



УКРАЇНА

(19) UA (11) 94395 (13) C2  
(51) МПК  
C07D 413/12 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

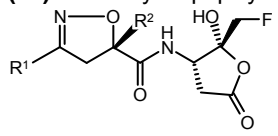
(54) ПОХІДНЕ ІЗОКСАЗОЛІНУ ТА СПОСІБ ЙОГО ОДЕРЖАННЯ

1

(21) a200709610  
(22) 21.02.2006  
(24) 10.05.2011  
(86) PCT/KR2006/000576, 21.02.2006  
(31) 10-2005-0016203  
(32) 26.02.2005  
(33) KR  
(46) 10.05.2011, Бюл.№ 9, 2011 р.  
(72) ШИН ХЬЮН ІК, KR, ЧОЙ ХЬСОНГ ВООК, KR,  
ХЕО ТАЕ ХО, KR, ЛІ КЬЮ ВООНГ, KR, ЛІ ДЖА  
ХООН, KR, ПАРК КІ СООК, KR  
(73) ЕЛДЖІ ЛАЙФ САЕНСЕЗ ЛТД., KR  
(56) WO 0121600 A1, 29.03.2001  
KR 1999-79267 A, 05.11.1999  
KANEMASA S. ET AL: 'Lewis Acid Coordinated Nitrile  
Oxide and Nitrile Imine 1,3-Dipoles. syn-Selective  
Cycloadditions to 2-(1-Hydroxyalkyl)acrylates' BULL.  
CHEM. SOC. JPN. vol. 66, 1993, pages 2685 - 2693  
ROBINSON R.R. ET AL.: 'Synthesis of a Peptidyl  
Difluoro Ketone Bearing the Aspartic Acid Site Chain:

2

An Inhibitor of Interleukin-1beta Converting Enzyme'  
J. ORG. CHEM. vol. 57, 1992, pages 7309 - 7314  
WO 0121599 A1, 29.03.2001  
WO 2005021516 A1, 10.03.2005  
(57) 1. Сполука формули (1):



де  
R<sup>1</sup> являє собою ізохінолініл, хінолініл або нафтил, і  
R<sup>2</sup> являє собою метил, етил, пропіл або бутіл.  
2. Сполука за п. 1, в якій:  
R<sup>1</sup> являє собою ізохінолініл, і  
R<sup>2</sup> являє собою ізопропіл.  
3. Сполука за п. 2, яка має кристалічну форму, що  
демонструє наступний патерн рентгеноструктурно-  
го аналізу:

D(X)	Відносна інтенсивність (I/I <sub>0</sub> )	Кут 2θ
9,665	0,555	9,15
7,284	0,397	12,15
5,825	0,260	15,21
5,563	0,228	15,93
5,372	0,302	16,5
4,840	1,000	18,33
4,695	0,477	18,9
4,341	0,454	20,46
3,663	0,230	24,3
3,414	0,219	26,1

4. Сполука за п. 1, яка призначена для застосу-  
вання у виробництві лікарського засобу для ліку-  
вання запалення або запобігання апоптозу.

5. Сполука за п. 4, яка **відрізняється** тим, що лі-  
карський засіб застосовують при деменції, мозко-  
вому інсульті, пошкодженні мозку внаслідок СНІДу,  
діабеті, виразці шлунка, пошкодженні мозку віру-  
сом гепатиту, спричинених вірусом гепатиту печін-  
кових захворюваннях, гострому гепатиті, швидкоп-  
линній печінковій недостатності, цирозі печінки,  
сепсисі, відторгненні трансплантованого органа,  
ревматоїдному артриті або некрозі клітини серця  
внаслідок ішемічних захворювань серця.

6. Фармацевтична композиція для лікування запалення або запобігання апоптозу, яка **відрізняється** тим, що містить сполуку формули (1) відповідно до п. 1 і фармацевтично прийнятні носії.

7. Фармацевтична композиція за п. 6, яка **відрізняється** тим, що композицію застосовують при деменції, мозковому інсульті, пошкодженні мозку внаслідок СНІДу, діабеті, виразці шлунка, пошкодженні мозку вірусом гепатиту, спричинених вірусом гепатиту печінкових захворюваннях, гострому гепатиті, швидкоплинній печінковій недостатності, цирозі печінки, сепсисі, відторгненні трансплантованого органа, ревматоїдному артриті або некрозі

(13) C2

(11) 94395

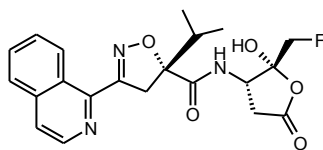
(19) UA

клітини серця внаслідок ішемічних захворювань серця.

8. Спосіб лікування запалення або запобігання апоптозу у суб'єкта, який **відрізняється** тим, що здійснюють введення суб'єкту терапевтично ефектної кількості сполуки формули (1) за п. 1.

9. Спосіб за п. 8, який **відрізняється** тим, що спосіб застосовують при деменції, мозковому інсульті, пошкодженні мозку внаслідок СНІДу, діабеті, виразці шлунка, пошкодженні мозку вірусом гепатиту, спричинених вірусом гепатиту печінкових захворюваннях, гострому гепатиті, швидкоплинній печінковій недостатності, цирозі печінки, сепсисі, відторгненні трансплантованого органа, ревматоїдному артриті або некрозі клітини серця внаслідок ішемічних захворювань серця.

10. Сполука за формулою



11. Сполука за п. 10, яка призначена для застосування у виробництві лікарського засобу для лікування запалення або запобігання апоптозу.

12. Сполука за п. 11, яка **відрізняється** тим, що лікарський засіб застосовують при деменції, мозковому інсульті, пошкодженні мозку внаслідок СНІДу, діабеті, виразці шлунка, пошкодженні мозку вірусом гепатиту, спричинених вірусом гепатиту

печінкових захворюваннях, гострому гепатиті, швидкоплинній печінковій недостатності, цирозі печінки, сепсисі, відторгненні трансплантованого органа, ревматоїдному артриті або некрозі клітини серця внаслідок ішемічних захворювань серця.

13. Сполука за п. 11, яка **відрізняється** тим, що лікарський засіб застосовують при пошкодженні мозку вірусом гепатиту, спричинених вірусом гепатиту печінкових захворюваннях, гострому гепатиті, швидкоплинній печінковій недостатності, цирозі печінки.

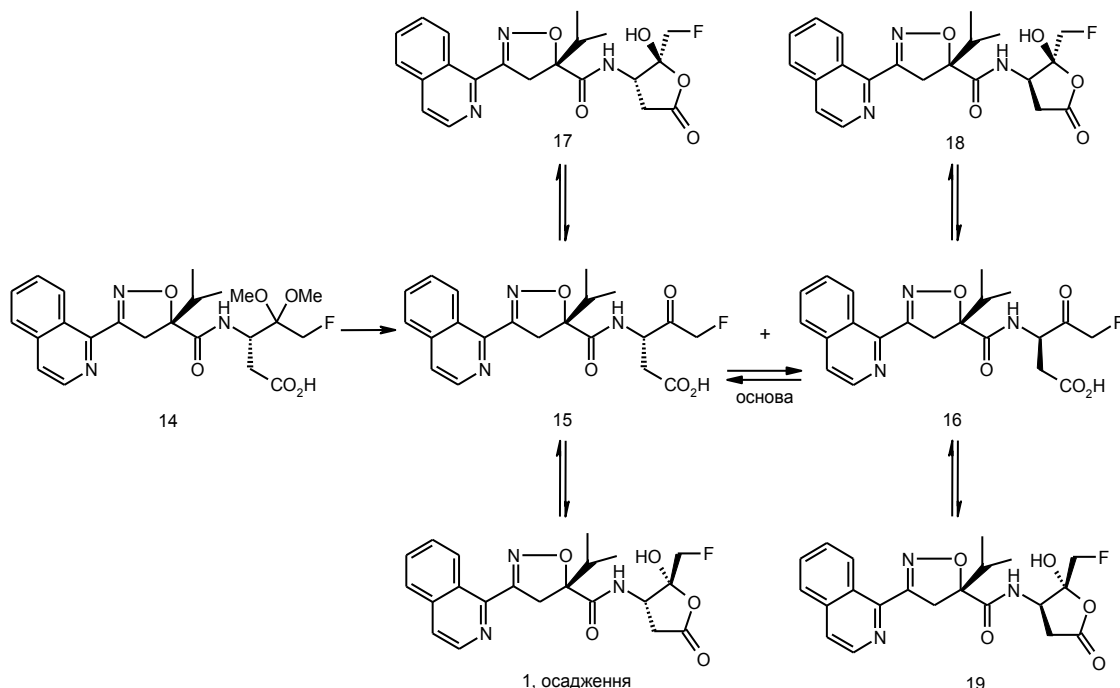
14. Фармацевтична композиція, яка містить сполуку за п. 10 та один або більше фармацевтично прийнятних носіїв.

