



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **118341** (13) **C2**
(51) МПК

C07D 239/95 (2006.01)

A61K 31/505 (2006.01)

A61P 31/12 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21) Номер заявки:	а 2015 05893	(72) Винахідник(и):	Ласт Стефан Жюльєн (BE), Мак Гоуен Девід Крейг (BE), Ембрехтс Вернер (BE), Пітерс Серж Марія Алоїсіус (NL), Йонкерс Тім Хьюго Марія (BE), Рабуассон П'єр Жан-Марі Бернар (BE)
(22) Дата подання заявки:	15.11.2013	(73) Власник(и):	ЯНССЕН САЙЄНСІЗ АЙРЛЕНД ЮСІ, Eastgate Village, Eastgate, Little Island, Co Cork, Ireland (IE)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід:	10.01.2019	(74) Представник:	Мошинська Ніна Миколаївна, реєстр. №115
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	12192970.7	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:	JP 2000 053653 A, 22.02.2000 WO 2008/009078 A2, 24.01.2008 WO 2012/156498 A1, 22.11.2012
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	16.11.2012		
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку:	EP		
(41) Публікація відомостей про заявку:	10.08.2015, Бюл.№ 15		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	10.01.2019, Бюл.№ 1		
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ	РСТ/EP2013/073901, 15.11.2013		

(54) ГЕТЕРОЦИКЛІЧНІ ЗАМІЩЕНІ ПОХІДНІ 2-АМІНОХІНАЗОЛІНУ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ВІРУСНИХ ІНФЕКЦІЙ

(57) Реферат:

Даний винахід стосується гетероциклічних заміщених похідних 2-амінохіназоліну, способів їх одержання, фармацевтичних композицій та їх застосування при лікуванні вірусних інфекцій.

UA 118341 C2

Даний винахід стосується гетероциклічних заміщених похідних 2-аміно-хіназоліну, способів їх одержання, фармацевтичних композицій та їх застосування при лікуванні вірусних інфекцій.

Даний винахід стосується застосування гетероциклічних заміщених похідних 2-аміно-хіназоліну при лікуванні вірусних інфекцій, імунних або запальних порушень, у які залучена модуляція або агонізм толл-подібних рецепторів (TLR). Толл-подібні рецептори являють собою основні трансмембранні білки, що характеризуються позаклітинним лейцин-багатим доменом і цитоплазматичним розширенням, яке містить консервативну ділянку. Вроджена імунна система може розпізнавати патоген-асоційовані молекулярні патерни за допомогою даних TLR, що експресуються на клітинній поверхні певних типів імунних клітин. При розпізнаванні чужорідних патогенів активується вироблення цитокінів та підвищується експресія ко-стимулюючих молекул на фагоцитах. Це приводить до модуляції поведінки Т-клітин.

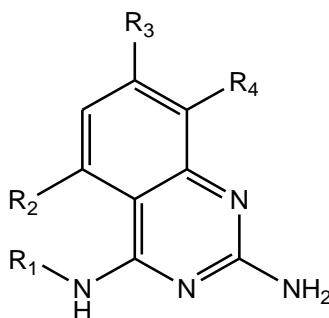
Встановлено, що більшість видів ссавців мають від десяти до п'ятнадцяти типів толл-подібних рецепторів. В цілому у людей та мишей виявили тринадцять TLR (під назвою TLR1-TLR13), а у інших видів ссавців виявили еквівалентні форми багатьох з них. Тим не менш, еквіваленти визначених TLR, виявлених у людей, не є присутніми у всіх ссавців. Наприклад, ген, що кодує білок, аналогічний TLR10 у людей, є присутнім у мишей, але, виявляється, в певний момент у минулому він був пошкоджений ретровірусом. З іншого боку, у мишей експресуються TLR 11, 12 та 13, жоден з яких не є представленим у людини. У інших ссавців можуть експресуватися TLR, які не було виявлено у людини. Інші види, які не відносяться до ссавців, можуть мати TLR, що відрізняються від таких у ссавців, і доказом цього є TLR14, виявлений у риби фугу роду *Takifugu*. Це може ускладнювати процедуру використання експериментальних тварин в якості моделей вродженого імунітету людини.

Для огляду TLR див. наступні публікації у журналах. Hoffmann, J.A., *Nature*, 426, p33-38, 2003; Akira, S., Takeda, K., and Kaisho, T., *Annual Rev. Immunology*, 21, p335-376, 2003; Ulevitch, R. J., *Nature Reviews: Immunology*, 4, p512-520, 2004.

Раніше були описані сполуки, що виявляють активність щодо толл-подібних рецепторів, такі як похідні пурину у WO 2006/117670, похідні аденіну у WO 98/01448 та WO 99/28321 та піримідини у WO 2009/067081.

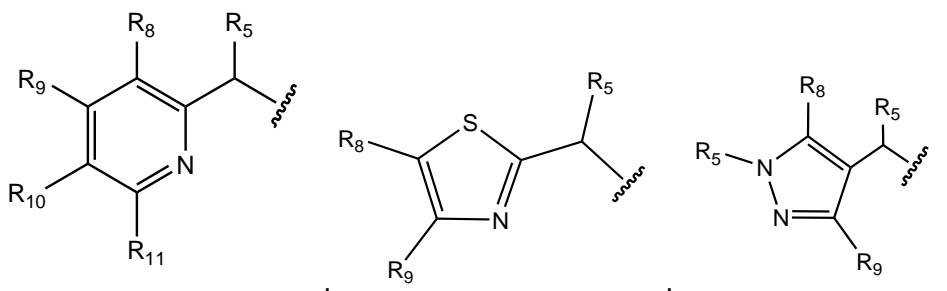
Разом з тим існує гостра потреба у нових модуляторах толл-подібних рецепторів, що характеризуються переважною селективністю, більш високою ефективністю, більш високою метаболічною стабільністю, а також поліпшеним профілем безпеки у порівнянні із сполуками з відомого рівня техніки.

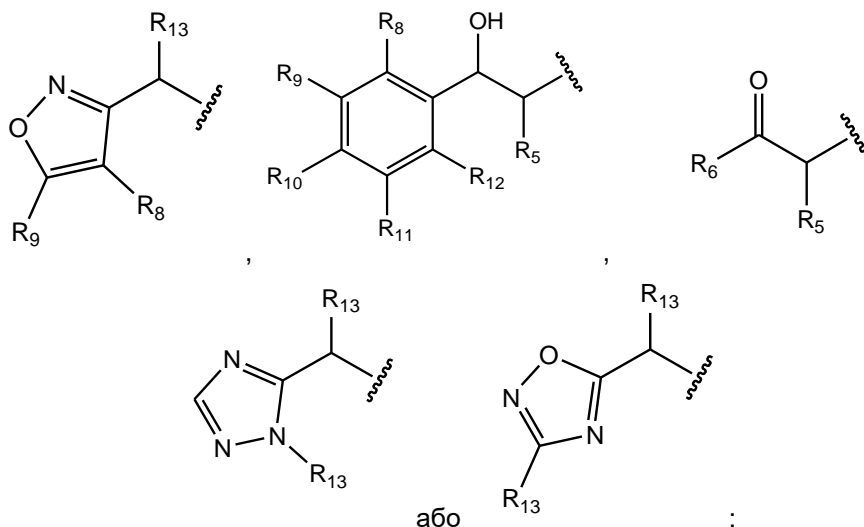
Відповідно до даного винаходу представлена сполука формули (I),



або її фармацевтично прийнятна сіль, таутомер(и), стереоізомерні форми, сольват або поліморф, де

R₁ являє собою будь-яку з наступних структур:





R_2 являє собою водень, -O-(C₁₋₃)-алкіл, галоген, (C₁₋₃)-алкіл, -O-(C₁₋₃)-алкіл-O-(C₁₋₃)-алкіл або CH₂OH;

R_3 являє собою водень, -O-(C₁₋₃)-алкіл, галоген, (C₁₋₃)-алкіл або -C(=O)-R₇, де R₇ являє собою -O-(C₁₋₃)-алкіл, NH₂, NH(CH₃), N(CH₃)₂, N(CH₃)(C₁₋₃)-алкіл, N((C₁₋₃)-алкіл)₂ або піролідін;

R_4 являє собою водень або фтор;

R_5 являє собою (C₁₋₃)-алкіл, (C₁₋₃)-фтор-алкіл або CH₂OH;

R_6 являє собою NH₂, NH(CH₃) або N(CH₃)₂, (гетеро)-аніліни, необов'язково заміщені одним або декількома R₈, R₉, R₁₀, R₁₁ або R₁₂, або (гетеро)-бензиламіни, необов'язково заміщені одним або декількома R₈, R₉, R₁₀, R₁₁ або R₁₂,

кожен з R₈, R₉, R₁₀, R₁₁ та R₁₂, які є однаковими або різними, незалежно вибраний з водню, (C₁₋₃)-алкілу, -O-(C₁₋₃)-алкілу або галогену,

та

R_{13} являє собою водень, (C₁₋₃)-алкіл або (C₁₋₃)-фтор-алкіл.

Переважними сполуками згідно з даним винаходом є сполуки з номерами 12 та 29, які наведені у таблиці II.

Сполуки формули (I) та їх фармацевтично прийнятні солі, таутомер(и), стереоізомерні форми, сольват або поліморф мають активність як фармацевтичні препарати, зокрема, як модулятори активності толл-подібних рецепторів (особливо активності TLR7 та/або TLR8).

У додатковому аспекті даний винахід пропонує фармацевтичну композицію, що містить сполуку формули (I) або її фармацевтично прийнятну сіль, таутомер, стереоізомерну форму, сольват або поліморф разом з одним або декількома фармацевтично прийнятними наповнювачами, розріджувачами або носіями.

Крім того, сполуку формули (I) або її фармацевтично прийнятну сіль, сольват, таутомер, стереоізомерну форму або поліморф згідно з даним винаходом, або фармацевтичну композицію, що містить вказану сполуку формули (I) або її фармацевтично прийнятну сіль, сольват, таутомер, стереоізомерну форму або поліморф, можна застосовувати в якості лікарського препарату.

Інший аспект даного винаходу полягає у тому, що сполуку формули (I) або її фармацевтично прийнятну сіль, її сольват, таутомер, стереоізомерну форму або поліморф, або вказану фармацевтичну композицію, що містить вказану сполуку формули (I) або її фармацевтично прийнятну сіль, сольват, таутомер, стереоізомерну форму або поліморф, можна відповідно застосовувати при лікуванні порушення, у яке залучена модуляція TLR7 та/або TLR8.

