

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **201590667** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки  
**2015.07.30**

(22) Дата подачи заявки  
**2013.10.03**

(51) Int. Cl. **C07D 213/75** (2006.01)  
**A61K 31/505** (2006.01)  
**A61P 31/12** (2006.01)  
**C07D 239/48** (2006.01)

---

(54) **АЦИЛАМИНОПИРИМИДИНОВЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ И ДРУГИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

---

(31) **12187519.9**

(32) **2012.10.05**

(33) **EP**

(86) **PCT/EP2013/070619**

(87) **WO 2014/053595 2014.04.10**

(71) Заявитель:

**ЯНССЕН САЙЕНСИЗ АЙРЛЭНД  
ЮСи (IE)**

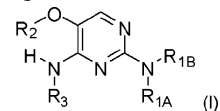
(72) Изобретатель:

**Мак Гоуен Дэвид Крейг (BE),  
Питерс Серж Мария Алоисиус (NL),  
Эмбрехте Вернер, Ласт Стефан  
Жюльен, Йонкерс Тим Хьюго Мария,  
Рабуассон Пьер Жан-Мари Бернар  
(BE)**

(74) Представитель:

**Медведев В.Н. (RU)**

(57) Настоящее изобретение относится к ациламинопиримидиновым производным, способам их получения, фармацевтическим композициям и их применению в терапии.



**201590667**  
**A1**

**201590667**  
**A1**

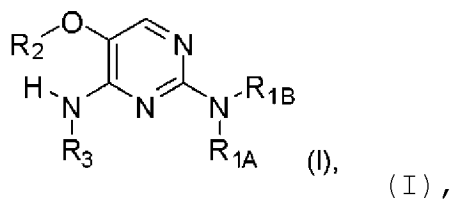
**АЦИЛАМИНОПИРИМИДИНОВЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ВИРУСНЫХ  
ИНФЕКЦИЙ И ДРУГИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

Настоящее изобретение относится к ациламинопиримидиновым производным, способам их получения, фармацевтическим композициям и их применению в терапии.

Настоящее изобретение относится к применению ациламинопиримидиновых производных в лечении вирусных инфекций, иммунных нарушений и рака, или в качестве вакцинного адъюванта, при которых необходима индукция интерферона. При лечении определенных вирусных инфекций могут применяться регулярные инъекции интерферона (IFN-типа 1), как в случае с вирусом гепатита С (HCV). Дополнительную информацию см. в документе Fried et. al. Peginterferon-alfa plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection, *N Engl J Med* 2002; 347: 975-82. Низкомолекулярные индукторы IFN, доступные для перорального применения, представляют потенциальные преимущества в виде сниженной иммуногенности и удобства введения. Таким образом, новые индукторы IFN представляют собой потенциально эффективный новый класс лекарственных средств для лечения вирусных инфекций. Пример низкомолекулярного индуктора IFN, обладающего антивирусным эффектом, см. в литературном источнике De Clercq, E.; Descamps, J.; De Somer, P. *Science* **1978**, 200, 563-565.

Однако, существует острая потребность в новых индукторах интерферона, обладающих улучшенным профилем безопасности по сравнению с соединениями, известными в настоящее время.

В соответствии с настоящим изобретением представлено соединение формулы (I),



или его фармацевтически приемлемая соль, сольват или полиморф, где

R<sub>1A</sub> выбран из группы водорода, замещенного или

незамещенного ацила или ацилоксигруппы,

$R_{1B}$  выбран из группы водорода, замещенного или незамещенного ацила или ацилоксигруппы,

при условии, что как  $R_{1A}$ , так и  $R_{1B}$  не представляют собой водород,

$R_2$  представляет собой  $C_{1-6}$ алкил,  $C_{1-6}$  алкокси, арилалкил или гетероарилалкил, каждый из которых необязательно замещен одним или несколькими заместителями, независимо выбранными из галогена, гидроксила, амино, ди- ( $C_{1-6}$ ) алкиламино,  $C_{1-6}$ алкиламино,  $C_{1-6}$ алкила,  $C_{1-6}$ алкокси,  $C_{3-6}$ циклоалкила, карбоновой кислоты, сложного эфира карбоновой кислоты, амида карбоновой кислоты, гетероцикла, бициклического гетероцикла, арила, алкенила, алкинила, арилалкила, гетероарила, гетероарилалкила или нитрила, и

$R_3$  представляет собой  $C_{1-8}$ алкил или арилалкил, каждый из которых необязательно замещен одним или несколькими заместителями, независимо выбранными из галогена, гидроксила, амино,  $C_{1-6}$ алкила, ди- ( $C_{1-6}$ ) алкиламино,  $C_{1-6}$ алкиламино,  $C_{1-6}$ алкокси,  $C_{3-6}$ циклоалкила, карбоновой кислоты, сложного эфира ароматической или алифатической карбоновой кислоты, амида карбоновой кислоты, гетероцикла, арила, алкенила, алкинила, арилалкила, гетероарила, гетероарилалкила или нитрила.

В первом варианте осуществления настоящее изобретение предусматривает соединения формулы (I), где  $R_{1A}$  и/или  $R_{1B}$  представляют собой замещенный или незамещенный ацил, и где  $R_2$  представляет собой  $C_{1-6}$ алкил, предпочтительно  $-CH_3$ , и  $R_3$  представляет собой  $C_{1-8}$ алкил, замещенный сложным алкилэфиром.