15. Спосіб одержання сполуки за п. 10, при якому здійснюють наступні етапи:

а) зняття захисту зі сполук формули (14) з отриманням суміші сполук формули (15) і формули (16); і

б) обробка суміші сполук формули (15) і формули (16) каталітичною кількістю основи разом із затраткою сполуки формули (1) з перетворенням як сполуки формули (15), так і сполуки формули (16) у сполуки формули (1),

де сполука формули (15) знаходиться в рівновазі із сполуками формули (16), формули (17) та формули (1), і сполука формули (16) знаходиться в рівновазі із сполуками формули (18) та формули (19),



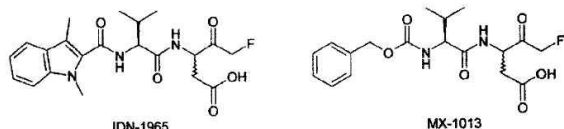
### Опис винаходу

Даний винахід стосується похідного ізоксазоліну, що містить фрагмент циклічного гемікеталю карбонової кислоти для застосування як інгібітора каспази, способу його одержання, фармацевтичної композиції, що його містить, та їх застосування.

### Рівень техніки

Інгібітор каспази означає сполуку, яка може інгібувати активність каспази, таким чином контролюючи запалення або апоптоз, спричинений дією каспази. Відомо, що серед інгібіторів каспази необоротний інгібітор демонструє більш високу ефективність інгібування, оскільки він необоротно інактивує фермент для керування апоптозом (Wu J. et al., *Methods: A Companion to Methods in Enzymology* 1999, 17, 320). Наступні сполуки відомі як необоротні інгібітори і містять спільний фрагмент 3-аміно-5-фтор-4-оксопентанової кислоти.

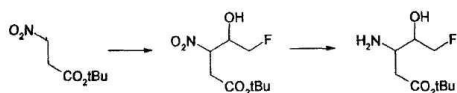
Захворювання, які можна лікувати або полегшувати введенням згаданих вище сполук,



являють собою ревматоїдний артрит, запальне захворювання кишечника, захворювання "трансплантат проти хазяїна", сепсис, остеоартрит, остеопороз, гостру і хронічну мієлогенну лейкемію, менінгіт, сальпінгіт, септичний шок, холангіт, коліт, енцефаліт, ендокардит, гломерулонефрит, гепатит, міокардит, панкреатит, цукровий діабет I типу, розсіяний склероз, хворобу Альцгеймера, хворобу Паркінсона, цироз печінки, і т. п.

З іншого боку, для фрагменту 3-аміно-5-фтор-4-оксопентанової кислоти інгібітора каспази, такий спосіб одержання, як показано на наступній схемі реакції 1 (Revesz et al., *Tetrahedron Lett*, 1994, 35, 9693), відомий з рівня техніки:

Схема реакції 1



### Короткий опис винаходу

Винахідники продовжили дослідження сполуки, яка може використовуватися як ефективний інгібітор каспази, і способу її одержання. В результаті, ними було виявлено, що похідне ізоксазоліну, яке містить фрагмент циклічного гемікеталю карбонової кислоти за даним винаходом, володіє високою активністю з інгібування каспази і може бути одержане з високою чистотою з використанням індукованого кристалізацією динамічного перетворення, для здійснення даного винаходу. Таким чином, одним об'єктом даного винаходу є сполука наступної формули (1) із структурою ізоксазоліну

та фрагментами гемікеталю циклічної карбонової кислоти, а також новий спосіб її ефективного одержання. Іншим об'єктом даного винаходу є аміне похідне наступної формули (4) - проміжна сполука для одержання сполуки наступної формули (1), а також спосіб її одержання. Іншим об'єктом даного винаходу є фармацевтична композиція для лікування запалення або запобігання апоптозу, яка містить сполуку наступної формули (1) і фармацевтично прийнятні носії. Іншим об'єктом даного винаходу є спосіб лікування запалення або запобігання апоптозу у суб'єкта, який включає введення терапевтично ефективною кількістю сполуки наступної формули (1) суб'єкту.

Іншим об'єктом даного винаходу є застосування сполуки наступної формули (1) для виготовлення лікарського засобу для лікування запалення або запобігання апоптозу.

Іншим об'єктом даного винаходу є кристалічна форма сполуки наступної формули (1), що має високу стабільність.

### Короткий опис фігур

Фіг. 1 представляє спектр рентгеноструктурного аналізу кристалічної форми сполуки формули (1) ( $R^1$  = ізохінолініл,  $R^2$  = ізопропіл) у відповідності до даного винаходу.

Фіг. 2 представляє графік, де показані результати дослідження стабільності кристалічної форми та аморфної форми сполуки формули (1) ( $R^1$  = ізохінолініл,  $R^2$  = ізопропіл) у відповідності до даного винаходу.

### Розкриття винаходу

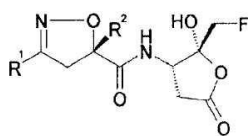
Деякі важливі терміни, використані в даному винаході, можуть бути визначені наступним чином.

У формулах і схемах реакції, використаних в даному винаході, алкіл означає лінійну або розгалужену алکیلну групу, що складається з 1-8 атомів вуглецю, або циклоалکیلну групу, що складається з 3-10 атомів вуглецю.

Крім того, "арил" включає всі ароматичні групи, гетероароматичні групи, а також їх частково відновлені похідні. Вказана ароматична група позначає 5-15-членні ненасичені вуглеводи в простій або конденсованій циклічній формі, і вказана гетероароматична група означає ароматичні групи, що містять 1-5 гетероатомів, вибраних з групи, що складається з кисню, сірки та азоту.

Додатково, один або більше атомів водню вказаного алкілу і вказаного арилу можуть бути заміщені іншим замісником. Приклади замісників, що можуть вибиратися, включають ацил, аміно, карбоалкокси, карбокси, карбоксиаміно, ціано, галоген, гідрокси, нітро, тіол, алкіл, циклоалкіл, алкокси, арилокси, сульфокси, гуанідо, і т. п.

Даний винахід стосується похідного ізоксазоліну, що містить фрагмент гемікеталю циклічної карбонової кислоти наступної формули (1) для застосування як інгібітора каспази:



- (1)  
де  $R^1$  являє собою алкіл або арил, і  
 $R^2$  являє собою алкіл.  
Переважно,

$R^1$  являє собою ізохінолініл, хінолініл або нафтил, і

$R^2$  являє собою метил, етил, пропіл або бутіл.  
Більш переважно,  $R^1$  являє собою ізохінолініл, і  $R^2$  являє собою ізопропіл.

Сполука формули (1) де  $R^1$  являє собою ізохінолініл і  $R^2$  являє собою ізопропіл може існувати в кристалічній формі, яка демонструє наступний патерн рентгеноструктурного аналізу.

D(X)	Відносна інтенсивність (I/I <sub>0</sub> )	Кут 2 $\Theta$
9,665	0,555	9,15
7,284	0,397	12,15
5,825	0,260	15,21
5,563	0,228	15,93
5,372	0,302	16,5
4,840	1,000	18,33
4,695	0,477	18,9
4,341	0,454	20,46
3,663	0,230	24,3
3,414	0,219	26,1

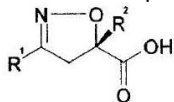
Даний винахід також стосується способу одержання сполуки формули (1), який включає:

(а) активацію сполуки наступної формули (2), наступну реакцію її із сполукою наступної формули (4) з утворенням сполуки наступної формули (13);

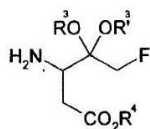
(b) гідроліз сполуки наступної формули (13) з утворенням сполуки наступної формули (14);

(c) зняття захисту із сполуки наступної формули (14); і

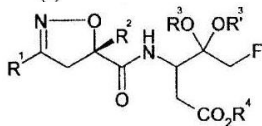
(d) здійснення індукованого кристалізацією динамічного перетворення;



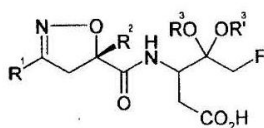
(2)



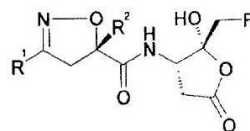
(4)



(13)



(14)



(1)

де  
 $R^1$  являє собою алкіл або арил,

$R^2$  являє собою алкіл,

кожен з  $R^3$  і  $R^{3'}$  являє собою алкіл,

або  $R^3$  і  $R^{3'}$  разом з атомом кисню, до якого вони приєднані, утворюють гетероцикл, і

$R^4$  являє собою алкіл.