Термін "(C₁₋₃)-алкіл" стосується насиченого аліфатичного вуглеводню з нерозгалуженим ланцюгом, розгалуженим ланцюгом або циклічного насиченого аліфатичного вуглеводню, що містить визначену кількість атомів вуглецю.

Термін "(C₁₋₃)-фтор-алкіл" стосується насиченого аліфатичного вуглеводню з нерозгалуженим ланцюгом, розгалуженим ланцюгом або циклічного насиченого аліфатичного вуглеводню, що містить визначену кількість атомів вуглецю, де один або декілька атомів водню були заміщені атомом фтору.

Термін "галоген" стосується фтору, хлору, броду або йоду, переважно фтору та хлору.

Термін "анілін" означає сполуку формули C₆H₅NR₁₃, що складається з фенільної групи, яка прикріплена до аміногрупи; при цьому "(гетеро)-анілін" означає, що в ароматичному кільці є присутніми 1-3 атоми азоту, переважно 1 атом азоту.

Термін "бензиламін" означає сполуку формули $C_6H_5CH_2NR_{13-}$, що складається з бензильної групи, $C_6H_5CH_2$, яка прикріплена до функціональної аміногрупи; при цьому "(гетеро)-бензиламін" означає, що в ароматичному кільці присутні 1-3 атоми азоту, переважно 1 атом азоту.

Як застосовується у даному документі, будь-яка хімічна формула зі зв'язками, що наведені тільки у вигляді суцільних ліній, а не у вигляді суцільних клиноподібних або пунктирних клиноподібних зв'язків або іншим чином наведена як та, що має конкретну конфігурацію (наприклад, R, S) навколо одного або декількох атомів, передбачає кожен можливий стереоізомер або суміш двох або більше стереоізомерів.

Терміни "стереоізомери", "стереоізомерні форми" або "стереохімічно ізомерні форми" вище або нижче у даному документі застосовуються взаємозамінювано.

Даний винахід включає всі стереоізомери сполук згідно з даним винаходом або у вигляді чистих стереоізомерів, або у вигляді суміші двох або більше стереоізомерів.

Енантіомери є стереоізомерами, які являють собою дзеркальні зображення один одного, що не збігаються при накладанні. Суміш 1:1 пари енантіомерів являє собою рацемат або рацемічну суміш.

Діастереомери (або діастереоізомери) являють собою стереоізомери, які не є енантіомерами, тобто вони не співвідносяться як дзеркальні зображення. Якщо сполука містить подвійний зв'язок, замісники можуть знаходитись у E- або Z-конфігурації. Якщо сполука містить щонайменше двозаміщену неароматичну циклічну групу, замісники можуть знаходитись у цис- або транс-конфігурації.

Таким чином, даний винахід включає енантіомери, діастереомери, рацемати, E-ізомери, Z-ізомери, цис-ізомери, транс-ізомери та їх суміші у всіх випадках, коли це можливо з хімічної точки зору.

Значення всіх цих термінів, тобто енантіомери, діастереомери, рацемати, E-ізомери, Z-ізомери, цис-ізомери, транс-ізомери та їх суміші, відомі спеціалісту у даній галузі.

Абсолютна конфігурація визначається згідно з системою Кана-Інгольда-Прелога. Конфігурація при асиметричному атомі визначається як R або як S. Виділені стереоізомери, абсолютна конфігурація яких невідома, можуть бути позначені як (+) або (-) в залежності від напрямку, у якому вони обертають плоскополяризоване світло. Наприклад, виділені енантіомери, абсолютна конфігурація яких невідома, можуть бути позначені як (+) або (-) в залежності від напрямку, у якому вони обертають плоскополяризоване світло.

Якщо визначають конкретний стереоізомер, це означає, що вказаний стереоізомер практично не містить інших стереоізомерів, тобто зв'язаний з менше 50 %, переважно з менше 20 %, більш переважно з менше 10 %, ще більш переважно з менше 5 %, зокрема, з менше 2 % та найбільш переважно з менше 1 % таких. Таким чином, якщо сполуку формули (I) вказують, наприклад, як (R), це означає, що сполука практично не містить (S) ізомер; якщо сполуку формули (I) вказують, наприклад, як E, це означає, що сполука практично не містить Z-ізомер; якщо сполуку формули (I) вказують, наприклад, як цис-, це означає, що сполука практично не містить транс-ізомер.

Фармацевтично прийнятні солі сполук формули (I) включають їх солі приєднання кислоти та основні солі. Придатні солі приєднання кислоти утворюються з кислот, які утворюють нетоксичні солі. Придатні основні солі утворюються з основ, які утворюють нетоксичні солі.

Сполуки згідно з даним винаходом також можуть існувати у несольватованій та сольватованій формах. Термін "сольват" використовується у даному документі для опису молекулярного комплексу, що містить сполуку згідно з даним винаходом та одну або декілька молекул фармацевтично прийнятного розчинника, наприклад, етанолу.

Термін "поліморф" стосується здатності сполуки згідно з даним винаходом існувати в більше ніж одній формі або кристалічній структурі.

Сполуки згідно з даним винаходом можна вводити у вигляді кристалічних або аморфних продуктів. Їх можна одержувати, наприклад, у вигляді твердої пресованої маси, порошоків або плівок за допомогою таких способів, як осадження, кристалізація, ліофільне сушіння, сушіння розпилюванням або сушіння випарюванням. Їх можна вводити окремо або у комбінації з одним або декількома іншими сполуками згідно з даним винаходом або у комбінації з одним або декількома іншими лікарськими засобами. Як правило, їх будуть вводити у вигляді складу у поєднанні з одним або декількома фармацевтично прийнятними наповнювачами. Термін "наповнювач" використовується у даному документі для опису будь-якого інгредієнта, відмінного від сполуки(сполук) згідно з даним винаходом. Вибір наповнювача значною мірою залежить від таких факторів, як конкретний спосіб введення, вплив наповнювача на розчинність і стабільність та природа лікарської форми.

Сполуки згідно з даним винаходом або будь-яка їх підгрупа можуть бути складені у різні

фармацевтичні форми з метою введення. В якості придатних композицій можна згадати усі композиції, що зазвичай використовуються для системного введення лікарських засобів. Для одержання фармацевтичних композицій згідно з даним винаходом ефективну кількість конкретної сполуки, необов'язково у формі солі приєднання, як активний інгредієнт об'єднують в

5 однорідну суміш з фармацевтично прийнятним носієм, при цьому носій може приймати широке розмаїття форм в залежності від форми препарату, необхідного для введення. Дані фармацевтичні композиції переважно представлені у вигляді одиничної лікарської форми, придатної, наприклад, для перорального, ректального або черезшкірного введення. Наприклад, при одержанні композиції у вигляді пероральної лікарської форми можна використовувати будь-

10 яке загальноприйняте фармацевтичне середовище, таке як, наприклад, вода, гліколі, масла, спирти тощо, у випадку пероральних рідких препаратів, таких як суспензії, сиропи, кріпкі настої, емульсії та розчини; або тверді носії, такі як крохмалі, цукри, каолін, розріджувачі, змащувальні речовини, зв'язувальні речовини, розпушувачі тощо у випадку порошків, пігулок, капсул і таблеток. Завдяки простоті їх введення таблетки і капсули являють собою найбільш переважні

15 пероральні форми одиниці дозування, у випадку яких, зрозуміло, застосовуються тверді фармацевтичні носії. Також включено препарати у твердій формі, які можуть бути перетворені безпосередньо перед застосуванням у препарати у рідких формах. В композиціях, які придатні для черезшкірного введення, носій необов'язково включає засіб, що підвищує проникність, та/або придатний змочувальний засіб, необов'язково в комбінації з придатними добавками

20 будь-якої природи у мінімальних пропорціях, при цьому добавки не спричиняють значного шкідливого впливу на шкіру. Вказані добавки можуть полегшувати введення у шкіру та/або можуть бути корисними при одержанні необхідних композицій. Дані композиції можна вводити різними шляхами, наприклад, у формі трансдермального пластиру, у формі точкового нанесення, у формі мазі. Сполуки згідно з даним винаходом можна також вводити шляхом інгаляції або інсуфляції за допомогою способів і складів, застосовуваних в даній галузі для

25 введення таким шляхом. Таким чином, в основному сполуки згідно з даним винаходом можна вводити у легені у формі розчину, суспензії або сухого порошку.

Особливо переважним є складання вищевказаних фармацевтичних композицій у вигляді одиничної лікарської форми для простоти введення і рівномірності дозування. Одинична лікарська форма, застосовувана в даному документі, стосується фізично окремих одиниць, які є

30 придатними в якості одиничних доз, при цьому кожна одиниця містить попередньо встановлену кількість активного інгредієнта, розраховану для одержання необхідного терапевтичного ефекту, у поєднанні з необхідним фармацевтичним носієм. Прикладами таких одиничних лікарських форм є таблетки (у тому числі подільні таблетки або покриті таблетки), капсули, пігулки, пакетики з порошком, пластинки, супозиторії, розчини або суспензії для ін'єкцій тощо, а також їх окремі численності.

Спеціалісти у галузі лікування інфекційних захворювань зможуть визначити ефективну кількість, виходячи з результатів тестів, представлених далі у даному документі. В цілому передбачається, що ефективна добова кількість може складати від 0,01 мг/кг до 50 мг/кг маси

40 тіла, більш переважно від 0,1 мг/кг до 10 мг/кг маси тіла. Може бути доцільним введення необхідної дози у вигляді двох, трьох, чотирьох або більше частин дози з відповідними інтервалами протягом доби. Вказані частини дози можуть бути складені у вигляді одиничних лікарських форм, наприклад, що містять від 1 до 1000 мг і, зокрема, від 5 до 200 мг активного інгредієнта на одиничну лікарську форму.

Точне дозування і частота введення залежать від конкретної використовуваної сполуки формули (I), конкретного стану, що підлягає лікуванню, тяжкості стану, що підлягає лікуванню, віку, ваги та загального фізичного стану конкретного пацієнта, а також іншого медикаментозного лікування, яке може отримувати індивідуум, що добре відомо спеціалістам у даній галузі. Більш того, є очевидним, що ефективна кількість може бути зменшена або збільшена в залежності від

50 реакції суб'єкта, якого піддають лікуванню, та/або в залежності від оцінки лікарем, який призначає сполуки згідно з даним винаходом. Таким чином, вищезгадані діапазони ефективної кількості є лише рекомендаціями і не призначені для обмеження тим чи іншим чином об'єму або застосування даного винаходу.