Во втором варианте осуществления настоящее изобретение предусматривает соединения формулы (I), где  $R_{1A}$  и/или  $R_{1B}$  представляют собой изобутирил, и где  $R_2$  представляет собой  $-CH_3$ , и  $R_3$  представляет собой гептан-3-ил-изобутират.

Соединения формулы (I) в любой стереохимической форме и их фармацевтически приемлемая соль, сольват или полиморф обладают активностью в качестве фармацевтических препаратов, в частности, индукторов интерферона.

Таким образом, в дополнительном аспекте настоящее

изобретение предусматривает фармацевтическую композицию, содержащую соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль, сольват или полиморф вместе с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми наполнителями, разбавителями или носителями.

Кроме того, соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль, сольват или полиморф в соответствии с настоящим изобретением или фармацевтическую композицию, содержащую указанное соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль, сольват или полиморф, можно применять в качестве лекарственного препарата.

Другой аспект настоящего изобретения заключается в том, что соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль, сольват или полиморф, или указанную фармацевтическую композицию, содержащую указанное соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль, сольват или полиморф, можно применять соответствующим образом в лечении нарушения, в которое вовлечена индукция интерферона.

Термин «алкил» относится к насыщенному алифатическому углеводороду с неразветвленной цепью или разветвленной цепью, содержащему определенное количество атомов углерода.

Термин «галоген» относится к фтору, хлору, бром или йоду.

Термин «ацил» относится к группе, определяемой как  $-(C=O)R$ , где R представляет собой замещенный или незамещенный алкил, циклоалкил, арил, гетероарил.

Термин «ацилокси» относится к группе, определяемой как  $-(C=O)OR$ , где R представляет собой замещенный или незамещенный алкил, циклоалкил, арил, гетероарил.

Термин «алкенил» относится к алкилу, определяемому выше и содержащему по меньшей мере два атома углерода и по меньшей мере одну углерод-углеродную двойную связь.

Термин «алкинил» относится к алкилу, определяемому выше и содержащему по меньшей мере два атома углерода и по меньшей мере одну углерод-углеродную тройную связь.

Термин «циклоалкил» относится к карбоциклическому кольцу, содержащему определенное количество атомов углерода.

Термин «алкокси» относится к алкильной группе (цепи из атомов углерода и водорода), присоединенной при помощи одинарной связи к кислороду (например, метоксигруппа или этоксигруппа).

Термин «арил» означает ароматическую кольцевую структуру, необязательно содержащую один или два гетероатома, выбранные из N, O и S, в частности, из N и O. Указанная ароматическая кольцевая структура может содержать 5, 6 или 7 кольцевых атомов. В частности, указанная ароматическая кольцевая структура может содержать 5 или 6 кольцевых атомов.

Термин «бициклический гетероцикл» означает ароматическую кольцевую структуру, определяемую для термина «арил», содержащую два конденсированных ароматических кольца. Каждое кольцо необязательно содержит гетероатомы, выбранные из N, O и S, в частности, из N и O.

Термин «арилалкил» означает ароматическую кольцевую структуру, определяемую в отношении термина «арил», необязательно замещенную алкильной группой.

Термин «гетероарилалкил» означает ароматическую кольцевую структуру, определяемую для термина «гетероарил», необязательно замещенную алкильной группой.

«Гетероцикл» относится к молекулам, которые являются насыщенными или частично насыщенными и включают этилоксид, тетрагидрофуран, диоксан или другие циклические простые эфиры. Гетероциклы, содержащие азот, включают, например, азетидин, морфолин, пиперидин, пиперазин, пирролидин и т.п. Другие гетероциклы включают, например, тиоморфолин, диоксолинил и циклические сульфоны.

«Гетероарильные» группы представляют собой гетероциклические группы, которые по своей природе являются ароматическими. Они являются моноциклическими, бициклическими или полициклическими, содержащими один или несколько гетероатомов, выбранных из N, O или S. Гетероарильные группы могут представлять собой, например, имидазолил, изоксазолил, фурил, оксазолил, пирролил, пиридонил, пиридил, пиридазинил, пиазинил.

Фармацевтически приемлемые соли соединений формулы (I) включают их соли присоединения кислоты и основные соли. Подходящие соли присоединения кислоты образуются из кислот, которые образуют нетоксичные соли. Подходящие основные соли образуются из оснований, которые образуют нетоксичные соли.

Соединения по настоящему изобретению также могут существовать в несольватированной и сольватированной формах. Термин «сольват» применяется в данном документе для описания молекулярного комплекса, содержащего соединение по настоящему изобретению и одну или несколько молекул фармацевтически приемлемого растворителя, например, этанола.

Термин «полиморф» относится к способности соединения по настоящему изобретению существовать в более чем одной форме или кристаллической структуре.