Переважно,

$R^1$  являє собою ізохінолініл, хінолініл або нафтил,

$R^2$  являє собою метил, етил, пропіл або бутіл,

кожен з  $R^3$  і  $R^{3'}$  являє собою метил, етил або пропіл,

або  $R^3$  і  $R^{3'}$  разом з атомом кисню, до якого вони приєднані, утворюють діоксолан або діоксан, і

$R^4$  являє собою метил, етил, пропіл або бутіл.

Кожна стадія згаданого вище способу одержання сполуки формули (1) може бути описана більш детально наступним чином.

Як реактив для активації сполуки формули (2) на згаданій вище стадії (а) переважно використовують сполуку, вибрану з групи, що складається з оксалілхлориду, триметилацетилхлориду, фосфорилтрихлориду і тіонілхлориду.

Також, реакцію на стадії (а) переважно здійснюють в присутності основи, вибраної з групи, що складається з триетиламіну, три(н-бутил)аміну, діізопропілетиламіну, піридину, 4-диметиламінопіридину і 4-(4-метил-піперидин-1-іл)-піридину, і, переважно, основа використовується в кількості 1,0-10,0 еквівалентів по відношенню до сполуки формули (2).

Крім того, реакцію на стадії (а) переважно здійснюють в одному або більше розчинниках,

вибраних з групи, що складається з дихлорметану, хлороформу, тетрагідрофурану, диметоксиетану, діоксану та етилацетату.

З іншого боку, сполука формули (4) на стадії (а) переважно використовується в кількості 1,0-3,0 еквівалентів по відношенню до сполуки формули (2).

Гідроліз на стадії (b) переважно здійснюють в присутності основи, вибраної з групи, що складається з гідроксиду літію (переважно, безводного або кристалічного моногідрату), гідроксиду натрію, гідроксиду калію та гідроксиду кальцію, а також основу переважно використовують в кількості 0,1-10,0 еквівалентів по відношенню до сполуки формули (13).

Крім того, реакцію на стадії (b) переважно здійснюють в одному або більше розчинників, вибраних з групи, що складається з метанолу, етанолу, н-пропанолу, ізопропанолу, тетрагідрофурану, диметоксиетану, діоксану і дихлорметану, або в змішаному розчиннику або розчиннику, вибраному із згаданої вище групи і води.

Переважаю, реакцію зняття захисту на стадії (c) здійснюють в присутності кислоти, вибраної з групи, що складається з хлористоводневої кислоти, сірчаної кислоти і трифтороцтової кислоти, і переважно, використовують кислоту в кількості 0,1-20,0 еквівалентів по відношенню до сполуки формули (14).

Також, реакцію зняття захисту на стадії (c) переважно здійснюють в присутності або за відсутності розчинника, вибраного з дихлорметану або хлороформу.

Індукована кристалізацією реакція динамічного перетворення на стадії (d) може бути здійснена шляхом додавання сполуки формули (1) як затравки або може бути здійснена в присутності затравки і каталітичної кількості основи, де основа переважно являє собою амін, вибраний з групи, що складається з триетиламіну, три(н-бутил)аміну, діізопропіламіну, піридину, 4-

диметиламінопіридину, 4-(4-метил-піперидин-1-іл)-піридину, оптично активного 1-фенілетиламіну та оптично активного 1-нафтилетиламіну.

Переважаю, на стадії (d) використовують вказаний амін в кількості 0,001-1,0 еквівалентів по відношенню до сполуки формули (14), і більш переважно використовувати 0,03-0,5 еквівалентів. Якщо кількість використаного аміну занадто маленька, швидкість реакції уповільнюється, а якщо кількість дуже велика, вихід сполуки формули (1) зменшується.

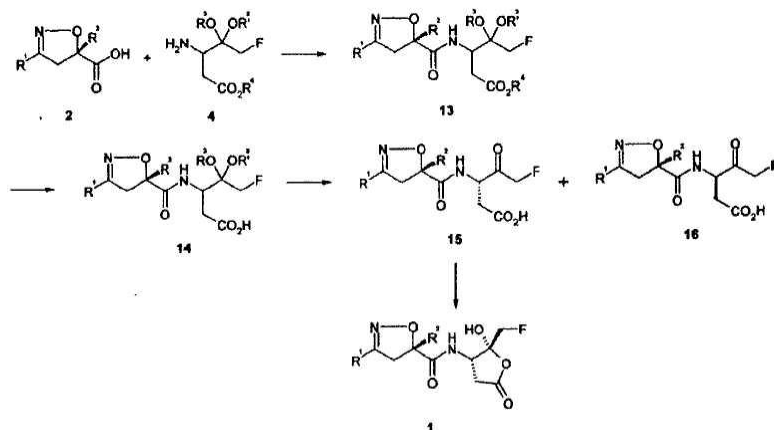
Крім того, індуковану кристалізацією динамічну реакцію перетворення на стадії (d) переважно здійснюють в одному або більше розчинників, вибраних з групи, що складається з толуолу, бензолу, дихлорбензолу, тетрагідрофурану, диметоксиетану, діоксану, етилацетату, дихлорметану, ацетонітрилу, метил-трет-бутилового ефіру та діетилового ефіру.

Спосіб одержання сполуки формули (1) у відповідності до даного винаходу нижче пояснюється більш детально з посиланням на Схему реакції 2.

Похідне ізоксазоліну формули (2), що має високу оптичну активність, одержують у відповідності до способу, розкритого в РСТ/KR2004/002060, поданий 17 серпня 2004 р. заявником даного винаходу, з наступним сполученням із сполукою формули (4) з утворенням сполуки формули (13). Далі естерну групу сполуки формули (13) піддають гідролізу з утворенням сполуки формули (14) і здійснюють реакцію зняття захисту з кетального фрагмента сполуки формули (14) з одержанням суміші сполук формули (15) і формули (16), яку ефективно перетворюють на сполуку формули (1) шляхом вибіркової динамічної кристалізації.

Зокрема, якщо суміш сполук формули (15) і формули (16) розчинена в органічному розчиннику, і до розчину додають затравку сполуки формули (1), тільки сполука формули (15) в суміші перетворюється на сполуку формули (1), яку виділяють у вигляді твердої речовини.

Схема реакції 2

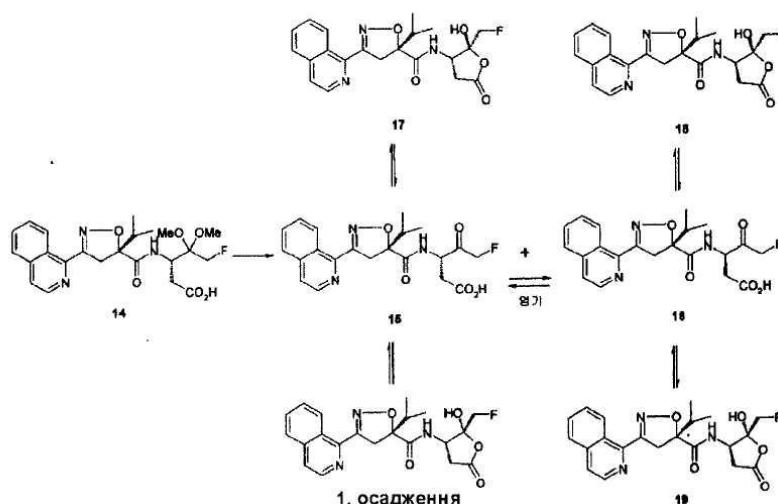


де  
 $R^1$  являє собою алкіл або арил,  
 $R^2$  являє собою алкіл,  
кожен з  $R^3$  і  $R^3$  являє собою алкіл, або  
 $R^3$  і  $R^3$  разом з атомом кисню, до якого вони  
приєднані, утворюють гетероцикл, і,  
 $R^4$  являє собою алкіл.

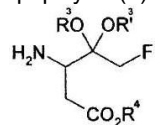
Також, якщо суміш сполук формули (15) і формули (16) обробляють каталітичною кількістю основи разом із затравкою, обидві сполуки - формули (15) та формули (16) - перетворюються на сполуку формули (1) з утворенням сполуки формули (1) з більш високим виходом (Схема реакції 3)

### Схема реакції 3

Даний винахід також стосується сполуки наступної формули (4), тобто проміжної



сполуки, використаної для одержання сполуки формули (1):



(4)

де  
кожен з  $R^3$  і  $R^3$  являє собою алкіл, або  
 $R^3$  і  $R^3$  разом з атомом кисню, до якого вони  
приєднані, утворюють гетероцикл, і,  
 $R^4$  являє собою алкіл.

Переважно,  
кожен з  $R^3$  і  $R^3$  являє собою метил, етил або пропіл, або  
 $R^3$  і  $R^3$  разом з атомом кисню, до якого вони  
приєднані, утворюють діоксолан або діоксан, і  
 $R^4$  являє собою метил, етил, пропіл або бутіл.