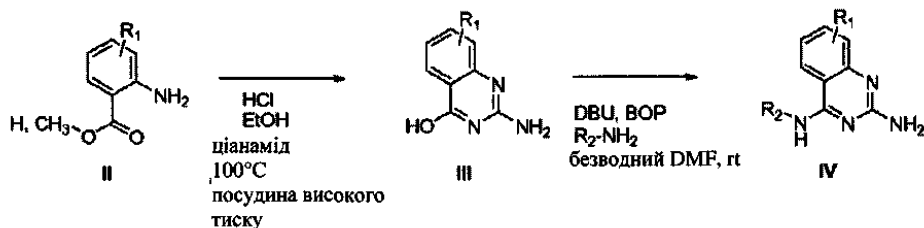
Одержання сполук формули (I)

55 Сполуки формули (I) одержують згідно зі схемою 1. Заміщені естери антранілової кислоти або антранілові кислоти (II) нагрівали у кислому середовищі в присутності надлишкового ціанаміду із застосуванням спиртового розчинника (наприклад, етанолу) або дигліму відповідно до способу, описаного в літературі (O'Hara et. al. JOC (1991) 56, p776). Подальше заміщення на аміногрупу 2-аміно-4-гідроксихіназолінів (III) може відбуватись за допомогою засобу для реакції

60 сполучання, як, наприклад, BOP або PyBOP, у присутності DBU та аміну в полярному

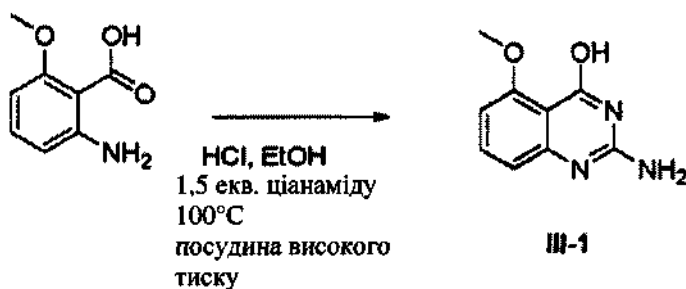
апротонному розчиннику (наприклад, DMF).

Схема 1:



Експериментальна частина

Загальна процедура одержання заміщеного 2-аміно-4-гідроксихіназоліну



5

У 500 мл посудину високого тиску, обладнану магнітним змішувачем, поміщали 2-аміно-6-метоксибензойну кислоту (25 г, 149,6 ммоль), етанол (200 мл), ціанамід (9,43 г, 224 ммоль) та концентровану HCl (6 мл). Забезпечували перемішування суміші при 100°C протягом 16 год. Забезпечували охолодження реакційної суміші до кімнатної температури, а також виділяли

10

тверді речовини за допомогою фільтрації та промивали етанолом та DIPE. Неочищений продукт

сушили у вакуумі при 50 °C з одержанням брудно-білої твердої речовини.

LC-MS маса/заряд = 192(M+H)

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 3,88 (s, 3 H), 6,96 (dd, J=8,2, 3,1 Гц, 2 H), 7,69 (t, J=8,3 Гц, 1 H), 8,28 (br. s, 2 H), 12,67 (br. s, 1 H)

15

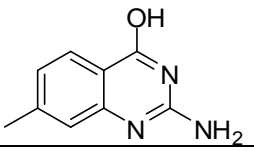
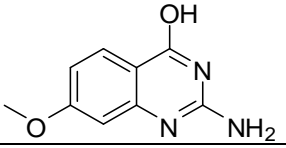
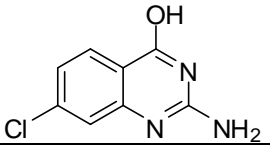
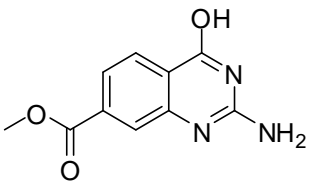
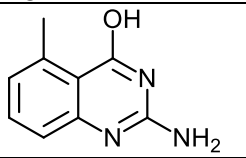
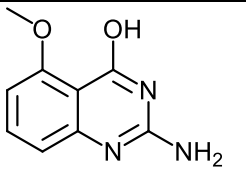
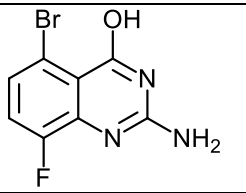
Таблиця I

Сполуки формули (III). Наступні проміжні продукти одержували відповідно до способу одержання III-1.

№	СТРУКТУРА	¹ H ЯМР	LCMS (M+H) ⁺
1		¹ H ЯМР (400 МГц, DMSO-d ₆) δ ppm 6,98 (dd, J=11,0, 8,3 Гц, 1 H), 7,13 (d, J=8,3 Гц, 1 H), 7,51 (br. s, 2 H), 7,64 (td, J=8,3, 5,8 Гц, 1 H), 12,30 (br. s, 1 H)	180
2		¹ H ЯМР (400 МГц, DMSO-d ₆) δ ppm 7,01-7,16 (m, 2 H), 7,56 (br. s., 2 H), 7,99 (t, J=7,7 Гц, 1 H), 10,38-13,48 (m, 1 H)	180
3		¹ H ЯМР (400 МГц, DMSO-d ₆) δ ppm 6,51-6,67 (m, 2H), 7,00-7,08(m, 1H), 7,42(ddd, J=11,2, 7,9 1,3Hz, 1H), 7,69 (dd, J=7,9, 0,6Hz, 1H), 11,08 (br. s, 1H)	180

Таблиця I

Сполуки формули (III). Наступні проміжні продукти одержували відповідно до способу одержання III-1.

№	СТРУКТУРА	¹ H ЯМР	LCMS (M+H) ⁺
4		¹ H ЯМР (400 МГц, DMSO-d ₆) δ ppm 2,43 (s, 3 H), 7,22 (d, J=1,0 Гц, 1 H), 7,24 (s, 1 H), 7,89 (d, J=8,0 Гц, 1 H), 8,29 (br. s., 2 H), 12,65 (br. s, 1 H)	176
5		Дані відсутні	192
6		¹ H ЯМР (400 МГц, DMSO-d ₆) δ ppm 7,41 (dd, J=8,5, 2,0 Гц, 1 H), 7,55 (d, J=2,0 Гц, 1 H), 7,98 (d, J=8,5 Гц, 1 H), 8,49 (br. s., 2 H), 10,79-13,69 (m, 1 H)	196
7		¹ H ЯМР (400 МГц, DMSO-d ₆) δ ppm 3,87-3,95 (m, 3 H), 7,12-7,47 (m, 1 H), 7,83 (dd, J=8,3, 1,4 Гц, 1 H), 7,99 (d, J=1,3 Гц, 1 H), 8,07-8,13 (m, 1 H), 8,43 (br. s, 2 H)	220
8		Дані відсутні	174 (M-H) ⁻
9		¹ H ЯМР (400 МГц, DMSO-d ₆) δ ppm 3,74-3,82 (m, 3 H), 6,42 (br. s, 2 H), 6,62 (d, J=7,7 Гц, 1 H), 6,75 (dd, J=8,3, 0,8 Гц, 1 H), 7,44 (t, J=8,3 Гц, 1 H), 10,91 (br. s, 1 H)	192
10		¹ H ЯМР (400 МГц, DMSO-d ₆) δ ppm 7,40 (dd, J=8,7, 4,7 Гц, 1 H), 7,48 (t, J=8,8 Гц, 1 H)	NA

Загальна процедура одержання сполуки IV

Сполуку III (1,5 ммоль) та DBU (3,75 ммоль) розчиняли у 5 мл DMF у 30 мл скляній пробірці. Через 5 хвилин додавали BOP (1,5 ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 5 хвилин та потім додавали амін (2,25 ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом ночі. Неочищену реакційну суміш очищали за допомогою препаративної HPLC на (RP Vydac Denali C18-10 мкм, 250 г, 5 см). Рухома фаза (0,25 % розчин NH₄HCO₃ у воді, MeOH), необхідні фракції збирали, випарювали, розчиняли у MeOH та знову випарювали з одержанням продукту у вигляді твердої речовини.

Загальна процедура одержання сполук 22, 23, 24, 26, 27 та 28

Сполуку 8 формули (I) (див. таблицю II) (2,1 г, 6,5 ммоль) вносили в THF (50 мл), додавали LiOH (409 мг, 9,74 ммоль) з наступним додаванням MeOH (5 мл). Реакційну суміш перемішували протягом ночі при кімнатній температурі. Розчинники випарювали доти, доки не залишилась тільки вода. Додавали 10 мл 1 М HCl та сполуку екстрагували 2-метилтетрагідрофураном (2 × 25 мл). Об'єднані органічні шари сушили над MgSO₄ та видаляли розчинники при пониженому тиску з одержанням 2-аміно-4-[1-(2-піридил)етиламіно]хіназолін-7-карбонової кислоти у вигляді білої твердої речовини.

2-Аміно-4-[1-(2-піридил)етиламіно]хіназолін-7-карбонову кислоту (200 мг, 0,65 ммоль) та PyBOP (421 мг, 0,81 ммоль) розчиняли у DMF (5 мл) в 30 мл скляній пробірці. Через 5 хвилин додавали основу Хуніга (0,557 мл, 3,23 ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 5 хвилин та потім додавали амін. Реакційну суміш перемішували протягом ночі. Неочищену реакційну суміш очищали за допомогою препаративної HPLC на (RP Vydac Denali C18-10 мкм, 250 г, 5 см). Рухома фаза (0,25 % розчин NH_4HCO_3 у воді, MeOH), необхідні фракції збирали, випарювали, розчиняли у MeOH та знову випарювали з одержанням продукту у вигляді твердої речовини.