Соединения по настоящему изобретению можно вводить в виде кристаллических или аморфных продуктов. Они могут быть получены, например, в виде твердой прессованной массы, порошков или пленок посредством таких способов, как осаждение, кристаллизация, лиофильная сушка, распылительная сушка или сушка выпариванием. Их можно вводить отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими соединениями по настоящему изобретению или в комбинации с одним или несколькими другими лекарственными средствами. В основном, они будут вводиться в виде состава в сочетании с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми наполнителями. Термин «наполнитель» применяется в данном документе для описания любого ингредиента, отличного от соединения (й) по настоящему изобретению. Выбор наполнителя в большей степени зависит от таких факторов, как конкретный способ введения, влияние наполнителя на растворимость и стабильность и природа лекарственной формы.

Соединения по настоящему изобретению или любая их подгруппа могут быть составлены в различные фармацевтические формы для целей введения. В качестве подходящих композиций могут быть упомянуты все композиции, обычно используемые для системного введения лекарственных средств. Для получения фармацевтических композиций по настоящему изобретению

эффективное количество конкретного соединения, необязательно в форме соли присоединения, в качестве активного ингредиента объединяют в однородную смесь с фармацевтически приемлемым носителем, при этом носитель может принимать широкое разнообразие форм в зависимости от формы препарата, требуемого для введения. Данные фармацевтические композиции желательно находятся в виде единичной лекарственной формы, подходящей, например, для перорального, ректального или чрескожного введения. Например, при получении композиций в виде пероральной лекарственной формы можно использовать любую общепринятую фармацевтическую среду, такую как, например, вода, гликоли, масла, спирты и т.п., в случае пероральных жидких препаратов, таких как суспензии, сиропы, эликсиры, эмульсии и растворы; или твердые носители, такие как крахмалы, сахара, каолин, разбавители, смазывающие вещества, связующие вещества, разрыхлители и т.п., в случае порошков, пиллюль, капсул и таблеток. Благодаря простоте их введения таблетки и капсулы представляют собой наиболее предпочтительные пероральные формы единиц дозирования, в случае которых, разумеется, применяют твердые фармацевтические носители. Также включены препараты в твердой форме, которые незадолго до применения могут быть превращены в препараты в жидкой форме. В композициях, подходящих для чрескожного введения, носитель необязательно включает средство, способствующее проникновению, и/или подходящее смачивающее средство, необязательно в комбинации с подходящими добавками любой природы в минимальных пропорциях, при этом добавки не оказывают значительного вредного воздействия на кожу. Указанные добавки могут облегчать введение в кожу и/или могут быть полезными при получении необходимых композиций. Данные композиции можно вводить различными путями, например, в форме трансдермального пластыря, в форме точечного нанесения, в форме мази. Соединения по настоящему изобретению также могут вводиться посредством ингаляции или инсуффляции при помощи способов и составов, используемых в данном уровне техники для введения таким путем. Таким образом, в основном соединения по настоящему изобретению можно вводить в легкие в

форме раствора, суспензии или сухого порошка.

Особенно предпочтительно составление вышеуказанных фармацевтических композиций в виде единичной лекарственной формы для простоты введения и равномерности дозирования. Единичная лекарственная форма, применяемая в данном документе, относится к физически отдельным единицам, подходящим в качестве однократных доз, при этом каждая единица содержит предварительно установленное количество активного ингредиента, рассчитанное для получения необходимого терапевтического эффекта, в сочетании с необходимым фармацевтическим носителем. Примерами таких единичных лекарственных форм являются таблетки (включая делимые таблетки или таблетки, покрытые оболочкой), капсулы, пилюли, пакетики с порошком, пластинки, суппозитории, инъекционные растворы или суспензии и т.п., а также их отдельные множества.

Специалисты в области лечения инфекционных заболеваний смогут определить эффективное количество, исходя из результатов тестов, представленных далее в данном документе. В целом, предполагается, что эффективное суточное количество будет составлять от 0,01 мг/кг до 50 мг/кг массы тела, более предпочтительно от 0,1 мг/кг до 10 мг/кг массы тела. Может быть целесообразным введение необходимой дозы в виде двух, трех, четырех или более частей дозы при соответствующих интервалах в течение дня. Указанные части дозы могут быть составлены в виде единичных лекарственных форм, например, содержащих от 1 до 1000 мг и, в частности, от 5 до 200 мг активного ингредиента на единичную лекарственную форму.

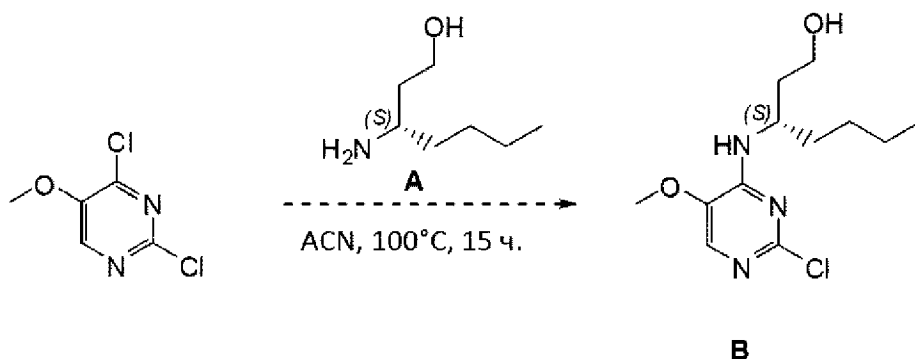
Точная дозировка и частота введения зависят от конкретного применяемого соединения формулы (I), конкретного состояния, лечение которого осуществляют, тяжести состояния, подлежащего лечению, возраста, веса и общего физического состояния конкретного пациента, а также другой лекарственной терапии, которую может получать индивидуум, что хорошо известно специалистам в данной области. Более того, очевидно, что эффективное количество может быть уменьшено или увеличено в зависимости от реакции подвергнутого лечению субъекта и/или в