Даний винахід також стосується способу одержання сполуки формули (4), який включає:

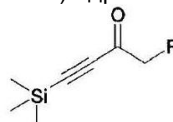
(а) захист і зняття захисту із сполуки наступної формули (9) з утворенням сполуки наступної формули (10);

3). Сполука формули (15) знаходиться в рівновазі із сполукою формули (16) внаслідок присутності основи в розчині. Також сполука формули (15) знаходиться в рівновазі із сполуками формули (17) і формули (1), а сполука формули (16) знаходиться в рівновазі із сполуками формули (18) і формули (19). Серед них, сполука формули (1), що володіє добрими кристалізаційними властивостями, вибірково осаджується таким чином, що рівновага всіх сполук зміщується на сполуку формули (1), що дає можливість вибіркового одержання з суміші сполук формули (15) і формули (16) тільки сполуки формули (1) з високим виходом.

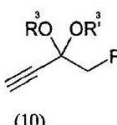
(b) здійснення реакції сполучення вуглець-вуглець для сполуки формули (10) з утворенням сполуки наступної формули (11);

(c) реакцію сполуки формули (11) з бензиламином та наступне відновлення з утворенням сполуки наступної формули (12); і

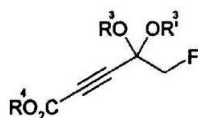
d) гідрогенізацію сполуки формули (12);



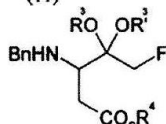
(9)



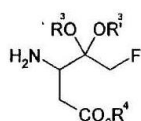
(10)



(11)



(12)



(4)

де  
кожен з  $R^3$  і  $R^{3'}$  являє собою алкіл, або  
 $R^3$  і  $R^{3'}$  разом з атомом кисню, до якого вони  
приєднані, утворюють гетероцикл, і  
 $R^4$  являє собою алкіл.

Переважно,  
кожен з  $R^3$  і  $R^{3'}$  являє собою метил, етил або  
пропіл, або

$R^3$  і  $R^{3'}$  разом з атомом кисню, до якого вони  
приєднані, утворюють діоксолан або діоксан, і  
 $R^4$  являє собою метил, етил, пропіл або бутіл.

Далі наведений вище спосіб одержання сполуки  
формули (4) буде описаний більш конкретно.

На стадії (а) сполуку формули (9) переважно  
захистають з використанням триметилортоформіату  
або триетилортоформіату, і реакцію зняття за-  
хисту здійснюють в присутності основи, вибраної з  
гідроксиду натрію, гідроксиду калію, карбонату  
натрію і гідрокарбонату натрію. Крім того, основу в  
згаданій вище реакції зняття захисту переважно  
використовують в кількості 1,0-2,0 еквівалентів по  
відношенню до сполуки формули (9).

Також, реакцію захисту на стадії (а) переважно  
здійснюють в розчиннику метанолі або етанолі, і  
реакцію зняття захисту здійснюють в одному або  
більше розчинників, вибраних з групи, що скла-  
дається з метанолу, етанолу, дихлорметану, хлоро-  
форму і води.

Також, реакцію на стадії (b) переважно здійс-  
нюють, з використанням етилхлорформіату або  
метилхлорформіату в присутності основи, вибрана-  
ної з н-бутиллітію, літію діізопропіламіну або літію  
гексаметилдисилазиду, і основу використовують в  
кількості 0,5- 3,0 еквівалентів по відношенню до  
сполуки формули (10), і вказаний етилхлорформі-  
ат або метилхлорформіат використовують в кіль-  
кості 0,5-3,0 еквівалентів по відношенню до сполу-  
ки формули (10).

Також, реакцію на стадії (b) переважно здійс-  
нюють в розчиннику, вибраному з групи, що скла-  
дається з тетрагідрофурану, етилового ефіру та  
метил-трет-бутилового ефіру.

Переважно, реакцію відновлення на стадії (с)  
здійснюють з використанням оцтової кислоти і бо-  
ргідриду натрію, причому вказаний боргідрид на-

трію використовують в кількості 1,0-5,0 еквівален-  
тів по відношенню до сполуки формули (11), і вка-  
зану оцтову кислоту використовують в кількості  
1,0-20,0 еквівалентів по відношенню до сполуки  
формули (11).

Крім того, вказаний бензиламін на стадії (с)  
переважно використовують в кількості 1,0-10,0  
еквівалентів по відношенню до сполуки формули  
(11).

Додатково, реакцію на стадії (с) переважно  
здійснюють в присутності або за відсутності роз-  
чинника, вибраного з етилацетату, тетрагідрофу-  
рану, етилового ефіру і метил-трет-бутилового  
ефіру, і така реакція за бажанням може бути здій-  
снена як однореакторна реакція.

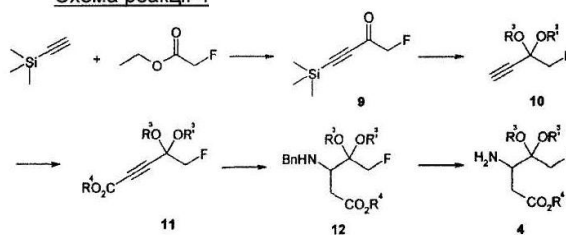
Реакцію на стадії (d) переважно здійснюють в  
присутності металевого каталізатора, більш пере-  
важно каталізатора з сімейства паладію або ката-  
лізатора з сімейства нікелю Ренея. Конкретно,  
каталізатор з сімейства паладію, що містить 1-20  
% (мас.) паладію (Pd) або каталізатор з сімейства  
нікелю Ренея, що містить 1 % (мас.) або більше  
нікелю Ренея, нанесений на носій, вибраний з гру-  
пи, що складається з вуглецю, кремнію діоксиду та  
оксиду алюмінію, і він може використовуватися в  
кількості 0,01-10 % (мас.) на базі металевого ком-  
поненту по відношенню до сполуки формули (12).

Також, реакцію на стадії (d) переважно здій-  
снюють в одному або більше розчинників, вибраних  
з групи, що складається з метанолу, етанолу, н-  
пропанолу, ізопропанолу, тетрагідрофурану, ди-  
метоксисетану, діоксану, етилацетату і дихлорме-  
тану.

Крім того, реакцію гідрогенізації на стадії (d)  
переважно здійснюють при температурі від 0 до 50  
°C при тиску водню 1-100 атмосфер.

Винахідниками розроблено новий спосіб одер-  
жання сполуки формули (4), тобто проміжної  
сполуки для одержання сполуки формули (1), з  
більш високим виходом, як проілюстровано на  
наступній схемі реакції 4.

#### Схема реакції 4



ДЄ

кожен з  $R^3$  і  $R^{3'}$  являє собою алкіл, або  
 $R^3$  і  $R^{3'}$  разом з атомом кисню, до якого вони  
приєднані, утворюють гетероцикл, і  
 $R^4$  являє собою алкіл.

Даний винахід також стосується фармацевти-  
чної композиції для лікування запалення або запобі-  
гання апоптозу, яка містить сполуку визначеної  
вище формули (1) і фармацевтично прийнятні но-  
сії, конкретно, фармацевтичної композиції для  
лікування деменції, мозкового інсульту, пошко-  
дження мозку внаслідок СНІДу, діабету, виразки  
шлунку, ураження мозку вірусом гепатиту, спричи-  
нених вірусом гепатиту печінкових захворювань,  
гострого гепатиту, швидкоплинної печінкової недо-

статності, цирозу печінки, сепсису, відторгнення трансплантованого органу, ревматоїдного артриту або некрозу клітин серця внаслідок ішемічних захворювань серця.

Даний винахід також стосується способу лікування запалення або запобігання апоптозу у суб'єкта, який включає введення терапевтично ефективної кількості сполуки визначеної вище формули (1) суб'єкту, конкретно, способу лікування деменції, мозкового інсульту, пошкодження мозку внаслідок СНІДу, діабету, виразки шлунку, ураження мозку вірусом гепатиту, спричинених вірусом гепатиту печінкових захворювань, гострого гепатиту, швидкоплинної печінкової недостатності, цирозу печінки, сепсису, відторгнення трансплантованого органу, ревматоїдного артриту або некрозу клітин серця внаслідок ішемічних захворювань серця.

Даний винахід також стосується застосування сполуки визначеної вище формули (1) для виробництва лікарського засобу для лікування запалення або запобігання апоптозу, особливо лікарського засобу для лікування деменції, мозкового інсульту, пошкодження мозку внаслідок СНІДу, діабету, виразки шлунку, ураження мозку вірусом гепатиту, спричинених вірусом гепатиту печінкових захворювань, гострого гепатиту, швидкоплинної печінкової недостатності, цирозу печінки, сепсису, відторгнення трансплантованого органу, ревматоїдного артриту, або некрозу клітин серця внаслідок ішемічних захворювань серця.