Процедура одержання сполуки 29

Сполуку 12 формули (I) (див. таблицю II) (1500 мг, 4,78 ммоль) та піридину гідрохлорид (3,32 г, 28,7 ммоль) розчиняли у піридині (20 мл) та нагрівали до 120 °C протягом 16 год. Піридин видаляли при пониженому тиску. Залишкову фракцію гасили розчином NaHCO_3 (нас., водн.). Осад відфільтровували, промивали водою та сушили у вакуумі при 50 °C з одержанням коричневої твердої речовини, яку очищали за допомогою препаративної HPLC (нерухома фаза: RP Vydac Denali C18-10 мкм, 200 г, 5 см), рухома фаза: 0,25 % розчин NH_4HCO_3 у воді, CH_3CN), необхідні фракції збирали, випарювали, розчиняли у MeOH та знову випарювали з одержанням 2-аміно-4-[(5-метилізоксазол-3-іл)метиламіно]хіназолін-5-олу (100 мг) у вигляді твердої речовини.

2-Аміно-4-[(5-метилізоксазол-3-іл)метиламіно]хіназолін-5-ол (40 мг, 0,15 ммоль) та Cs_2CO_3 (144 мг, 0,44 ммоль) розчиняли в DMF (7,5 мл) та перемішували при кімнатній температурі протягом 30 хвилин. Додавали 2-брометилметиловий ефір (0,018 мл, 0,18 ммоль) та всю суміш перемішували протягом 16 годин при кімнатній температурі. Розчинник видаляли при пониженому тиску та неочищений залишок нейтралізували 1 M HCl та очищали за допомогою препаративної HPLC на (RP Vydac Denali C18-10 мкм, 250 г, 5 см). Рухома фаза (0,25 % розчин NH_4HCO_3 у воді, MeOH), необхідні фракції збирали, випарювали, розчиняли у MeOH та знову випарювали з одержанням сполуки 29 у вигляді твердої речовини.

Процедура одержання сполуки 30

В атмосфері N_2 75 мл автоклав із нержавіючої сталі наповнювали 2-аміно-5-бром-хіназолін-4-олом (3 г, 12,5 ммоль), $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (56 мг, 0,25 ммоль), 1,3-біс(дифенілфосфіно)пропаном (206 мг, 0,5 ммоль), ацетатом калію (2,45 г, 25 ммоль), метанолом (25 мл) та THF (30 мл). Автоклав закривали та подавали газ CO під тиском 50 бар та реакцію здійснювали протягом 16 годин при 100 °C. Утворений осад видаляли за допомогою фільтрації з одержанням метил-2-аміно-4-гідрокси-хіназолін-5-карбоксилату (2,35 г).

Метил-2-аміно-4-гідрокси-хіназолін-5-карбоксилат (2,35 г) в THF (10 мл) охолоджували до 0 °C. Потім додавали LiAlH_4 . Суміші дозволяли досягти кімнатної температури та її перемішували протягом 16 годин. EtOAc (5 мл) додавали краплями при 0 °C, потім додавали 3 г $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ та всю суміш перемішували протягом 30 хвилин. Осад відфільтровували та фільтрат сушили за допомогою MgSO_4 , фільтрували та випарювали до сухого стану з одержанням 2-аміно-5-(гідроксиметил)хіназолін-4-олу (750 мг) у вигляді жовтої твердої речовини.

2-Аміно-5-(гідроксиметил)хіназолін-4-ол (300 мг, 1,57 ммоль) суспендували в THF (20 мл) за допомогою DBU (0,586 мл, 3,92 ммоль), через 5 хвилин додавали BOP (833 мг, 1,88 ммоль). Через 15 хвилин додавали (5-метил-3-ізоксазоліл)метиламін (0,320 мл, 3,14 ммоль). Суміш перемішували протягом 16 годин при кімнатній температурі. Розчинник видаляли при пониженому тиску та неочищений продукт очищали за допомогою препаративної HPLC на (RP Vydac Denali C18-10 мкм, 250 г, 5 см). Рухома фаза (0,25 % розчин NH_4HCO_3 у воді, MeOH), необхідні фракції збирали, випарювали, розчиняли у MeOH та знову випарювали з одержанням сполуки 30 у вигляді твердої речовини (119 мг).

Процедура одержання сполуки 31

Щойно одержаний розчин NaOMe (1,25 мл, 6,25 ммоль) додавали в атмосфері N_2 до суміші 2-аміно-5-бром-8-фтор-хіназолін-4-олу (500 мг, 1,94 ммоль), броміду міді (I) (39 мг, 0,27 ммоль), EtOAc (0,076 мл, 0,78 ммоль) у MeOH (5 мл). Суміш нагрівали у посудині високого тиску до температури дефлегмування протягом 16 годин. Розчинник видаляли при пониженому тиску. Залишок очищали за допомогою препаративної HPLC (нерухома фаза: RP Vydac Denali C18-10 мкм, 200 г, 5 см, рухома фаза: 0,25 % розчин NH_4HCO_3 у воді, MeOH), необхідні фракції збирали, випарювали, розчиняли у MeOH та знову випарювали з одержанням 2-аміно-8-фтор-5-метокси-хіназолін-4-олу (150 мг) у вигляді твердої речовини.

2-Аміно-8-фтор-5-метокси-хіназолін-4-ол (150 мг, 0,72 ммоль) вносили у DMF (10 мл), додавали DBU (0,536 мл, 3,59 ммоль) та потім додавали реагент BOP (396 мг, 0,90 ммоль). Реакційну суміш перемішували та, коли вона ставала гомогенною, додавали (5-метил-3-

ізоксазоліл)метиламін (0,115 мл, 1,08 ммоль). Реакційну суміш перемішували 16 годин. Реакційну суміш концентрували при пониженому тиску та залишок очищали за допомогою препаративної HPLC (нерухома фаза: RP Vydac Denali C18-10 мкм, 200 г, 5 см, рухома фаза: 0,25 % розчин NH_4HCO_3 у воді, MeOH), необхідні фракції збирали, випарювали, розчиняли у MeOH та знову випарювали з одержанням сполуки 31 у вигляді твердої речовини (64 мг).

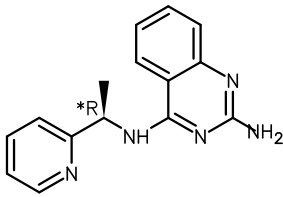
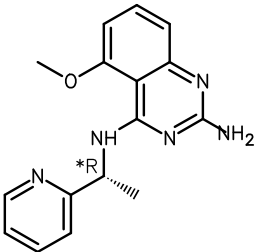
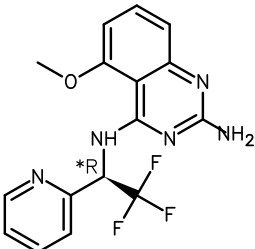
Процедура одержання сполуки 32

Сполуку 31 (52,5 мг, 0,173 ммоль) та піридину гідрохлорид (0,12 г, 1,039 ммоль) у 1 мл піридину нагрівали до 120 °C протягом 16 годин. Леткі речовини видаляли при пониженому тиску. Залишок гасили розчином NaHCO_3 (нас., водн.). Осад відфільтровували, промивали водою та сушили у вакуумі при 50 °C з одержанням 2-аміно-8-фтор-4-[(5-метилізоксазол-3-іл)метиламіно]хіназолін-5-олу (10 мг) у вигляді коричневої твердої речовини.

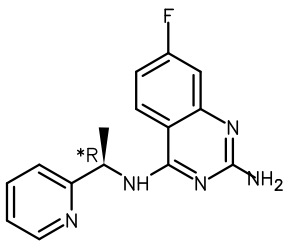
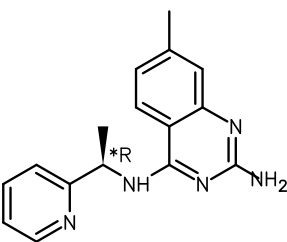
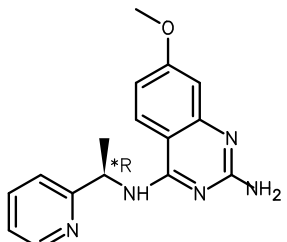
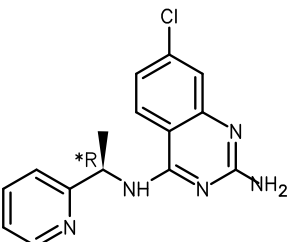
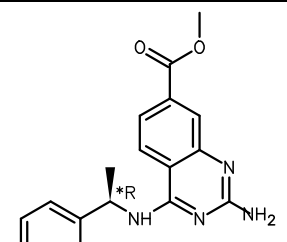
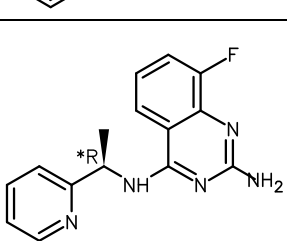
2-Аміно-8-фтор-4-[(5-метилізоксазол-3-іл)метиламіно]хіназолін-5-ол (10 мг, 0,035 ммоль) та Cs_2CO_3 (33,8 мг, 0,104 ммоль) у DMF (5 мл) перемішували при кімнатній температурі протягом 30 хвилин. Додавали 2-хлоретилметиловий ефір (4,1 мг, 0,043 ммоль) та всю суміш перемішували протягом 16 годин при кімнатній температурі. Розчинник видаляли при пониженому тиску. Залишок розчиняли у MeOH та осад (солі) видаляли за допомогою фільтрації. Фільтрат концентрували при пониженому тиску та неочищений залишок очищали за допомогою препаративної HPLC на (нерухома фаза: RP SunFire Prep C18 OBD-10 мкм, 30 × 150 мм, рухома фаза: 0,25 % розчин NH_4HCO_3 у воді, CH_3CN), необхідні фракції збирали, випарювали, розчиняли у MeOH та знову випарювали з одержанням сполуки 32 у вигляді твердої речовини (2 мг).

Таблиця II

Сполуки формули (I). Наступні сполуки синтезували згідно з одним із способів, описаних вище.