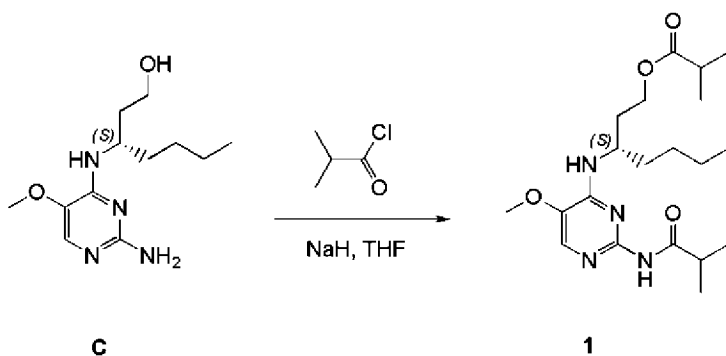
зависимости от оценки врача, назначающего соединения по настоящему изобретению. Таким образом, вышеупомянутые диапазоны эффективного количества являются только рекомендациями и не предназначены для ограничения в той или иной мере объема или применения настоящего изобретения.

### Экспериментальная часть

#### Получение соединения 1

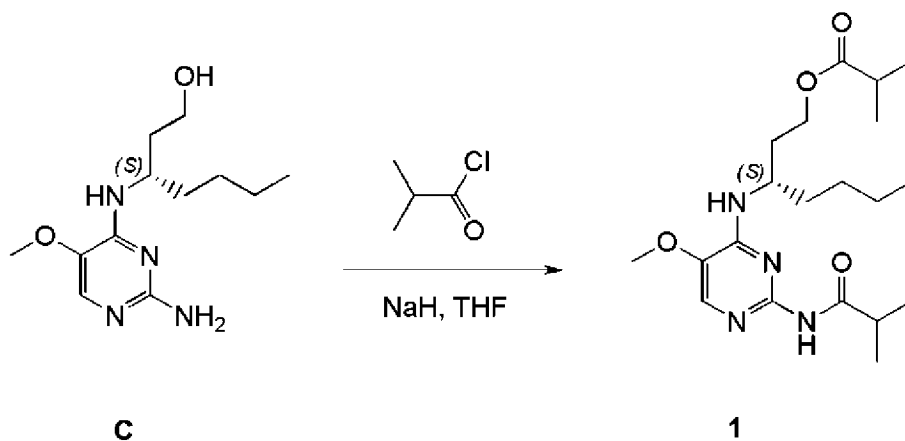


В 50 мл сосуд, оснащенный магнитной мешалкой, помещали 2,4-дихлор-5-метоксипиримидин (2,0 г, 11,7 ммоль) и ацетонитрил (20 мл), диизопропилэтиламин (3,02 г, 23,4 ммоль) и (S)-3-аминогептанол (4,59 г, 35,1 ммоль). Обеспечивали перемешивание реакционной смеси в течение 15 часов при комнатной температуре. Растворители удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле с использованием градиента дихлорметан/10% метанола в дихлорметане. Самые лучшие фракции объединяли и растворители удаляли при пониженном давлении с получением белого твердого вещества, **B**.



В толстостенный стеклянный сосуд, оснащенный магнитной мешалкой, добавляли **B** (1 г, 3,66 ммоль),  $\text{NH}_3$  (10 мл, водн.),

бикарбонат аммония (3,34 г, 42,3 ммоль) и оксид меди(I) (121 мг, 0,85 ммоль). Сосуд герметизировали и помещали в масляную баню и нагревали до 150°C в течение 15 часов. Реакционную смесь экстрагировали дихлорметаном (3×25 мл), органические слои объединяли и сушили над сульфатом магния. Твердые вещества удаляли с помощью фильтрации и растворители фильтрата удаляли при пониженном давлении. Неочищенный **С** очищали при помощи HPLC.