Сполука формули (1) у відповідності до даного винаходу може бути введена в різноманітні лікарські форми з метою введення суб'єкту. Для виготовлення фармацевтичної композиції у відповідності до даного винаходу ефективну кількість сполуки формули (1) змішують з фармацевтично прийнятним носієм, який може бути вибраний з численних форм, в залежності від препарату, який виготовляють.

Сполука формули (1) може бути введена в ін'єкційну лікарську форму для парентерального введення або для трансдермального або перорального введення в залежності від передбаченого застосування. Особливо переважним є виготовлення композиції у вигляді дозованої лікарської форми для легкого введення і однорідності дозування.

У випадку препарату для перорального застосування може бути використаний будь-який звичайний фармацевтичний носій. Наприклад, вода, гліколі, масла, спирти і т. п. можуть бути застосовані для виготовлення рідких препаратів для перорального введення, таких як суспензії, сиропи, еліксири та розчини; або різні види крохмалю, цукрів, каолін, змащувачі, зв'язувальні агенти, дезинтегранти і т. п. можуть бути використані для твердих препаратів, таких як порошки, пігулки, капсули і таблетки. В наслідок легкості введення, таблетки і капсули являють собою найбільш переважні лікарські форми. Для таблеток і пігулок також бажано мати кишково-розчинне покриття.

У випадку препарату для парентерального введення як носій звичайно використовують стерильну воду, однак можуть бути використані інші

інгредієнти, такі як сольобілізуювальні засоби. Лікарські форми для ін'єкцій, наприклад, стерильна водна або масляна суспензія для ін'єкцій, можуть бути виготовлені у відповідності до відомої методики з використанням придатного диспергувального агента, зволожувача або суспендувального агента. Розчинники, які можуть бути використані у виготовленні лікарських форм для ін'єкцій, включають воду, розчин Рінгера та ізотонічний розчин NaCl; стерильне нелетке масло також може бути придатним чином використане як розчинник або середовище для суспендування. Будь-яке нелетке масло, що не володіє стимулювальною активністю, в тому числі моно- і дигліцериди, може бути використане для даної мети. Для ін'єкцій також може бути використана жирна кислота, така як олеїнова кислота.

У випадку препарату для трансдермального введення, носій може містити агент для збільшення проникнення та/або відповідний зволожувач, необов'язково в поєднанні з відповідними добавками, які не спричиняють істотного подразнення шкіри. Вказані добавки можуть полегшувати введення крізь шкіру та/або можуть сприяти дії препарату бажаного складу. Такі трансдермальні лікарські форми вводять в різних формах, наприклад, трансдермального пластиру, точкового нанесення або мазі.

Якщо сполуку формули (1) застосовують для клінічної мети, переважно її вводять суб'єкту-пацієнту в кількості, що варіює від 0,1 до 100 мг/кг маси тіла організму на добу. Загальна добова доза може бути введена за один раз або розділена на декілька прийомів. Однак, конкретна доза для введення індивідуальному пацієнту може варіювати в залежності від сполуки, яку застосовують, маси тіла, статі, стану здоров'я або харчування суб'єкта-пацієнта, часу або способу введення, швидкості екскреції, співвідношення змішування для агента, тяжкості захворювання, яке підлягає лікуванню, і т. п.

Нижче даний винахід буде описаний більш детально з посиланням на наступні Приклади, але контекст даного винаходу не повинен бути обмежений таким чином в будь-якій формі.

Препаративний приклад 1

1-Фтор-4-триметилсиланіл-3-бутин-2-он (9)

49,1 г (499 ммоль) триметилсилілацетилену розчиняють в 250 мл безводного тетрагідрофурану та внутрішню температуру знижують приблизно до -55 °C, після чого додають 210 мл (525 ммоль) 2,5 М n-BuLi в n-гексані протягом приблизно 25 хв, підтримуючи внутрішню температуру нижче -30 °C. Після перемішування протягом приблизно 40 хв до реакційної суміші додають 52,9 г (499 ммоль) етилфторацетату протягом 5 хв, підтримуючи внутрішню температуру нижче -25 °C, і потім додають 74,4 г (524 ммоль) BF<sub>3</sub>-OEt<sub>2</sub> протягом 15 хв, підтримуючи внутрішню температуру в інтервалі від -55 °C до -65 °C. Після закінчення додавання реакційну суміш перемішують при 20 °C, витримуючи при цій температурі протягом 2 год, та додають 250 мл 10 % водного розчину амонію хлориду для закінчення реакції. Органічну фракцію відокремлюють, і водну фракцію екстрагують 200 мл етилацетату.

Об'єднані органічні фракції промивають 250 мл розсілу та упарюють при зниженому тиску. Залишок дистиллюють під вакуумом при тиску 10 мбар і температурі 68 °С з одержанням сполуки формули (9) (67,3 г, 85 %) у вигляді прозорого масла

$^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 4,90 (д, J = 47,1 Гц, 2H), 0,26 (с, 9H).

$^{13}\text{C}$  ЯМР (125 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 181,0 (д, J = 21,5 Гц), 104,0, 98,1, 84,8 (д, J = 187 Гц).

Препаративний приклад 2 4-Фтор-3,3-диметокси-1-бутин (10,  $\text{R}^3$ ,  $\text{R}^3$  = метил)

33,6 г (316 ммоль) триметилортоформіату та 6,0 г (31,5 ммоль) n-TsOH-H<sub>2</sub>O разом з 50,0 г (316 ммоль) сполуки формули (9), одержаної в Препаративному прикладі 1, вміщують у 260 мл метанолу та перемішують при температурі кипіння із зворотним холодильником (внутрішня температура 60-64 °С) протягом приблизно 6 год. Реакційну суміш упарюють при зниженому тиску для видалення приблизно 130 мл розчинника та розбавляють 260 мл метиленхлориду. Додають 130 мл 10 % водного розчину натрію гідрокарбонату і фракції розділяють та водну фракцію екстрагують 130 мл метиленхлориду. Об'єднані органічні фракції упарюють при зниженому тиску з одержанням 4-фтор-3,3-диметокси-1-триметилсилілбутину (59,0 г, 92 %) як проміжної сполуки, прекурсора цільової сполуки (10). Цю сполуку використовують в наступній реакції без додаткового очищення.

$^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 4,38 (д, J = 47,1 Гц, 2H), 3,40 (с, 6H), 0,20 (с, 9H).

4-Фтор-3,3-диметокси-1-триметилсилілбутин 59,0 г (289 ммоль), прекурсор цільової сполуки (10), одержаний вище, розчиняють в 280 мл метиленхлориду, обробляють 59 мг (0,183 ммоль) тетра-н-бутиламонію броміду і 347 мл (347 ммоль) 1 н водного розчину натрію гідроксиду та перемішують протягом приблизно 2 год. Органічну фракцію відокремлюють і водну фракцію екстрагують 110 мл метиленхлориду. Об'єднані органічні фракції промивають 110 мл розсілу та упарюють при зниженому тиску з одержанням цільової сполуки (10,  $\text{R}^3$ ,  $\text{R}^3$  = метил; 40,9 г, кількісний вихід). Одержану сполуку застосовують в наступній реакції без додаткового очищення.

$^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 4,42 (д, J = 47,1 Гц, 2H), 3,42 (с, 6H), 2,64 (с, 1H)

$^{13}\text{C}$  ЯМР (125 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 96,1 (д, J = 20,3 Гц), 82,9 (д, J = 180 Гц), 77,5, 75,5, 51,0

Препаративний приклад 3

Етил 5-фтор-4,4-диметокси-2-пентиноат (11,  $\text{R}^3$ ,  $\text{R}^3$  = метил,  $\text{R}^4$  = етил)

Розчин 40,9 г (405 ммоль) діізопропіламіну в 270 мл тетрагідрофурану охолоджують до 0 °С та додають 112 г (405 ммоль) 2,5 М n-BuLi в н-гексані протягом приблизно 1 год, підтримуючи внутрішню температуру нижче 14 °С. Реакційну суміш перемішують при 0 °С, витримуючи при цій температурі протягом приблизно 30 хв, та температуру доводять до -78 °С. Розчин 41,0 г (311 ммоль) сполуки, одержаної в Препаративному прикладі 2 вище (10,  $\text{R}^3$ ,  $\text{R}^3$  = метил) в 160 мл тетрагідрофурану додають до реакційної суміші протягом приблизно 2 год, підтримуючи внутрішню температуру нижче -40 °С, після чого додають 60,4 г (557 ммоль) етил-