№	СТРУКТУРА	Н ЯМР
1		^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ ppm 1,60 (d, $J=7,3$ Гц, 3 H), 5,61 (quin, $J=7,3$ Гц, 1 H), 5,97 (s, 2 H), 7,05 (ddd, $J=8,1, 6,9, 1,2$ Гц, 1 H), 7,20 (dd, $J=8,4, 0,7$ Гц, 1 H), 7,24 (ddd, $J=7,5, 4,8, 0,9$ Гц, 1 H), 7,44 (d, $J=7,9$ Гц, 1 H), 7,49 (ddd, $J=8,3, 6,9, 1,3$ Гц, 1 H), 7,72 (td, $J=7,7, 1,8$ Гц, 1 H), 8,05 (d, $J=7,9$ Гц, 1 H), 8,18 (dd, $J=8,3, 1,0$ Гц, 1 H), 8,50-8,56 (m, 1 H)
2		^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ ppm 1,53 (d, $J=6,82$ Гц, 3 H) 3,99 (s, 3 H) 5,43 (t, $J=6,82$ Гц, 1 H) 6,03 (s, 2 H) 6,53-6,69 (m, 1 H) 6,81 (dd, $J=8,36, 0,88$ Гц, 1 H) 7,32 (ddd, $J=7,48, 4,84, 1,10$ Гц, 1 H) 7,38 (t, $J=8,14$ Гц, 1 H) 7,46 (d, $J=7,92$ Гц, 1 H) 7,80 (td, $J=7,70, 1,76$ Гц, 1 H) 8,54-8,72 (m, 1 H) 9,01 (d, $J=7,04$ Гц, 1 H)
3		^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ ppm 4,05 (s, 3 H), 6,25 (s, 2 H), 6,43 (quin, $J=7,8$ Гц, 1 H), 6,62-6,68 (m, 1 H), 6,86 (dd, $J=8,4, 0,9$ Гц, 1 H), 7,44 (t, $J=8,1$ Гц, 1 H), 7,52 (ddd, $J=7,7, 4,8, 1,1$ Гц, 1 H), 7,69 (d, $J=7,7$ Гц, 1 H), 7,95 (td, $J=7,7, 1,8$ Гц, 1 H), 8,74-8,79 (m, 1 H), 9,31 (d, $J=8,4$ Гц, 1 H)

Сполуки формули (I). Наступні сполуки синтезували згідно з одним із способів, описаних вище.

№	СТРУКТУРА	Н ЯМР
4		¹ H ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ ppm 1,60 (d, J=6,6 Гц, 3 H), 5,34 (br. s., 2 H), 5,49 (t, J=6,8 Гц, 1 H), 6,78 (td, J=8,6, 2,6 Гц, 1 H), 7,02 (dd, J=10,8, 2,6 Гц, 1 H), 7,19 (ddd, J=7,5, 4,8, 1,1 Гц, 1 H), 7,26-7,31 (m, 1 H), 7,59 (d, J=6,8 Гц, 1 H), 7,65 (td, J=7,6, 1,9 Гц, 1 H), 7,73 (dd, J=9,0, 5,9 Гц, 1 H), 8,53-8,61 (m, 1 H)
5		¹ H ЯМР (400 МГц, DMSO-d ₆) δ ppm 1,58 (d, J=7,0 Гц, 3 H), 2,35 (s, 3 H), 5,59 (quin, J=7,3 Гц, 1 H), 5,94 (s, 2 H), 6,90 (dd, J=8,3, 1,2 Гц, 1 H), 7,01 (s, 1 H), 7,23 (dd, J=6,9, 5,2 Гц, 1 H), 7,43 (d, J=7,9 Гц, 1 H), 7,72 (td, J=7,7, 1,8 Гц, 1 H), 7,97 (d, J=7,9 Гц, 1 H), 8,07 (d, J=8,4 Гц, 1 H), 8,48-8,57 (m, 1 H)
6		¹ H ЯМР (400 МГц, DMSO-d ₆) δ ppm 1,57 (d, J=7,04 Гц, 3 H), 3,80 (s, 3 H), 5,58 (t, J=7,37 Гц, 1 H), 5,89 (s, 2 H), 6,61 (d, J=2,42 Гц, 1 H), 6,67 (dd, J=8,91, 2,53 Гц, 1 H), 7,23 (ddd, J=7,48, 4,84, 0,88 Гц, 1 H), 7,42 (d, J=7,92 Гц, 1 H), 7,72 (td, J=7,70, 1,76 Гц, 1 H), 7,89 (d, J=8,14 Гц, 1 H), 8,08 (d, J=9,02 Гц, 1 H), 8,52 (dt, J=3,96, 0,88 Гц, 1 H)
7		¹ H ЯМР (400 МГц, DMSO-d ₆) δ ppm 1,59 (d, J=7,3 Гц, 3 H), 5,53-5,65 (m, 1 H), 6,21 (br. s., 2 H), 7,07 (dd, J=8,7, 2,1 Гц, 1 H), 7,18 (d, J=2,0 Гц, 1 H), 7,24 (ddd, J=7,4, 4,8, 1,0 Гц, 1 H), 7,43 (d, J=7,9 Гц, 1 H), 7,73 (td, J=7,6, 1,9 Гц, 1 H), 8,19 (d, J=7,9 Гц, 1 H), 8,23 (d, J=8,8 Гц, 1 H), 8,50-8,56 (m, 1 H)
8		¹ H ЯМР (400 МГц, DMSO-d ₆) δ ppm 1,60 (d, J=7,0 Гц, 3 H), 3,88 (s, 3 H), 5,61 (quin, J=7,2 Гц, 1 H), 6,22 (s, 2 H), 7,25 (ddd, J=7,5, 4,8, 0,9 Гц, 1 H), 7,45 (d, J=7,9 Гц, 1 H), 7,54 (dd, J=8,6, 1,8 Гц, 1 H), 7,70-7,77 (m, 2 H), 8,28 (d, J=7,9 Гц, 1 H), 8,32 (d, J=8,6 Гц, 1 H), 8,51-8,57 (m, 1 H)
9		¹ H ЯМР (400 МГц, DMSO-d ₆) δ ppm 1,60 (d, J=7,04 Гц, 3 H), 5,61 (quin, J=7,26 Гц, 1 H), 6,25 (br. s., 2 H), 6,99 (td, J=7,98, 4,95 Гц, 1 H), 7,25 (ddd, J=7,48, 4,84, 0,88 Гц, 1 H), 7,29-7,36 (m, 1 H), 7,44 (d, J=7,92 Гц, 1 H), 7,73 (td, J=7,65, 1,87 Гц, 1 H), 8,01 (d, J=8,14 Гц, 1 H), 8,17 (d, J=8,14 Гц, 1 H), 8,52-8,59 (m, 1 H)

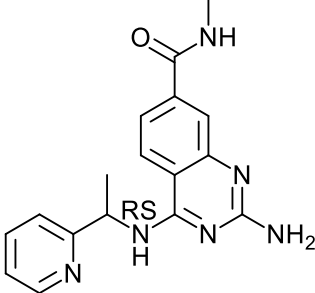
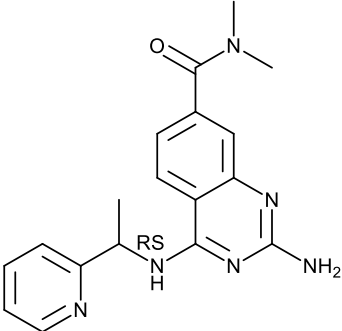
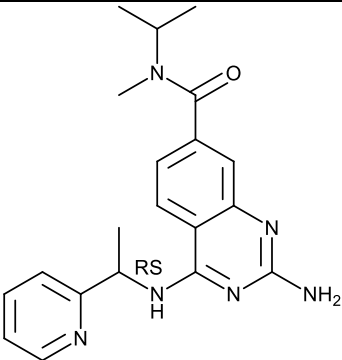
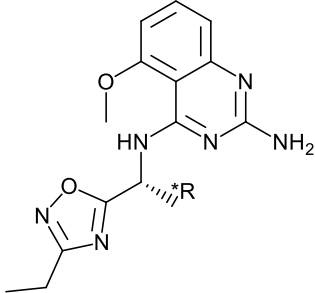
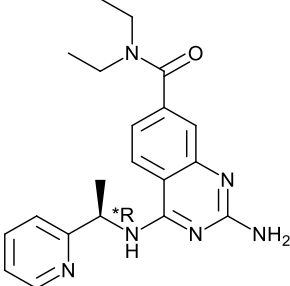
Сполуки формули (I). Наступні сполуки синтезували згідно з одним із способів, описаних вище.

№	СТРУКТУРА	Н ЯМР
10		¹ H ЯМР (400 МГц, DMSO-d ₆) δ ppm 1,69 (d, J=7,0 Гц, 3 H), 3,96 (s, 3 H), 5,80 (quin, J=7,1 Гц, 1 H), 6,09 (s, 2 H), 6,60 (dd, J=8,0, 0,8 Гц, 1 H), 6,83 (dd, J=8,4, 0,9 Гц, 1 H), 7,40 (t, J=8,3 Гц, 1 H), 7,61 (d, J=3,1 Гц, 1 H), 7,77 (d, J=3,3 Гц, 1 H), 8,37 (d, J=7,7 Гц, 1 H)
11		¹ H ЯМР (400 МГц, DMSO-d ₆) δ ppm 2,35 (d, J=0,9 Гц, 3 H), 4,72 (d, J=5,3 Гц, 2 H), 6,22 (d, J=0,7 Гц, 1 H), 6,35 (s, 2 H), 6,80 (ddd, J=12,3, 7,9, 0,9 Гц, 1 H), 7,04 (dd, J=8,4, 0,9 Гц, 1 H), 7,46 (td, J=8,2, 6,5 Гц, 1 H), 7,71-7,82 (m, 1 H)
12		¹ H ЯМР (400 МГц, DMSO-d ₆) δ ppm 2,36 (d, J=0,7 Гц, 3 H), 3,92 (s, 3 H), 4,70 (d, J=5,7 Гц, 2 H), 6,05 (s, 2 H), 6,20 (d, J=0,7 Гц, 1 H), 6,56 (dd, J=8,0, 0,8 Гц, 1 H), 6,81 (dd, J=8,4, 0,9 Гц, 1 H), 7,38 (t, J=8,1 Гц, 1 H), 8,40 (t, J=5,8 Гц, 1 H)
13		¹ H ЯМР (400 МГц, DMSO-d ₆) δ ppm 2,33-2,38 (m, 3 H), 4,67 (d, J=5,9 Гц, 2 H), 6,18-6,24 (m, 1 H), 6,27 (s, 2 H), 6,85-6,92 (m, 2 H), 7,99-8,07 (m, 1 H), 8,42 (t, J=5,7 Гц, 1 H)
14		¹ H ЯМР (400 МГц, DMSO-d ₆) δ ppm 2,35 (d, J=0,9 Гц, 3 H), 4,69 (d, J=5,9 Гц, 2 H), 6,22 (d, J=0,9 Гц, 1 H), 6,39 (br. s., 2 H), 6,98 (td, J=8,0, 4,8 Гц, 1 H), 7,33 (ddd, J=11,4, 7,8, 1,1 Гц, 1 H), 7,79 (d, J=8,4 Гц, 1 H), 8,48 (t, J=5,8 Гц, 1 H)
15		¹ H ЯМР (400 МГц, DMSO-d ₆) δ ppm 0,97 (d, J=6,6 Гц, 3 H), 3,92 (s, 3 H), 4,44-4,55 (m, 1 H), 4,89 (d, J=3,1 Гц, 1 H), 5,69 (br. s., 1 H), 6,06 (s, 2 H), 6,52-6,58 (m, 1 H), 6,79 (dd, J=8,3, 0,8 Гц, 1 H), 7,22-7,29 (m, 1 H), 7,32-7,41 (m, 3 H), 7,43-7,49 (m, 2 H), 8,07 (d, J=7,9 Гц, 1 H)

Сполуки формули (I). Наступні сполуки синтезували згідно з одним із способів, описаних вище.