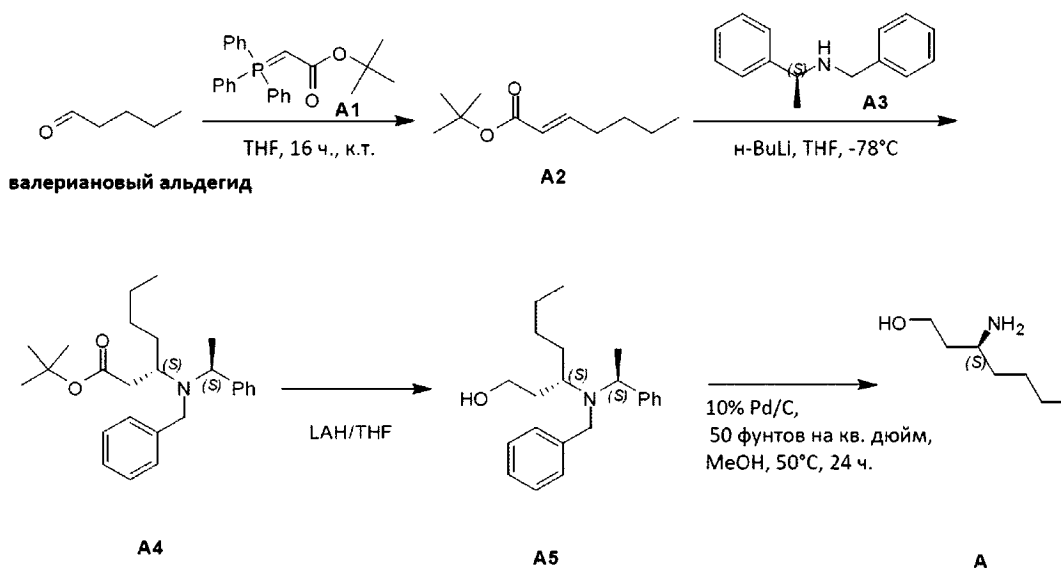
**С** (463 мг, 1,82 ммоль) растворяли в THF (13 мл) и охлаждали до -78°C. Одной порцией добавляли NaH (145 мг, 3,64 ммоль, 60% дисперсия в минеральном масле) и перемешивали при -78°C в течение 30 минут. По каплям добавляли изобутирилхлорид (389 мкл, 3,64 ммоль) при -78°C и перемешивали в течение 10 минут. Охлаждающую ванну удаляли и смеси давали нагреться до комнатной температуры. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 минут. Смесь гасили водой и концентрировали *in vacuo*. Остаток очищали при помощи HPLC (RP Vydac Denali C18 10 мкм, 200 г, 5 см, подвижная фаза 0,25% раствор NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> в воде, ацетонитрил), необходимые фракции собирали и растворители удаляли при пониженном давлении с получением чистого продукта.

LC-MS масса/заряд = 395 (M+H), время удерживания 1,1 минуты, LC способ А.

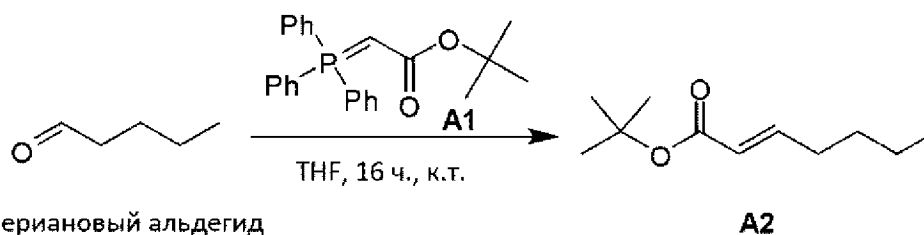
<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>) δ м.д. 0,83 (т, J=6,90 Гц, 3H), 0,98-1,07 (м, 12H), 1,16-1,35 (м, 4H), 1,44-1,62 (м, 2H), 1,84 (кв., J=6,78 Гц, 2H), 2,45 (spt, J=7,00 Гц, 1H), 2,96 (ушир.с, 1H), 3,80 (с, 3H), 3,92-4,07 (м, 2H), 4,18-4,31 (м, 1H), 6,69

(д,  $J=9,03$  Гц, 1H), 7,60 (с, 1H), 9,49 (с, 1H).

### Схема синтеза для получения А



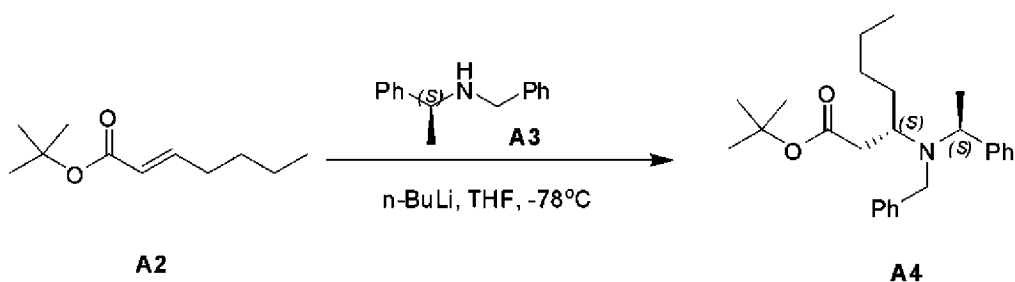
### Получение A2



К раствору валерианового альдегида (43 г, 500 ммоль) в THF (1 л) добавляли **A1** (200 г, 532 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение 16 часов при комнатной температуре. Растворители выпаривали и остаток разбавляли петролейным эфиром и отфильтровывали. Растворители фильтрата удаляли при пониженном давлении и остаток очищали посредством хроматографии на силикагеле с применением градиента петролейный эфир/3% этилацетат в петролейном эфире с получением **A2** (90 г) в виде бесцветного масла.

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  м.д. 6,81–6,77 (м, 1H), 5,68–5,64 (тд,  $J=1,2$  Гц, 15,6 Гц, 1H), 2,11–2,09 (м, 2H), 1,41 (с, 9H), 1,38–1,26 (м, 4H), 0,85–0,81 (т,  $J=7,2$  Гц, 3H).