хлорформіату протягом приблизно 1 год, підтримуючи внутрішню температуру нижче -40 °С. Реакційну суміш додатково перемішують при 0 °С, витримуючи при цій температурі протягом приблизно 2 год. До реакційної суміші додають 250 мл 10 % водного розчину амонію хлориду для закінчення реакції, та органічну фракцію відокремлюють. Водну фракцію екстрагують 100 мл етилацетату та об'єднані органічні фракції промивають 100 мл розсілу та упарюють при зниженому тиску з одержанням сирової цільової сполуки (11,  $\text{R}^3$ ,  $\text{R}^3$  = метил,  $\text{R}^4$  = етил; 95,0 г, обчислений вихід 70 %). Одержану сполуку застосовують в наступній реакції без додаткового очищення

$^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 4,45 (д, J = 46,5 Гц, 2H), 4,25 (к, J = 7,1 Гц, 2H), 3,43 (с, 6H), 1,31 (т, J = 7,3 Гц, 3H)

Препаративний приклад 4

Етил 3-(бензиламіно)-5-фтор-4,4-диметоксипентаноат (12,  $\text{R}^3$ ,  $\text{R}^3$  = метил,  $\text{R}^4$  = етил)

88 г (431 ммоль) сирової сполуки, одержаної в Препаративному прикладі 3 вище (11,  $\text{R}^3$ ,  $\text{R}^3$  = метил,  $\text{R}^4$  = етил), розчиняють в 430 мл метил-трет-бутилового ефіру (MTBE) і температуру доводять до 0 °С. До реакційної суміші додають 31,4 г (293 ммоль) бензиламіну, перемішують при температурі 20 °С, витримуючи при цій температурі протягом приблизно 1 год, і розбавляють 450 мл метил-трет-бутилового ефіру. Температуру реакційної суміші знову доводять до 0 °С, до реакційної суміші додають 33 г (873 ммоль)  $\text{NaBH}_4$ , після чого додають 259 г (4320 ммоль) оцтової кислоти протягом приблизно 30 хв. Реакційну суміш витримують при 0 °С та повільно додають 880 мл (2640 ммоль) 3 н водного розчину натрію гідроксиду повільно додають протягом приблизно 2 год. Органічну фракцію відокремлюють та відокремлену органічну фракцію промивають 880 мл 10 % водного розчину амонію хлориду, після чого додають 880 мл 1 н водної хлористоводневої кислоти. Водну фракцію відокремлюють, промивають 400 мл метил-трет-бутилового ефіру, підлужують за допомогою 246 мл 10 н водного розчину натрію гідроксиду, та екстрагують 2 x 700 мл метил-трет-бутилового ефіру. Об'єднані органічні фракції промивають 400 мл розсілу та упарюють при зниженому тиску з одержанням цільової сполуки [12,  $\text{R}^3$  і  $\text{R}^3$  = метил,  $\text{R}^4$  = етил; 60,0 г, 44 % та 65 % від кількості сполуки формули (10)]. Одержану сполуку застосовують в наступній реакції без додаткового очищення.

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 7,35-7,21 (м, 5H), 4,53 (2дд, J = 46,8, 10,4 Гц, 2H), 4,13 (к, J = 7,2 Гц, 2H), 3,80 (2д, J = 12,8 Гц, 2H), 3,53 (дд, J = 8,4, 4,0 Гц, 1H), 3,30 (с, 3H), 3,22 (с, 3H), 2,79 (дд, J = 15,6, 3,6 Гц, 1H), 2,40 (ддд, J = 15,6, 8,0, 1,6 Гц, 1H), 1,25 (т, J = 7,2 Гц, 3H).

Приклад 1

Етил 3-аміно-5-фтор-4,4-диметоксипентаноат (4,  $\text{R}^3$ ,  $\text{R}^3$  = метил,  $\text{R}^4$  = етил)

Сполуку, одержану в Препаративному прикладі 4 вище (12,  $\text{R}^3$ ,  $\text{R}^3$  = метил,  $\text{R}^4$  = етил) (18,3 г, 58,5 ммоль) розчиняють в 180 мл етанолу та здійснюють дебензилювання з використанням каталі-

затора 5 % паладію на активованому вугіллі (5 % Pd/C) при тиску водню 50 фунт/дюйм<sup>2</sup> протягом приблизно 4 год. Реакційну суміш фільтрують крізь 5,0 г броунмілериту, промивають 90 мл етанолу і фільтрат упарюють при зниженому тиску з одержанням цільової сполуки (4, 12,8 г, 98 %). Одержану сполуку застосовують на наступній стадії без додаткового очищення.

<sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, CDCl<sub>3</sub>): 4,53 (2дд, J = 46,5, 10,4 Гц, 2H), 4,14 (к, J = 7,3 Гц, 2H), 3,57 (дд, J = 11,0, 1,9 Гц, 1H), 3,29 (д, J = 11,7 Гц, 6H), 2,73 (дд, J = 16,5, 2,5 Гц, 1H), 2,36 (ддд, J = 16,5, 10,4, 2,5 Гц, 1H), 1,25 (т, J = 7,3 Гц, 3H).

Препаративний приклад 5

5-Фтор-3-[(P)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-ізоксазол-5-карбоніл)-аміно]-4,4-диметокси-пентанової кислоти етиловий естер (13, R<sup>1</sup> = 1-ізохінолініл, R<sup>2</sup> = ізопропіл, R<sup>3</sup>, R<sup>3</sup> = метил, R<sup>4</sup> = етил)

(5R)-5-Ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазолкарбонову кислоту (2, R<sup>1</sup> = 1-ізохінолініл, R<sup>2</sup> = ізопропіл) (15,5 г, 54,5 ммоль) розчиняють в 150 мл метиленхлориду, температуру доводять до 0 °С, після чого додають 7,1 мл (81,7 ммоль) оксалілхлориду та 0,2 мл (2,6 ммоль) ДМФА, підтримуючи внутрішню температуру нижче 12 °С. Реакційну суміш перемішують при 20 °С, витримуючи при цій температурі протягом приблизно 2 год, та упарюють при зниженому тиску. Реакційну суміш розчиняють в 150 мл метиленхлориду, температуру доводять до 0 °С, додають триетиламін та повільно додають розчин 12,8 г (57,4 ммоль) сполуки, одержаної в Прикладі 1 (4, R<sup>3</sup>, R<sup>3</sup> = метил, R<sup>4</sup> = етил), в 30 мл метиленхлориду протягом 20 хв. Реакційну суміш перемішують при 25 °С, витримуючи при цій температурі протягом 1,5 год і додають суміш 120 мл 10 % водного розчину натрію гідрокарбонату та 60 мл 1 н водного розчину натрію гідроксиду для завершення реакції. Органічну фракцію відокремлюють, і водну фракцію екстрагують 3 × 150 мл метиленхлориду. Об'єднані органічні фракції упарюють при зниженому тиску з одержанням цільової сполуки (13, R<sup>1</sup> = 1-ізохінолініл, R<sup>2</sup> = ізопропіл, R<sup>3</sup>, R<sup>3</sup> = метил, R<sup>4</sup> = етил; 30,1 г, кількісний вихід). Одержану сполуку застосовують на наступній стадії без додаткового очищення.

<sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, CDCl<sub>3</sub>): 9,12 (к, 1H), 8,53 (м, 1H), 7,85-7,25 (м, 4H), 4,80 (м, 1H), 4,54-4,34 (м, 2H), 4,14 (к, J = 7,4 Гц, 2H), 3,99 (2д, J = 18,4 Гц, 1H), 3,81 (м, 1H), 3,78 (2д, J = 8,6 Гц, 1H), 3,33 (д, 3H), 3,20 (д, 3H), 2,75 (м, 3H), 2,53 (м, 1H), 2,39 (гептет, J = 6,7 Гц, 1H), 1,27 (т, J = 7,4 Гц, 1,5H), 1,07 (м, 6H), 0,97 (т, J = 7,4 Гц, 1,5H).

