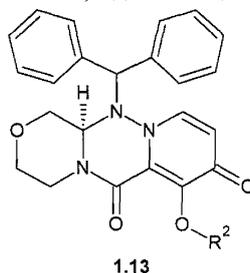
({(12aR)-12-[(S)-(3,4-дифторфенил)(фенил)метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-*f*][1,2,4]триазин-7-ил} окси)метил метил карбонат (1.9.4):





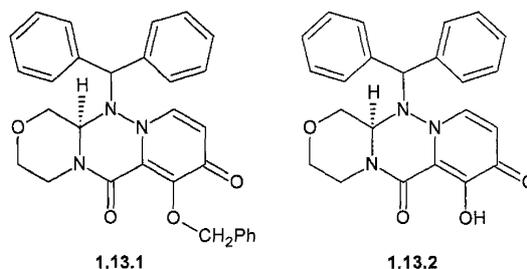
7. Соединение по п.5 или 6, представляющее собой (12aR)-7-бензилокси-12-[(S)-(3,4-дифторфенил)(фенил)метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксаино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.9.1), которое является поликристаллическим и имеет триклинную форму кристаллов с пространственной группой P1=Z1 и параметрами решетки  $a=7.2293(7)$  Å,  $b=9.5120(9)$  Å,  $c=10.0046(9)$  Å,  $\alpha=70.501(2)^\circ$ ,  $\beta=85.503(2)^\circ$ ,  $\gamma=87.171(2)^\circ$ , с объемом ячейки  $V=646.32(11)$  Å<sup>3</sup>.

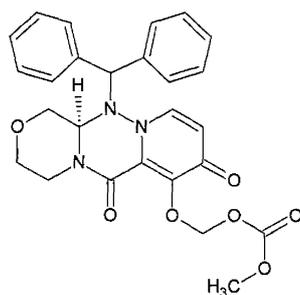
8. Соединение по п.1, представляющее собой (12aR)-12-дифенилметил-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксаино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-дион общей формулы 1.13



где R<sup>2</sup> имеет вышеуказанное значение.

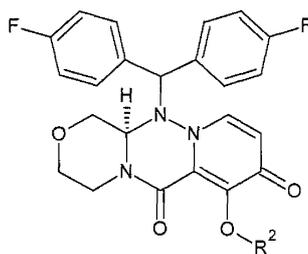
9. Соединение по пп.1 или 8, представляющее собой  
 (12aR)-7-бензилокси-12-дифенилметил-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксаино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.13.1);  
 (12aR)-7-гидрокси-12-дифенилметил-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксаино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.13.2);  
 ({(12aR)-12-дифенилметил-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксаино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-7-ил}окси)метил метил карбонат (1.13.4):





1.13.4

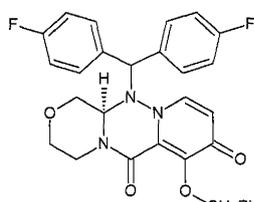
10. Соединение по п.1, представляющее собой  
(12aR)-12-[бис(4-фторфенил)метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-дион общей формулы 1.14



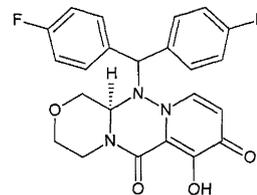
1.14

где R<sup>2</sup> имеет вышеуказанное значение.

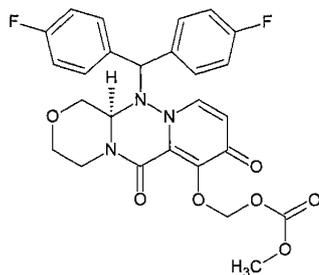
11. Соединение по п.1 или 10, представляющее собой  
(12aR)-7-бензилокси-12-[бис(4-фторфенил)метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.14.1);  
(12aR)-7-гидрокси-12-[бис(4-фторфенил)метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-дион (1.14.2);  
({(12aR)-12-[бис(4-фторфенил)метил]-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-7-ил}окси)метил метил карбонат (1.14.4):