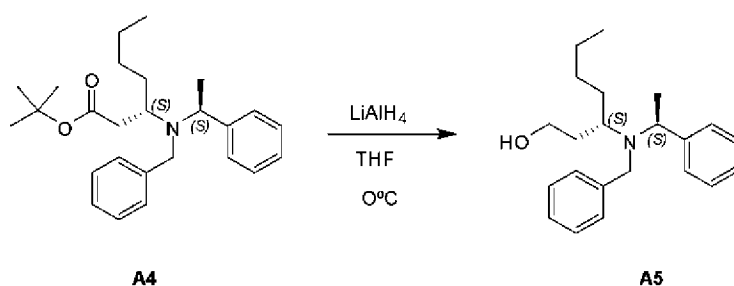
### Получение соединения A4



*n*-Бутиллитий (290 мл, 725 ммоль) добавляли к перемешанному раствору **A3** (165 г, 781 ммоль) в THF (800 мл) при  $-78^\circ\text{C}$ . Реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут, затем добавляли **A2** (90 г, 488,4 ммоль) в THF (400 мл) и реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов при  $-78^\circ\text{C}$ . Смесь погасили нас. водн. раствором  $\text{NH}_4\text{Cl}$  и нагревали до комнатной температуры. Продукт разделили между этилацетатом и водой. Органическую фазу промывали солевым раствором, высушивали и выпаривали. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии с элюированием 5% этилацетатом в петролейном эфире с получением бесцветного масла, **A4** (132 г).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  м.д. 7,36–7,16 (м, 10H), 3,75–3,70 (м, 2H), 3,43–3,39 (д,  $J=15,2$  Гц, 1H), 3,33–3,15 (м, 1H), 1,86–1,80 (м, 2H), 1,47–1,37 (м, 2H), 1,32 (с, 9H), 1,26–1,17 (м, 7H), 0,83–0,79 (т,  $J=7,2$  Гц, 3H).

#### Получение A5

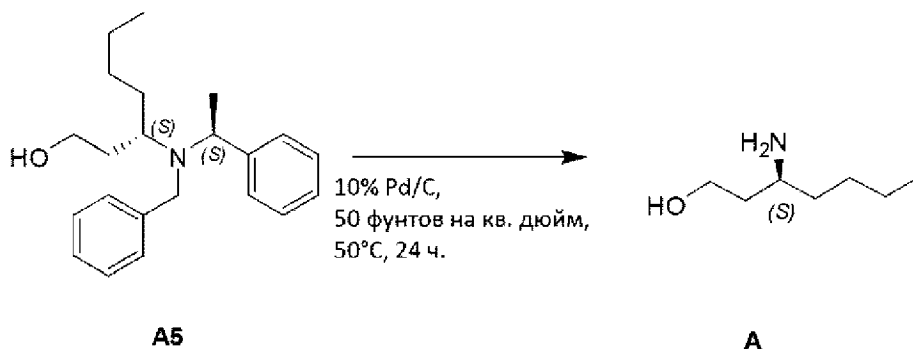


**A4** (130 г, 328 ммоль) растворяли в THF (1,5 л) и добавляли небольшими порциями ЛАН (20 г, 526 ммоль) при  $0^\circ\text{C}$ . Полученную смесь перемешивали при такой же температуре в течение 2 часов и затем оставляли нагреться до комнатной температуры. Смесь погасили нас. водн. раствором  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . Продукт разделили между этилацетатом и водой. Органическую фазу промывали солевым раствором, высушивали и выпаривали. Объединенные органические

слои высушивали над сульфатом натрия, твердые вещества удаляли с помощью фильтрации и концентрировали с получением неочищенного **A5** (100 г), применяемого на следующей стадии без дополнительной очистки.

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  м.д. 7,33-7,14 (м, 10H), 3,91-3,86 (м, 1H), 3,80-3,77 (д,  $J=13,6$  Гц, 1H), 3,63-3,60 (д,  $J=13,6$  Гц, 1H), 3,43-3,42 (м, 1H), 3,15-3,10 (м, 1H), 2,70-2,63 (м, 2H), 1,65-1,28 (м, 10H), 0,89-0,81 (м, 3H).

#### Получение **A**



Раствор **A5** (38 г, 116,75 ммоль) и 10% Pd/C в метаноле (200 мл) гидрогенизировали при давлении водорода 50 фунтов на кв. дюйм при  $50^\circ\text{C}$  в течение 24 часов. Реакционную смесь фильтровали и растворитель выпаривали с получением **A**.

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  м.д. 8,04 (с, 3H), 3,60-3,49 (м, 2H), 3,16-3,15 (м, 1H), 1,71-1,67 (м, 2H), 1,60-1,55 (м, 2H), 1,33-1,26 (м, 4H), 0,90-0,87 (т,  $J=6,8$  Гц, 3H).