Препаративний приклад 6

5-Фтор-3-[(R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-ізоксазол-5-карбоніл)-аміно]-4,4-диметокси-пентанова кислота (14, R<sup>1</sup> = 1-ізохінолініл, R<sup>2</sup> = ізопропіл, R<sup>3</sup>, R<sup>3</sup> = метил)

Сполуку, одержану в Препаративному прикладі 5 вище (13, R<sup>1</sup> = 1-ізохінолініл, R<sup>2</sup> = ізопропіл, R<sup>3</sup>, R<sup>3</sup> = метил, R<sup>4</sup> = етил) (30,1 г, 61,6 ммоль), разом з 7,76 г (185 ммоль) літію гідроксиду моногідрату розчиняють в розчиннику, що являє собою суміш 168 мл тетрагідрофурану та 42 мл води, і

перемішують при приблизно 40 °С, витримуючи при цій температурі протягом 4 год. Реакційну суміш упарюють при зниженому тиску для видалення тетрагідрофурану з розчинника, додають 180 мл 1 н водного розчину натрію гідроксиду і суміш промивають 2×120 мл толуолу. Водну фракцію підкислюють 66 мл 6 н водної хлористоводневої кислоти, екстрагують 3×150 мл метиленхлориду та об'єднані органічні фракції упарюють при зниженому тиску з одержанням цільової сполуки (14, R<sup>1</sup> = 1-ізохінолініл, R<sup>2</sup> = ізопропіл, R<sup>3</sup>, R<sup>3</sup> = метил; 25,4 г, 89 %). Одержану сполуку застосовують на наступній стадії без додаткового очищення.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): 9,10-8,92 (м, 1H), 8,52 (м, 1H), 7,86-7,13 (м, 4H), 4,77 (м, 1H), 4,54-4,34 (м, 2H), 3,95 (2д, J = 8,0 Гц, 1H), 3,75 (2д, J = 18,4 Гц, 1H), 3,35-3,16 (2д, 6H), 2,78 (2дд, J = 16,0, 4,4 Гц, 1H), 2,54 (м, 1H), 2,39 (м, 1H), 2,35 (с, 1H), 1,06 (м, 6H).

Приклад 2

(4S,5S)-5-Фторметил-5-гідрокси-4-({(5P)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл)аміно)-2-дигідрофуранон (1, R<sup>1</sup> = 1-ізохінолініл, R<sup>2</sup> = ізопропіл)

Сполуку, одержану в Препаративному прикладі 6 вище (14, R<sup>1</sup> = 1-ізохінолініл, R<sup>2</sup> = ізопропіл, R<sup>3</sup>, R<sup>3</sup> = метил) (17,0 г, 36,9 ммоль) та 6,6 мл (110 ммоль) оцтової кислоти розчиняють в 123 мл (738 ммоль) 6 н водної кислоти хлористоводневої та перемішують протягом приблизно 4 год. Внутрішню температуру реакційної суміші доводять до 0 °С та додають 150 мл етилацетату. Повільно додають 220 мл (660 ммоль) 3 н водного розчину натрію гідроксиду для доведення рН приблизно до 3. Органічну фракцію відокремлюють, і водну фракцію екстрагують 2×150 мл етилацетату. Об'єднані органічні фракції промивають 100 мл розсілу та упарюють при зниженому тиску. Залишок розбавляють 50 мл толуолу та знову упарюють при зниженому тиску з одержанням суміші сполук формули (15) та формули (16) (R<sup>1</sup> = 1-ізохінолініл, R<sup>2</sup> = ізопропіл) (15,4 г, кількісний вихід, хімічна чистота 87,0 %).

<sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>): 8,99 (м, 1H), 8,65 (м, 1H), 8,19-7,78 (м, 4H), 5,15 (м, 1,5H), 4,77 (м, 1H), 4,42 (м, 0,5H), 3,91 (2д, J = 17,6 Гц, 1H), 3,74 (м, 1H), 2,99 (м, 0,2H), 2,82 (м, 1H), 2,63 (м, 0,8H), 2,33 (м, 1H), 0,97 (м, 6H).

До 146 мл толуолу додають 14,6 г (35,2 ммоль) суміші сполук формули (15) та формули (16) (R<sup>1</sup> = 1-ізохінолініл, R<sup>2</sup> = ізопропіл) (хімічна чистота: 87,0 %), і суміш нагрівають до 100 °С, витримуючи до повного розчинення. Далі додають 14 мг затравки цільової сполуки (1, R<sup>1</sup> = 1-ізохінолініл, R<sup>2</sup> = ізопропіл), температуру повільно знижують до 20 °С і реакційну суміш перемішують з утворенням твердої речовини. Додають 0,25 мл (1,8 ммоль) діізопропіламіну та перемішують при 20 °С, витримуючи при цій температурі протягом приблизно 2 тижнів, до підтвердження за допомогою ВЕРХ співвідношення між сполукою формули (15) та сполукою формули (16) (R<sup>1</sup> = 1-ізохінолініл, R<sup>2</sup> = ізопропіл) 92,8:7,2. Реакційну суміш упарюють при зниженому тиску для видалення толуолу, додають 88 мл етилацетату і суміш нагрівають до 65

°C, витримуючи до повного розчинення. Далі додають 88 мл н-гексану додають, температуру повільно знижують та перемішують при приблизно 20 °C, витримуючи при цій температурі протягом 2 днів. Одержану тверду речовину відфільтровують і промивають сумішшю 15 мл етилацетату та 15 мл н-гексану. Після висушування твердої речовини азотом одержують цілову сполуку у вигляді білої твердої речовини ( $R^1 = 1$ -ізохінолініл,  $R^2 =$  ізопропіл) з виходом 54,7 % від кількості сполуки формули (2) (8,0 г, хімічна чистота 98,6 %).

Дані твердофазного ЯМР для кристалічної форми одержані з використанням VACP MAS (крос-поляризація з обертанням зразка під магнічним кутом із змінною амплітудою) при швидкості обертання 9 кН.

$^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ ): 9,02 (шс, 1H), 8,54 (д, J = 5,5 Гц, 1H), 7,85 (д, J = 7,95 Гц, 1H), 7,70 (м, 3H), 7,60 (шс, 1H), 4,86 (шс, 1H), 4,2-5,2 (шс, 2H), 4,05 (б, J = 19,0 Гц, 1H), 3,78 (ш, J = 19,0 Гц, 1H), 2,7-3,1 (шм, 2H), 2,40 (м, 1H), 1,08 (дд, J = 6,7, 4,9 Гц, 6H)

$^{13}\text{C}$  ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ ): 173,8, 172,4, 160,2, 147,6, 141,7, 136,8, 130,7, 129,0, 127,4, 127,3, 126,8, 122,9, 92,3, 82,7 (д, J = 215 Гц), 48,9 (б), 44,6, 34,4, 33,9, 17,7, 16,3.

$^{13}\text{C}$  ЯМР (тверда речовина): 176,4, 171,8, 160,3, 150,2, 139,5, 137,5, 132,3 (2C), 127,7 (3C), 123,0, 104,3, 94,1, 86,4, 48,8, 42,9, 32,7 (2C), 19,6, 15,4.

Мас-спектр (співвідношення маси до заряду): 416,14 (M+1).

$[\alpha]_D^{25} = +3,2$  (с = 1,0, ацетонітрил)

Експериментальний приклад 1

Дослідження стабільності

Як показано на фіг. 2, в результаті досліджень стабільності, проведених на аморфній формі і кристалічній формі сполуки формули (1) ( $R^1 = 1$ -ізохінолініл,  $R^2 =$  ізопропіл), спостерігалось, що 50 % аморфної форми розкладалося після проходження 28 днів в суворих умовах (60 °C), але кількість кристалічної форми в таких же умовах (60 °C) не зменшувалася взагалі навіть після проходження 28 днів. Таким чином, слід розуміти, що кристалічна форма має в достатній мірі більш високу стабільність, в порівнянні з аморфною формою з точки зору застосування в композиції інгібітора або терапевтичного агента.

Експериментальний Приклад 2

Вплив лікування на індукований ліпополісахаридом (ЛПС) гострий гепатит у мишей

Стадія 1: Одержання зразка крові

Мишей-самців (6 тижнів, Charles River Laboratory, Осака, Японія) Balb/c розводили при температурі 22 °C та відносній вологості 55 %, із зміною

ночі/дня через 12 годин. Харчування і воду надавали без обмежень. ЛПС (ліпополісахарид) і D-галактозамін розчиняли в концентраціях 0,4 мг/мл і 280 мг/мл, відповідно, в апірогенному сольовому розчині, при співвідношенні змішування 1:1. Розчин вводили ін'єкційним способом мишам в кількості 5 мл/кг. Безпосередньо після ін'єкції ЛПС і D-галактозаміну, вводили носій з розчиною досліджуваною сполукою (суміш, що складається з PEC400/етанолу/Твіну 80 у співвідношенні 15:7,5:2,5, розведена 1/5 сольовим розчином) або тільки носій ін'єкційним способом досліджуваній тварині. Зразки крові одержували з серця мишей через 8 годин після ін'єкції лікарського засобу.

Стадія 2: Аналіз активності амінотрансферази плазми крові

Активність АЛТ плазми крові в зразках крові, одержаних на Стадії 1, вимірювали з використанням набору для аналізу АЛТ (Asan pharmaceutical company) у відповідності до протоколу виробника. Спостерігалось, що введення ЛПС і D-галактозаміну швидко підвищувало активність АЛТ в плазмі крові, і досліджуваний матеріал інгібував таку підвищену ферментну активність дозозалежним чином. На базі вказаних результатів значення  $\text{ED}_{50}$  для кожного зразка досліджуваного матеріалу обчислювали із застосуванням програмного забезпечення Prism (GraphPad Co.).