№	СТРУКТУРА	Н ЯМР
16		^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ ppm 1,51 (d, J=6,8 Гц, 3 H), 3,79 (s, 3 H), 3,90 (s, 3 H), 5,39 (quin, J=7,0 Гц, 1 H), 6,05 (s, 2 H), 6,52-6,58 (m, 1 H), 6,79 (dd, J=8,4, 0,9 Гц, 1 H), 7,35 (t, J=8,3 Гц, 1 H), 7,45 (s, 1 H), 7,68 (s, 1 H), 7,84 (d, J=7,7 Гц, 1 H)
17		^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ ppm 3,40-3,49 (m, 1 H), 3,60-3,71 (m, 1 H), 4,45-4,55 (m, 1 H), 4,79 (br. s., 1 H), 4,97-5,05 (m, 1 H), 5,62 (d, J=4,8 6 Гц, 1 H), 5,98 (s, 2 H), 7,02 (t, J=7,5 Гц, 1 H), 7,08 (d, J=8,3 Гц, 1 H), 7,13-7,21 (m, 2 H), 7,27 (t, J=7,5 Гц, 2 H), 7,38 (d, J=7,3 Гц, 2 H), 7,42-7,50 (m, 1 H), 7,95 (d, J=8,3 Гц, 1 H)
18		^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ ppm 1,55 (d, J=6,82 Гц, 3 H) 5,49 (td, J=6,77, 2,09 Гц, 1 H) 6,32 (s, 2 H) 6,82 (ddd, J=12,76, 7,92, 0,88 Гц, 1 H) 7,05 (dd, J=8,47, 0,99 Гц, 1 H) 7,33 (ddd, J=7,54, 4,90, 0,99 Гц, 1 H) 7,42-7,57 (m, 2 H) 7,82 (td, J=7,70, 1,76 Гц, 1 H) 7,93 (dd, J=14,63, 6,93 Гц, 1 H) 8,58-8,67 (m, 1 H)
19		^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ ppm 2,33-2,39 (m, 3 H), 2,75 (s, 3 H), 4,71 (d, J=5,3 Гц, 2 H), 6,06 (s, 2 H), 6,22-6,26 (m, 1 H), 6,82 (d, J=6,8 Гц, 1 H), 7,08 (d, J=7,7 Гц, 1 H), 7,13 (t, J=5,3 Гц, 1 H), 7,32 (dd, J=8,4, 7,3 Гц, 1 H)
20		^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ ppm 1,49 (d, J=6,6 Гц, 3 H), 2,58 (s, 3 H), 4,02 (s, 3 H), 5,37 (quin, J=6,6 Гц, 1 H), 6,02 (s, 2 H), 6,56-6,62 (m, 1 H), 6,81 6 (dd, J=8,3, 0,8 Гц, 1 H), 7,20 (d, J=7,5 Гц, 1 H), 7,24 (d, J=7,7 Гц, 1 H), 7,37 (t, J=8,1 Гц, 1 H), 7,70 (t, J=7,7 Гц, 1 H), 9,21 (d, J=6,8 Гц, 1 H)
21		^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ ppm 1,36 (t, J=7,3 Гц, 3 H), 1,57 (d, J=6,8 Гц, 3 H), 3,95 (s, 3 H), 4,21-4,42 (m, 2 H), 5,65 (quin, J=7,0 Гц, 1 H), 6,08 (br. s., 2 H), 6,58 (dd, J=7,9, 0,7 Гц, 1 H), 6,81 (dd, J=8,4, 0,7 Гц, 1 H), 7,39 (t, J=8,1 Гц, 1 H), 7,88 (s, 1 H), 8,26 (d, J=7,7 Гц, 1 H)

Сполуки формули (I). Наступні сполуки синтезували згідно з одним із способів, описаних вище.

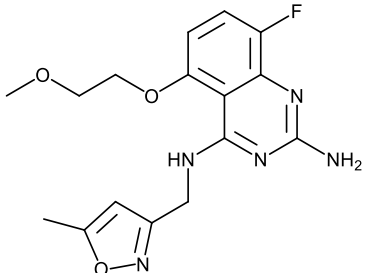
№	СТРУКТУРА	Н ЯМР
22		^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ ppm 1,60 (d, $J=7,3$ Гц, 3 H), 2,80 (d, $J=4,4$ Гц, 3 H), 5,60 (quin, $J=7,3$ Гц, 1 H), 6,11 (s, 2 H), 7,24 (ddd, $J=7,4, 4,8, 1,0$ Гц, 1 H), 7,45 (dt, $J=8,4, 1,8$ Гц, 2 H), 7,65 (d, $J=1,8$ Гц, 1 H), 7,73 (td, $J=7,7, 1,8$ Гц, 1 H), 8,16 (d, $J=7,9$ Гц, 1 H), 8,25 (d, $J=8,4$ Гц, 1 H), 8,49-8,56 (m, 2 H)
23		^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ ppm 1,60 (d, $J=7,0$ Гц, 3 H), 2,91 (s, 3 H), 3,00 (s, 3 H), 5,61 (quin, $J=7,3$ Гц, 1 H), 6,12 (s, 2 H), 7,02 (dd, $J=8,3, 1,7$ Гц, 1 H), 7,12 (d, $J=1,5$ Гц, 1 H), 7,24 (ddd, $J=7,5, 4,8, 0,9$ Гц, 1 H), 7,44 (d, $J=7,9$ Гц, 1 H), 7,73 (td, $J=7,7, 1,8$ Гц, 1 H), 8,16 (d, $J=7,9$ Гц, 1 H), 8,24 (d, $J=8,4$ Гц, 1 H), 8,51-8,56 (m, 1 H)
24		^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ ppm 1,03-1,20 (m, 6 H), 1,60 (d, $J=7,0$ Гц, 3 H), 2,68-2,89 (m, 3 H), 3,76-3,91 (m, 1 H), 5,61 (quin, $J=7,2$ Гц, 1 H), 6,13 (br. s., 2 H), 6,94-7,02 (m, 1 H), 7,02-7,12 (m, 1 H), 7,24 (ddd, $J=7,4, 4,8, 1,0$ Гц, 1 H), 7,44 (s, 1 H), 7,73 (td, $J=7,7, 2,0$ Гц, 1 H), 8,15 (s, 1 H), 8,23 (s, 1 H), 8,50-8,57 (m, 1 H)
25		^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ ppm 1,23 (t, $J=7,5$ Гц, 3 H), 1,68 (d, $J=7,0$ Гц, 3 H), 2,71 (q, $J=7,6$ Гц, 2 H), 3,96 (s, 3 H), 5,71 (quin, $J=7,2$ Гц, 1 H), 6,05 (br. s., 2 H), 6,57-6,62 (m, 1 H), 6,83 (dd, $J=8,5, 0,8$ Гц, 1 H), 7,41 (t, $J=8,1$ Гц, 1 H), 8,31 (d, $J=7,5$ Гц, 1 H)
26		^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ ppm 1,05 (br. s., 3 H), 1,16 (br. s., 3 H), 1,60 (d, $J=7,0$ Гц, 3 H), 3,20 (br. s., 2 H), 3,43 (br. s., 2 H), 5,60 (quin, $J=7,3$ Гц, 1 H), 6,11 (s, 2 H), 6,97 (dd, $J=8,3, 1,7$ Гц, 1 H), 7,05 (d, $J=1,3$ Гц, 1 H), 7,24 (ddd, $J=7,4, 4,8, 1,0$ Гц, 1 H), 7,45 (d, $J=7,9$ Гц, 1 H), 7,73 (td, $J=7,6, 1,9$ Гц, 1 H), 8,15 (d, $J=7,9$ Гц, 1 H), 8,24 (d, $J=8,4$ Гц, 1 H), 8,50-8,56 (m, 1 H)

Сполуки формули (I). Наступні сполуки синтезували згідно з одним із способів, описаних вище.