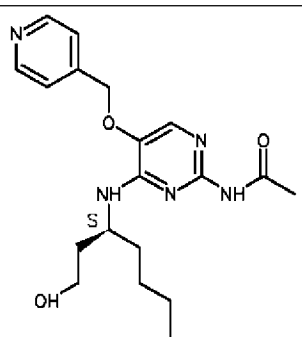
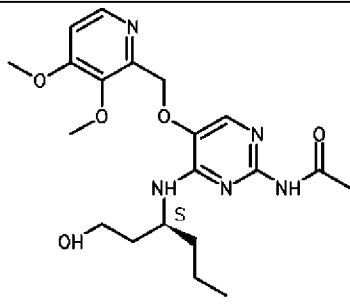
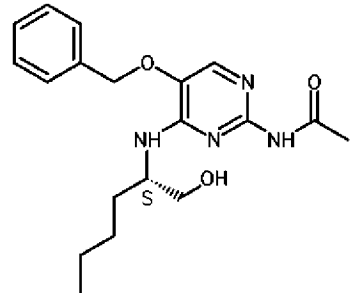
#### Аналитический способ

Характеристики соединений 1-8 в таблице были получены при помощи LC-MS в соответствии со следующим способом LC-MS.

Обращенно-фазовую UPLC (сверхэффективную жидкостную хроматографию) проводили на колонке C18 с мостиковым гибридом этилсилоксан/диоксид кремния (BEH) (1,7 мкм, 2,1×50 мм; Waters Acquity) при скорости потока 0,8 мл/минута. Две подвижные фазы (10 мМ ацетат аммония в  $\text{H}_2\text{O}$ /ацетонитрил 95/5; подвижная фаза B: ацетонитрил) применяли для выполнения условия градиента от 95% A и 5% B до 5% A и 95% B за 1,3 минуты при удерживании в течение 0,7 минуты. Применяли объем введенной пробы 0,75 мкл. Напряжение конуса составляло 30 В для режима положительной

ионизации и 30 В для режима отрицательной ионизации.

	СТРУКТУРА	Масса, точное значение	Получен ное значение массы [M+H]	LC-MS, время удержива ния (мин)
1		394,5	395	1,1
2		324,2	325	0,83
3		358,2	359	0,88
4		372,2	373	0,94
5		314,2	315	1,2

6		373,2	374	0,7
7		419,2	420	0,73
8		358,2	359	0,89

#### Получение IFN- $\alpha$ и повышение экспрессии мРНК CXCL10 *in vivo*

Потенциальную возможность соединений индуцировать получение IFN- $\alpha$  и повышение экспрессии мРНК CXCL10 *in vivo* оценивали после перорального введения в мышей C57BL/6. Количество IFN- $\alpha$  в системном кровотоке отслеживали в динамике по времени с использованием ELISA всех мышинных IFN- $\alpha$  (PBL InterferonSource, номер 42120). Этот ELISA распознает все подтипы мышинных IFN- $\alpha$ . CXCL10 представляет собой стимулируемый интерфероном ген (ISG), экспрессия которого существенно индуцируется при связывании IFN-I с рецептором IFNAR (рецептор интерферона альфа). Уровни экспрессии мРНК CXCL10 отслеживали при помощи RT-qPCR.

Для каждого исследуемого соединения и дозы проводили тесты на 3 самках мышей C57BL/6J, возрастом 6-10 недель, с массой тела 20-22 г. Животным давали соединение 1 как однократную пероральную дозу из расчета 15,5 мг/кг в виде раствора с

концентрацией 1,55 мг/мл в 20% водной гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстриновой среде с использованием питательной трубки. Через 0,5, 1, 2, 4 и 7 часов после введения дозы кровь из системного кровотока отбирали из хвостовой вены в пробирки, содержащие K-EDTA. Плазму отделяли от клеток крови при помощи центрифугирования при 1500 г, 10 мин, 4°C и хранили при -80°C перед анализом ELISA. Чтобы оценить эффективность соединения для каждой точки времени рассчитывали медиану и стандартное отклонение для 3 животных.

Кровь также отбирали из хвостовой вены в микропробирки, содержащие 500 мкл раствора PAXgene (пробирки PAXgene blood RNA tube от PreAnalytix). После инкубации на протяжении ночи при комнатной температуре, пробирки хранили при -20°C перед полной экстракцией РНК при помощи набора PAXgene 96 Blood RNA kit (PreAnalytix). Очищенную РНК подвергали обратной транскрипции с использованием случайных 6-мерных праймеров (набор High-Capacity cDNA Archive kit, Applied Biosystems). Уровни мРНК CXCL10 определяли при помощи технологии Taqman qPCR (Taqman universal PCR master mix, нет UNG AmpErase и Taqman Gene Expression assay Mm00445235\_m1 от Applied Biosystems) на системе для проведения быстрой ПЦР в реальном времени 7900HT (Applied Biosystems). Уровни мРНК HPRT1 (гипоксантинфосфорибозилтрансфераза 1) использовали как эндогенный контроль (Mm01545399\_m1). Для оценки регуляции экспрессии CXCL10 при помощи соединения в сравнении с контролем средой применяли способ  $\Delta\Delta C_t$  (для относительной количественной оценки). Чтобы оценить эффективность соединений для каждой точки времени рассчитывали медиану и стандартное отклонение для 3 животных.

#### **Фигуры**

Фигура 1. Уровни интерферона, измеренные в печени (А) и в плазме (В) мышей после однократного перорального введения **соединения 1** из расчета 15,5 мг/кг.