Експериментальний приклад 3

Вплив лікування на індукований антитілом Fas гострий гепатит у мишей

Мишей-самців (6 тижнів, Charles River Laboratory, Осака, Японія) Balb/c розводили при температурі 22 °C та відносній вологості 55%, із чергуванням ніч/день через 12 годин. Харчування і воду надавали без обмежень. Антитіло Fas розчиняли в концентраціях 30 мкг/мл в апірогенному сольовому розчині, і розчин вводили ін'єкційним способом мишам в кількості 5 мл/кг. Безпосередньо після ін'єкції антитіла Fas, вводили носій з розчиною досліджуваною сполукою (суміш, що складається з PEC400/етанолу/Твіну 80 у співвідношенні 15:7,5:2,5, розведена 1/5 сольовим розчином) або тільки носій ін'єкційним способом досліджуваній тварині. Зразки крові одержували з серця мишей через 8 годин після ін'єкції лікарського засобу. Значення  $\text{ED}_{50}$  для кожного зразка досліджуваного матеріалу обчислювали із застосуванням вказаного вище метода.

Наступна табл. 1 демонструє результати дослідження фармакологічного впливу на моделі гострого гепатиту у відповідності до способу введення сполуки формули (1), одержаної в наведених вище Прикладах 2 і 3.

Таблиця 1

Модель 1	Спосіб введення	$\text{ED}_{50}$ (мг/кг)	95% довірчий інтервал (мг/кг)
Ліпополісахарид/D-глюкозамін	Внутрішньовенне введення	0,015	0,002-0,111
	Пероральне введення	0,02	0,003-0,118
Антитіло Fas	Внутрішньовенне введення	0,003	0,001-0,006
	Пероральне введення	0,018	0,013-0,026

### Промислова придатність

Похідне ізоксазоліну, що містить циклічний гемікеталь карбонової кислоти формули (1) у відповідності до даного винаходу, володіє чудовою активністю з інгібування каспази і чудовою стабільністю. Крім того, спосіб у відповідності до даного винаходу дає тільки один діастереоізомер високої чистоти за допомогою індукованого кристалізацією динамічного перетворення. Крім того, якщо аміне похідне, що містить кеталь у відповідності до даного винаходу, застосовують як проміжну сполуку, фахівець в даній галузі може легко одержати похідне ізоксазоліну, що містить циклічний гемікеталь карбонової кислоти без додаткового очищення.

### Література:

[Dementia: Arch Neurol 2003 Mar; 60(3): 369-76, Caspase gene expression in the brain as a function of the clinical progression of Alzheimer disease. Pompl PN, Yemul S, Xiang Z, Ho L, Haroutunian V, Purohit D, Mohs R, Pasinetti GM.;

Cerebral stroke: Proc Natl Acad Sci USA 2002 Nov 12; 99(23): 15188-93, Caspase activation and neuroprotection in caspase-3-deficient mice after in vivo cerebral ischemia and in vitro oxygen glucose deprivation. Le DA, Wu Y, Huang Z, Matsushita K, Plesnila N, Augustinack JC, Hyman BT, Yuan J, Kuida K, Flavell RA, Moskowitz MA.;

Brain impairment due to AIDS: J Neurosci 2002 May 15; 22(10): 4015-24,

Caspase cascades in human immunodeficiency virus-associated neurodegeneration. Garden GA, Budd SL, Tsai E, Hanson L, Kaul M, D'Emilia DM, Friedlander RM, Yuan J, Masliah E, Lipton SA.;

Diabetes: Diabetes 2002 Jun; 51(6): 1938-48, Hyperglycemia-induced apoptosis in mouse myocardium: mitochondrial cytochrome C-mediated caspase-3 activation pathway. Cai L, Li W, Wang G, Guo L, Jiang Y, Kang YJ.;

Gastric ulcer: J Physiol Pharmacol 1998 Dec; 49(4): 489-500, Role of basic fibroblast growth factor in the suppression of apoptotic caspase-3 during chronic gastric ulcer healing. Slomiany BL, Piotrowski J, Slomiany A.;

Cerebral injury by hepatitis: J Viral Hepat 2003 Mar; 10(2): 81-6, Cerebral dysfunction in chronic he-

patitis C infection. Forton DM, Taylor-Robinson SD, Thomas HC.;

Fulminant hepatic failure: Gastroenterology 2000 Aug; 119(2): 446-60, Tumor necrosis factor alpha in the pathogenesis of human and murine fulminant hepatic failure. Streetz K, Leifeld L, Grundmann D, Ramakers J, Eckert K, Spengler U, Brenner D, Manns M, Trautwein C.;

Sepsis: Nat Immunol 2000 Dec; 1(6): 496-501, Caspase inhibitors improve survival in sepsis: a critical role of the lymphocyte. Hotchkiss RS, Chang KC, Swanson PE, Tinsley KW, Hui JJ, Klender P, Xanthoudakis S, Roy S, Black C, Grimm E, Aspiotis R, Han Y, Nicholson DW, Karl IE.;

Organ transplantation rejection: Xenotransplantation 2001 May; 8(2): 115-24, In vitro prevention of cell-mediated xenograft rejection via the Fas/FasL-pathway in CrmA-transduced porcine kidney cells. Fujino M, Li XK, Suda T, Hashimoto M, Okabe K, Yaginuma H, Mikoshiba K, Guo L, Okuyama T, Enosawa S, Amemiya H, Amano T, Suzuki S.;

Rheumatoid arthritis: Prog Med Chem 2002; 39: 1-72, Caspase inhibitors as antiinflammatory and antiapoptotic agents. Graczyk PP.;

Ischemic cardiac diseases: Am J Physiol Heart Circ Physiol 2002 Sep; 283(3): H990-5, Hypoxia-induced cleavage of caspase-3 and DFF45/ICAD in human failed cardiomyocytes. Todor A, Sharov VG, Tanhehco EJ, Silverman N, Bernabei A, Sabbah HN.;

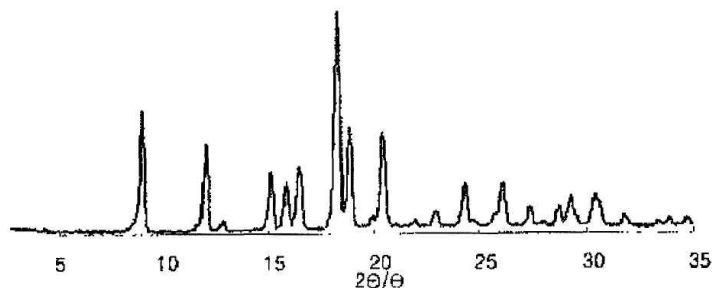
Anti-inflammation: J Immunol 2003 Mar 15; 170(6): 3386-91, A broad-spectrum caspase inhibitor attenuates allergic airway inflammation in murine asthma model. Iwata A, Nishio K, Winn RK, Chi EY, Henderson WR Jr, Harlan JM.;

Hepatocirrhosis: i) J Pharmacol Exp Ther. 2004 Mar; 308(3): 1191-6;

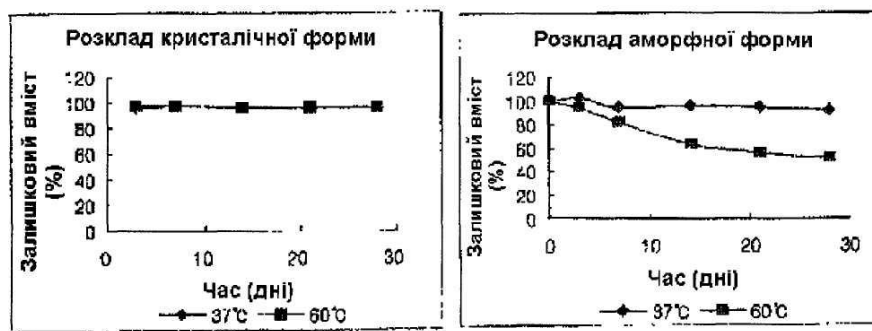
The caspase inhibitor Idn-6556 attenuates hepatic injury and fibrosis in the bile duct ligated mouse. Canbay A., Fledstein A., Baskin-Bey E., Bronk FS. Gores GJ.; ii) Hepatology. 2004 Feb; 39(2): 273-8,

Apoptosis: the nexus of liver injury and fibrosis. Canbay A, Friedman S, Gores GJ.; iii) Hepatology. 2003 Nov; 38(5): 1188-98,

Kupffer cell engulfment of apoptotic bodies stimulates death ligand and cytokine expression. Canbay A, Feldstein AE, Higuchi H, Werneburg N, Grambihler A, Bronk SF, Gores GJ.].



ФІГ. 1



ФІГ. 2