1.14.1

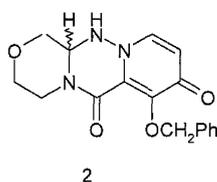


1.14.2

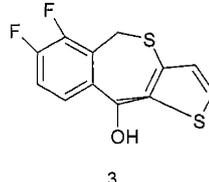


1.14.4

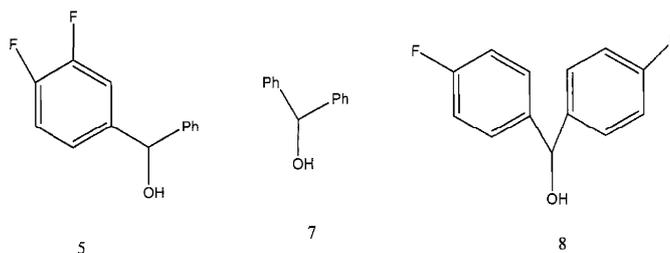
12. Способ получения соединений общей формулы 1 по любому из пп.1-11 взаимодействием (12aR)-7-(бензилокси)-3,4,12,12a-тетрагидро-1H-[1,4]оксазино[3,4-с]пиридо[2,1-f][1,2,4]триазин-6,8-диона (2) с 6,7-дифтор-5,10-дигидротиено[3,2-с][2]бензотиопин-10-олом (3), или (3,4-дифторфенил)(фенил)метанолом (5), или дифенилметанолом (7), или бис(4-фторфенил)метанолом (8) с получением соответствующих соединений формул 1.1.1-1.3.1 или 1.7.1-1.9.1, 1, 1.13.1, 1.14.1:



2

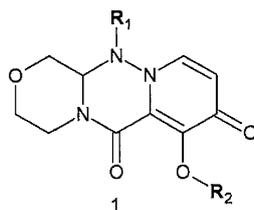


3



с дальнейшим дебензилированием в диметилсульфоксиде или диметилацетамиде в присутствии LiCl с получением соответствующего соединения 1.1.2, 1.2.2 и 1.3.2 либо 1.7.2-1.9.2 или 1.13.2, 1.14.2 и при необходимости с последующим взаимодействием с хлорметил метил карбонатом в диметилацетамиде в присутствии йодистого калия и карбоната калия с получением соответствующих соединений формул 1.1.4, 1.2.4 и 1.3.4 или 1.7.4-1.9.4, 1.13.4, 1.14.4.

13. Противовирусная фармацевтическая композиция для лечения и/или профилактики гриппа, содержащая соединение общей формулы 1



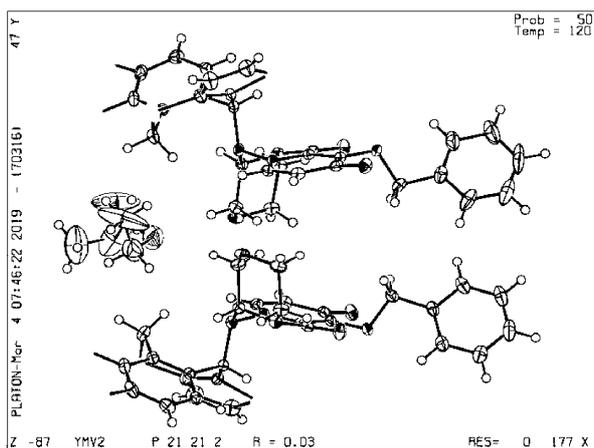
где  $R^1$  - 6,7-дифтор-5,10-дигидротиено[3,2-с][2]бензотиепин-10-ил, (3,4-дифторфенил)(фенил)метил, дифенилметил, бис(4-фторфенил)метил;

$R^2$  - водород, бензил или  $\{[(C_1-C_3\text{-алкил)оксикарбонил}]окси\}$ метил, или его стереоизомер по п.1 в терапевтически эффективном количестве и фармацевтически приемлемый наполнитель.