№	СТРУКТУРА	¹ H ЯМР
27		¹ H ЯМР (400 МГц, DMSO-d ₆) δ ppm 1,60 (d, J=7,0 Гц, 3 H), 2,79 (d, J=4,4 Гц, 3 H), 5,60 (quin, J=7,3 Гц, 1 H), 6,09 (s, 2 H), 7,24 (ddd, J=7,4, 4,8, 1,0 Гц, 1 H), 7,41-7,48 (m, 2 H), 7,65 (d, J=1,5 Гц, 1 H), 7,73 (td, J=7,7, 2,0 Гц, 1 H), 8,15 (d, J=7,9 Гц, 1 H), 8,24 (d, J=8,6 Гц, 1 H), 8,48-8,56 (m, 2 H)
28		¹ H ЯМР (400 МГц, DMSO-d ₆) δ ppm 1,60 (d, J=7,0 Гц, 3 H), 1,76-1,93 (m, 4 H), 3,37 (t, J=6,5 Гц, 2 H), 3,47 (t, J=6,8 Гц, 2 H), 5,60 (quin, J=7,2 Гц, 1 H), 6,10 (s, 2 H), 7,12 (dd, J=8,3, 1,7 Гц, 1 H), 7,22 (d, J=1,5 Гц, 1 H), 7,23-7,26 (m, 1 H), 7,44 (d, J=7,9 Гц, 1 H), 7,73 (td, J=7,7, 1,8 Гц, 1 H), 8,15 (d, J=7,9 Гц, 1 H), 8,23 (d, J=8,6 Гц, 1 H), 8,50-8,56 (m, 1 H)
29		¹ H ЯМР (400 МГц, DMSO-d ₆) δ ppm 2,33-2,42 (m, 3 H) 3,27 (s, 3 H) 3,64-3,80 (m, 2 H) 4,16-4,31 (m, 2 H) 4,69 (d, J=5,50 Гц, 2 H) 6,12 (s, 2 H) 6,21-6,29 (m, 1 H) 6,59 (d, J=7,48 Гц, 1 H) 6,82 (d, J=7,70 Гц, 1 H) 7,37 (t, J=8,25 Гц, 1 H) 8,37 (s, 1 H)
30		¹ H ЯМР (400 МГц, DMSO-d ₆) δ ppm 0,87 (t, J=7,26 Гц, 3 H) 1,23-1,38 (m, 2 H) 1,38-1,49 (m, 2 H) 1,54 (d, J=7,04 Гц, 3 H) 3,33-3,50 (m, 2 H) 5,38 (t, J=7,26 Гц, 1 H) 6,10 (s, 2 H) 7,05 (dd, J=7,04, 1,32 Гц, 1 H) 7,30 (dd, J=8,47, 1,21 Гц, 1 H) 7,48 (dd, J=8,36, 7,04 Гц, 1 H) 7,53 (dd, J=1,87, 0,77 Гц, 1 H) 7,68 (t, J=4,73 Гц, 1 H) 9,09 (d, J=1,98 Гц, 1 H) 9,39 (d, J=8,14 Гц, 1 H)
31		¹ H ЯМР (400 МГц, DMSO-d ₆) δ ppm 2,28-2,40 (m, 3 H) 3,90 (s, 3 H) 4,71 (d, J=5,94 Гц, 2 H) 6,21 (d, J=0,88 Гц, 1 H) 6,33 (br. s., 2 H) 6,46 (dd, J=8,80, 3,52 Гц, 1 H) 7,26 (dd, J=10,89, 8,69 Гц, 1 H) 8,49 (t, J=5,72 Гц, 1 H)

Таблиця II

Сполуки формули (I). Наступні сполуки синтезували згідно з одним із способів, описаних вище.

№	СТРУКТУРА	Н ЯМР
32		Дані відсутні

Способи очищення за допомогою SFC
Загальна процедура

- 5 Розділення надкритичною рідинною хроматографією (SFC) здійснювали з надкритичним CO₂ та модифікатором, який вказаний в таблиці, використовуючи колонку, яка вказана в таблиці.

Таблиця III

Сполуки формули (I). Наступні сполуки виділяли SFC-розділенням.

№	Колонка	Модифікатор
1	Chiralpak Diacel AS 20 × 250 мм	iPrOH з 0,2 % iPrNH ₂
2	Chiralpak Diacel AS 20 × 250 мм	MeOH з 0,2 % iPrNH ₂
3	Chiralpak Diacel AS 20 × 250 мм	iPrOH з 0,2 % iPrNH ₂
4	Chiralpak Diacel AD 30 × 250 мм	iPrOH з 0,2 % iPrNH ₂
5	Chiralpak Diacel AS 20 × 250 мм	iPrOH з 0,4 % iPrNH ₂
6	Chiralpak Diacel AS 20 × 250 мм	EtOH з 0,2 % iPrNH ₂
7	Chiralpak Diacel AS 20 × 250 мм	iPrOH з 0,2 % iPrNH ₂
8	Chiralpak Diacel AS 20 × 250 мм	iPrOH з 0,2 % iPrNH ₂
9	Chiralpak Diacel AD 30 × 250 мм	EtOH з 0,2 % iPrNH ₂
10	Chiralpak Diacel AS 20 × 250 мм	EtOH з 0,4 % iPrNH ₂
16	Chiralpak Diacel AD 30 × 250 мм	EtOH з 0,2 % iPrNH ₂
18	Chiralpak Diacel AS 20 × 250 мм	iPrOH з 0,2 % iPrNH ₂
20	Chiralpak Diacel AS 20 × 250 мм	EtOH з 0,2 % iPrNH ₂
21	Chiralpak Diacel AD 30 × 250 мм	EtOH з 0,2 % iPrNH ₂
25	Chiralpak Diacel AD 30 × 250 мм	MeOH з 0,4 % iPrNH ₂
26	Chiralpak Diacel AD 30 × 250 мм	EtOH з 0,2 % iPrNH ₂
27	Chiralpak Diacel AD 30 × 250 мм	MeOH з 0,4 % iPrNH ₂
28	Chiralpak Diacel AD 30 × 250 мм	EtOH з 0,4 % iPrNH ₂

Для всіх сполук першу елюйовану сполуку позначали як *R.

- 10 *R означає енантімерну чисту конфігурацію, абсолютна стереохімія якої невідома.

Аналітичні способи

Загальна процедура

- 15 Вимірювання під час високоефективної рідинної хроматографії (HPLC) проводили за допомогою насоса для LC, детектора на діодній матриці (DAD) або УФ-детектора та колонки, яка визначена у відповідних способах. За необхідності включали додаткові детектори (див. приведену нижче таблицю способів).

- 20 Потік з колонки направляли у мас-спектрометр (MS), який був обладнаний джерелом іонізації при атмосферному тиску. В компетенції спеціаліста у даній галузі знаходиться встановлення параметрів, що налаштовуються (наприклад, діапазону сканування, мінімального часу вимірювання тощо), з метою одержання іонів, що дають можливість визначення номінальної моноізотопної молекулярної ваги (MW) сполуки. Збір даних проводили за

допомогою відповідного програмного забезпечення.

Сполуки описують за їх експериментальним часом утримування (R_t) та іонами. Якщо не вказано інше, в таблиці даних, вказаний молекулярний іон відповідає $[M+H]^+$ (протонована молекула) та/або $[M-H]^-$ (депротонована молекула). У випадку, якщо сполука не була безпосередньо здатна до іонізації, вказують тип аддукта (тобто $[M+NH_4]^+$, $[M+HCOO]^-$, і т. д.). Для молекул зі складними ізотопними розподілами (Br, Cl тощо) описане значення є таким, яке одержано для найменшої ізотопної маси. Всі результати одержували з експериментальними похибками, які зазвичай пов'язані із застосуванням способом.

Далі у даному документі "SQD" означає окремий квадрупольний детектор, "MSD" означає мас-селективний детектор, "RT" означає кімнатну температуру, "БЕН" означає містковий гібрид етилсилоксан/діоксид кремнію, "DAD" означає детектор на діодній матриці, "HSS" означає діоксид кремнію підвищеної міцності.

Таблиця IV

Коди способів LCMS (потік виражений у мл/хв.; температура колонки (T) у °C; час аналізу у хвиликах)

Код способу	Прилад	Колонка	Рухома фаза	Гradient	Потік	Час аналізу
					Колонка T	
B7010B7014	Waters: Acquity® UPLC® DAD SQD	Waters: HSS T3 (1,8 мкм, 2,1*100 мм)	A: 95 % CH_3COONH_4 10 мМ + 5 % CH_3CN	Від 100 % А до 5 % А за 2,10 хв., до 0 % А за 0,90 хв., до 5 % А за 0,5 хв.	0,8	3,5
					55	
B8011B8002	Waters: Acquity® UPLC® DAD SQD	Waters: БЕН C18 (1,7 мкм, 2,1*50 мм)	A: 95 % CH_3COONH_4 10 мМ + 5 % CH_3CN	Від 95 % А до 5 % А за 1,3 хв., підтримання протягом 0,7 хв.	0,8	2
					55	
B9007B9008	Waters: Acquity® UPLC® DAD SQD	Waters: HSS T3 (1,8 мкм, 2,1*100 мм)	A: 95 % CH_3COONH_4 10 мМ + 5 % CH_3CN	Від 100 % А до 5 % А за 2,10 хв., до 0 % А за 0,90 хв., до 5 % А за 0,5 хв.	0,8	3,5
					55	

15

Таблиця V

Сполуки формули (I). Наступні сполуки характеризували згідно з одним із способів, описаних вище.

№	Код способу	Час утримування (хв.)	Одержана маса (M+H)
1	B7010B7014	0,61	266
2	B7010B7014	1,59	296
3	B9007B9008	1,61	350
4	B8011B8002	0,69	284
5	B7010B7014	1,39	280
6	B7010B7014	1,31	296
7	B8011B8002	0,78	300
8	B9007B9008	1,32	324
9	B9007B9008	1,29	284
10	B9007B9008	1,31	302
11	B8011B8002	0,69	274
12	B7010B7014	1,26	286
13	B8011B8002	0,64	274
14	B7010B7014	1,32	274
15	B8011B8002	0,77	325

Таблиця V

Сполуки формули (I). Наступні сполуки характеризували згідно з одним із способів, описаних вище.

№	Кодспособу	Час утримування (хв.)	Одержана маса (М+Н)
16	B8011B8002	0,62	299
17	B8011B8002	0,53	311
18	B8011B8002	0,79	284
19	B8011B8002	0,65	270
20	B8011B8002	0,84	310
21	B8011B8002	0,61	314
22	B8011B8002	0,56	323
23	B8011B8002	0,59	337
24	B8011B8002	0,70	365
25	B8011B8002	0,75	315
26	B8011B8002	0,69	365
27	B8011B8002	0,56	323
28	B8011B8002	0,66	363
29	B8011B8002	0,70	330
30	B9007B9008	1,04	286
31	B9007B9008	1,36	304
32	B9007B9008	1,46	348

- Біологічна активність сполук формули (I) Опис біологічних аналізів Оцінка активності TLR7 та TLR8
- Здатність сполук активувати TLR7 та/або TLR8 людини оцінювали в аналізі репортерного гена з використанням клітин HEK293, тимчасово трансфікованих вектором експресії TLR7 або TLR8 та репортерною конструкцією NFκB-luc. Коротко, клітини HEK293 вирощували у культуральному середовищі (DMEM, доповнене 10 % FCS і 2 мМ глутаміну). Для трансфекції клітин у 15-см чашках клітини відділяли трипсином-EDTA, трансфікували сумішшю плазміді CMV-TLR7 або TLR8 (1700 нг), плазміді NFκB-luc (850 нг) та трансфекційного реагенту та інкубували протягом 48 год. при 37 °C у зволоженій атмосфері 5 % CO₂. Трансфіковані клітини потім відмивали у PBS, відділяли трипсином-EDTA та ресуспендували у середовищі зі щільністю $1,25 \times 10^5$ клітин/мл. Сорочок мікролітрів клітин потім розподіляли в кожну лунку у 384-лункових планшетах, де вже містилось 200 нл сполуки у 100 % DMSO. Після 6 годин інкубації при 37 °C, 5 % CO₂, визначали люциферазну активність шляхом додавання 15 мкл субстрату Steady Lite Plus (Perkin Elmer) у кожну лунку і зчитували показники, одержані на пристрої для зчитування мікропланшетів ViewLux ultraHTS (Perkin Elmer). Криві залежності доза-ефект були побудовані на основі вимірювань, виконаних у чотирьох повтореннях. Для кожної сполуки визначали значення найнижчих ефективних концентрацій (LEC), що визначаються як концентрація, яка викликає ефект, який щонайменше у два рази перевищує допустиме відхилення аналізу. Токсичність сполук визначали паралельно з використанням однакових серій розведень сполуки - 40 мкл на лунку з клітинами, трансфікованими тільки конструкцією CMV-TLR7 ($1,25 \times 10^5$ клітин/мл), у 384-лункових планшетах. Життєздатність клітин вимірювали після 6 годин інкубування при 37 °C, 5 % CO₂ шляхом додавання 15 мкл ATP lite (Perkin Elmer) на лунку і зчитування показників пристроєм для зчитування мікропланшетів ViewLux ultraHTS (Perkin Elmer). Дані вказували як CC₅₀. Паралельно використовували подібні серії розведень сполуки (200 нл сполуки у 100 % DMSO) з 40 мкл на лунку клітин, трансфікованих тільки репортерною конструкцією NFκB-luc ($1,25 \times 10^5$ клітин/мл). Через шість годин після інкубації при 37 °C, 5 % CO₂, визначали люциферазну активність шляхом додавання 15 мкл субстрату Steady Lite Plus (Perkin Elmer) у кожну лунку і зчитували показання, одержані на пристрої для зчитування мікропланшетів ViewLux ultraHTS (Perkin Elmer). Данні зворотного скринінгу реєстрували як LEC. Активація промоторних елементів ISRE Здатність сполук індукувати IFN-I також оцінювали шляхом визначення активації інтерферон-залежних регуляторних елементів (ISRE) при використанні середовищ, що кондиціоновані PBMC. Елемент ISRE послідовності GAAACTGAAACT є високочутливим до фактору транскрипції STAT1-STAT2-IRF9, що активується при зв'язуванні IFN-I з його рецептором IFNAR (Clontech, PT3372-5W). Плазміді pISRE-Luc від Clontech (зразок 631913) містить 5 копій даного елементу ISRE, після якого розташовується ORF люциферази світляка. Одержували клітинну лінію HEK293, стабільно трансфіковану pISRE-Luc (HEK-ISREluc), для вирощування у середовищах, що кондиціоновані

- культурою клітин PBMC.Коротко, PBMC одержували з лейкоцитарних плівок від щонайменше двох донорів з використанням стандартного протоколу центрифугування з фіколом. Виділені PBMC ресуспендували у середовищі RPMI, доповненому 10 % сироваткою АВ людини, та 2×10^5 клітин/лунка розподіляли у 384-лункових планшетах, що містять сполуки (загальний об'єм 70 мкл). Після інкубації протягом ночі 10 мкл надосадової рідини переносили в 384-лункові планшети, що містять 5×10^3 HEK-ISREluc клітин/лунка у 30 мкл (висіяних за добу до цього). Після 24 годин інкубації активацію елементів ISRE визначали шляхом проведення аналізу люциферазної активності з використанням 40 мкл/лунка субстрату Steady Lite Plus (Perkin Elmer) і визначали за допомогою пристрою для зчитування мікропланшетів ViewLux ultraHTS (Perkin Elmer). Активність кожної сполуки щодо стимуляції клітин HEK-ISREluc відзначали у вигляді величини LEC, визначеної як концентрація сполуки, використовуваної щодо PBMC, яка обумовлює люциферазну активність, що перевищує щонайменше у два рази допустиме відхилення аналізу. LEC у свою чергу вказує на ступінь активації ISRE при переносі певної кількості культурального середовища PBMC. Рекombінантний інтерферон α -2a (Roferon-A) використовували як стандартну контрольну сполуку.

Таблиця VI

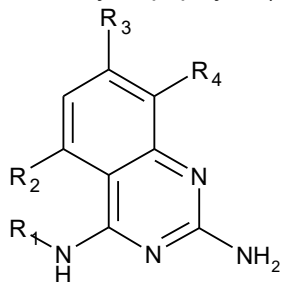
БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ

№	TLR 7 людини (LEC), мкМ	TLR 8 людини (LEC), мкМ	HEK-ISRE luc (LEC), мкМ
1	0,72	>25	0,61
2	0,94	>25	0,49
3	0,76	>25	0,47
4	0,92	19,8	0,59
5	0,53	14,7	0,11
6	3,75	>25	0,64
7	0,82	16,4	0,38
8	4,94	NA	2,11
9	5,21	>25	1,68
10	0,42	12,3	0,11
11	0,45	3,09	0,082
12	0,047	1,94	0,036
13	0,46	5,22	0,12
14	0,65	>25	0,13
15	0,61	>25	0,56
16	2,44	9,14	0,55
17	0,83	5,51	0,16
18	8,25	24,3	7,83
19	0,11	1,74	0,051
20	1,46	>25	0,62
21	6,1	8,85	0,54
22	14,7	>25	2,20
23	6,67	>25	1,62
24	14,3	11,0	1,75
25	1,95	6,62	0,49
26	2,14	>25	7,33
27	8,24	>25	5,04
28	2,24	>25	1,57
29	0,082	8,15	NA
30	0,63	9,0	0,14
31	0,74	>25	0,46
32	NA	NA	NA

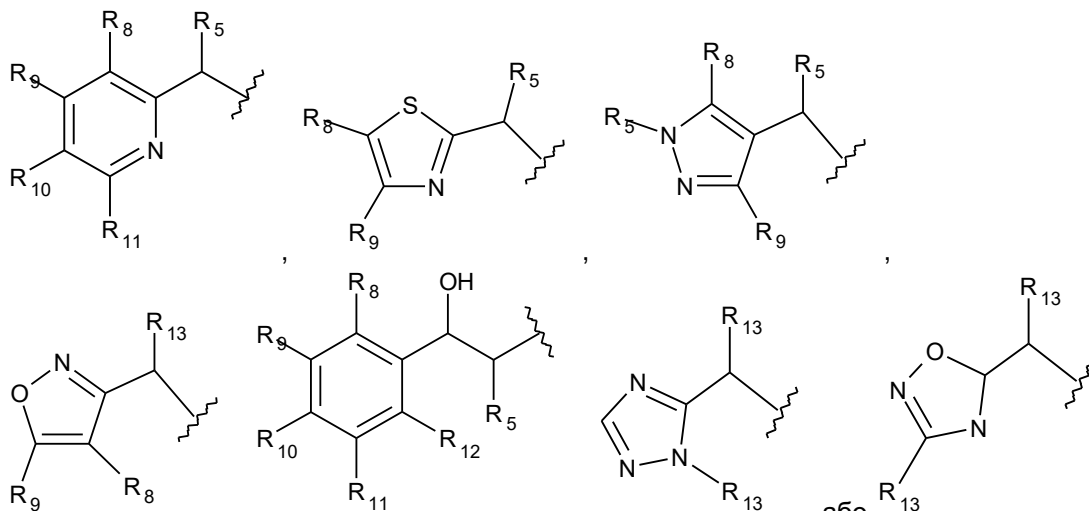
- 20 NA = дані відсутні. Всі сполуки показали відсутність токсичності аж до найвищої концентрації, що тестувалась. Всі сполуки показали відсутність активності (LEC >25 мкМ) в аналізі зворотного скринінгу на HEK 293 NF- κ B, описаному вище. За дорученням патентний повірений Н.М. Мошинська/переклад наданий заявником.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Сполука формули (I)



- 5 або її фармацевтично прийнятна сіль, де R_1 являє собою будь-яку з наступних структур:



- 10 R_2 являє собою водень, $-\text{O}-(\text{C}_{1-3})$ -алкіл, галоген, (C_{1-3}) -алкіл, $-\text{O}-(\text{C}_{1-3})$ -алкіл- $\text{O}-(\text{C}_{1-3})$ -алкіл або CH_2OH ;
 R_3 являє собою водень, $-\text{O}-(\text{C}_{1-3})$ -алкіл, галоген, (C_{1-3}) -алкіл або $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_7$, де R_7 являє собою $-\text{O}-(\text{C}_{1-3})$ -алкіл, NH_2 , $\text{NH}(\text{CH}_3)$, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$, $\text{N}(\text{CH}_3)(\text{C}_{1-3})$ -алкіл, $\text{N}((\text{C}_{1-3})\text{-алкіл})_2$ або піролідін;
 R_4 являє собою водень або фтор;
15 R_5 являє собою (C_{1-3}) -алкіл, (C_{1-3}) -фтор алкіл або CH_2OH ;
 R_6 являє собою NH_2 , $\text{NH}(\text{CH}_3)$ або $\text{N}(\text{CH}_3)_2$, (гетеро)-аніліни, необов'язково заміщені одним або декількома з $\text{R}_8, \text{R}_9, \text{R}_{10}, \text{R}_{11}$ або R_{12} , або (гетеро)-бензиламіни, необов'язково заміщені одним або декількома з $\text{R}_8, \text{R}_9, \text{R}_{10}, \text{R}_{11}$ або R_{12} ,
кожен з $\text{R}_8, \text{R}_9, \text{R}_{10}, \text{R}_{11}$ та R_{12} , які є однаковими або різними, незалежно вибраний з водню, (C_{1-3}) -алкілу, $-\text{O}-(\text{C}_{1-3})$ -алкілу або галогену;
20 та
 R_{13} являє собою водень, (C_{1-3}) -алкіл або (C_{1-3}) -фтор алкіл.
2. Фармацевтична композиція, що містить сполуку формули (I) або її фармацевтично прийнятну сіль за п. 1 разом з одним або декількома фармацевтично прийнятними наповнювачами, розріджувачами або носіями.
25 3. Сполука формули (I) або її фармацевтично прийнятна сіль за п. 1 або фармацевтична композиція за п. 2 для застосування як лікарського препарату.
4. Сполука формули (I) або її фармацевтично прийнятна сіль за п. 1 або фармацевтична композиція за п. 2 для застосування при лікуванні порушення, до якого залучена модуляція
30 TLR7 та/або TLR8.

Комп'ютерна верстка О. Рябко

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601