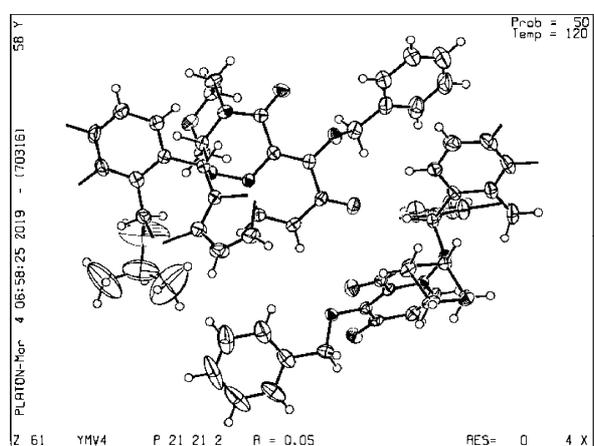
14. Противовирусная фармацевтическая композиция по п.13, содержащая соединение общей формулы 1.1, 1.2, 1.3, 1.7, 1.8, 1.9, 1.13 или 1.14 по любому из пп.2, 5, 8, 10.

15. Противовирусная фармацевтическая композиция по п.13 или 14, где соединение формулы 1 выбирается из соединений 1.1.2, 1.2.2, 1.3.2, 1.7.2, 1.8.2, 1.9.2, 1.13.2, 1.14.2, 1.1.4, 1.2.4, 1.3.4, 1.7.4, 1.8.4, 1.9.4, 1.13.4, 1.14.4 по любому из пп.3, 4, 6, 7, 9, 11.

16. Способ лечения и/или профилактики вирусного заболевания, являющегося гриппом, характеризующийся введением пациенту в терапевтически эффективном количестве соединения формулы 1 по любому из пп.1-11 или фармацевтической композиции любому из пп.13-15 в терапевтически эффективном количестве.

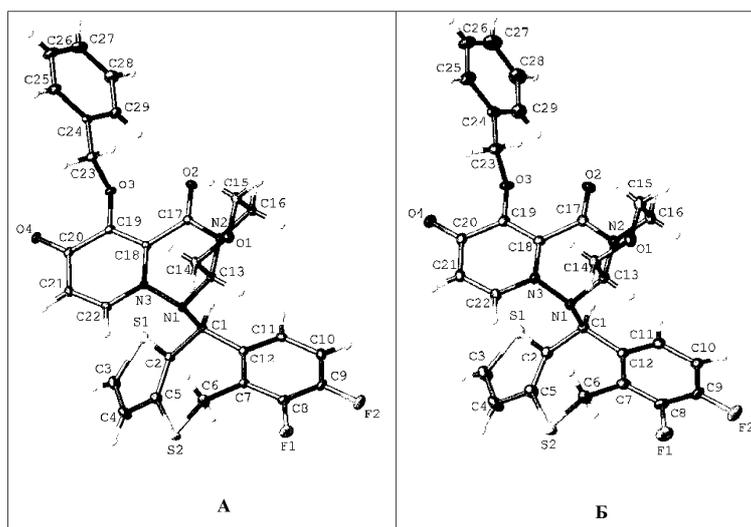


А



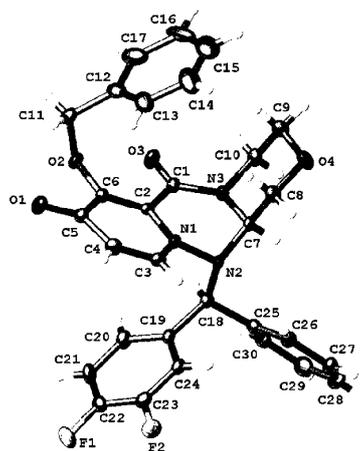
Б

Фиг. 1

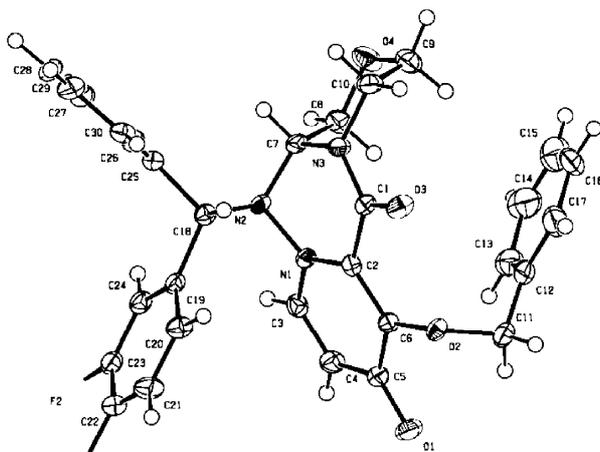


Фиг. 2

044023



A



Б

Фиг. 3



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

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