Фигура 2. Экспрессия CXCL10, измеренная в печени (С)\* и в крови (D) мышей после однократного перорального **введения**



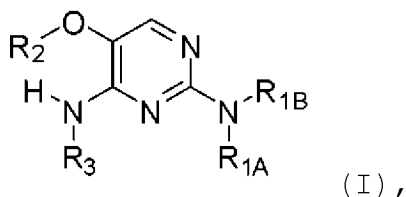
**соединения 1** из расчета 15,5 мг/кг.

*\*один образец, полученный в момент времени 4 ч., был удален из-за высокого значения HPRT1*

Индукцию эндогенного *интерферона* и повышение экспрессии CXCL10 наблюдали в печени и крови/плазме мышей после перорального введения однократной дозы соединения **1**.

**ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ**

1. Соединение формулы (I),



или его фармацевтически приемлемая соль, сольват или полиморф, где

R<sub>1A</sub> выбран из группы водорода, замещенного или незамещенного ацила или ацилоксигруппы,

R<sub>1B</sub> выбран из группы водорода, замещенного или незамещенного ацила или ацилоксигруппы,

при условии, что R<sub>1A</sub> и R<sub>1B</sub> не представляют собой водород одновременно,

R<sub>2</sub> представляет собой C<sub>1-6</sub>алкил, C<sub>1-6</sub>алкокси, арилалкил или гетероарилалкил, каждый из которых необязательно замещен одним или несколькими заместителями, независимо выбранными из галогена, гидроксила, амино, ди-(C<sub>1-6</sub>) алкиламино, C<sub>1-6</sub>алкиламино, C<sub>1-6</sub>алкила, C<sub>1-6</sub>алкокси, C<sub>3-6</sub>циклоалкила, карбоновой кислоты, сложного эфира карбоновой кислоты, амида карбоновой кислоты, гетероцикла, бициклического гетероцикла, арила, алкенила, алкинила, арилалкила, гетероарила, гетероарилалкила или нитрила, и

R<sub>3</sub> представляет собой C<sub>1-8</sub>алкил или арилалкил, каждый из которых необязательно замещен одним или несколькими заместителями, независимо выбранными из галогена, гидроксила, амино, C<sub>1-6</sub>алкила, ди-(C<sub>1-6</sub>) алкиламино, C<sub>1-6</sub>алкиламино, C<sub>1-6</sub>алкокси, C<sub>3-6</sub>циклоалкила, карбоновой кислоты, сложного эфира ароматической или алифатической карбоновой кислоты, амида карбоновой кислоты, гетероцикла, арила, алкенила, алкинила, арилалкила, гетероарила, гетероарилалкила или нитрила.

2. Соединение по п.1, где R<sub>1A</sub> и/или R<sub>1B</sub> представляют собой замещенный или незамещенный ацил, и где R<sub>2</sub> представляет собой C<sub>1-6</sub>алкил, предпочтительно -CH<sub>3</sub>, и R<sub>3</sub> представляет собой C<sub>1-8</sub>алкил, замещенный сложным алкилэфиром.

3. Соединение по п.1, где  $R_{1A}$  и/или  $R_{1B}$  представляют собой изобутирил, и где  $R_2$  представляет собой  $-CH_3$ , и  $R_3$  представляет собой гептан-3-ил-изобутират.

4. Соединения по пп.1-3 в любой стереохимической форме и их фармацевтически приемлемая соль, сольват или полиморф с активностью в качестве фармацевтического препарата, в частности, индукторов интерферона.

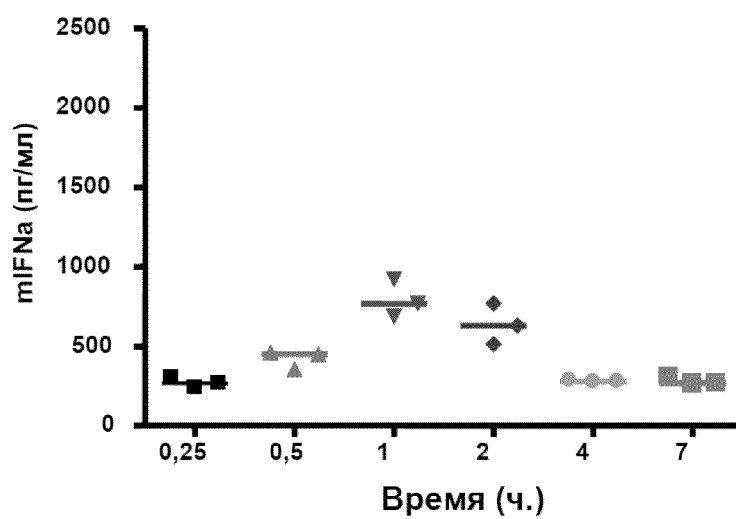
5. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы (I) по пп.1-3 или его фармацевтически приемлемую соль, сольват или полиморф вместе с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми наполнителями, разбавителями или носителями.

6. Соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль, сольват или полиморф по пп.1-3, или фармацевтическая композиция, содержащая указанное соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль, сольват или полиморф, по п.5 в качестве лекарственного препарата.

7. Применение соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата или полиморфа по пп.1-3, или указанной фармацевтической композиции, содержащей указанное соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль, сольват или полиморф, по п.5 в лечении нарушения, в которое вовлечена индукция интерферона.

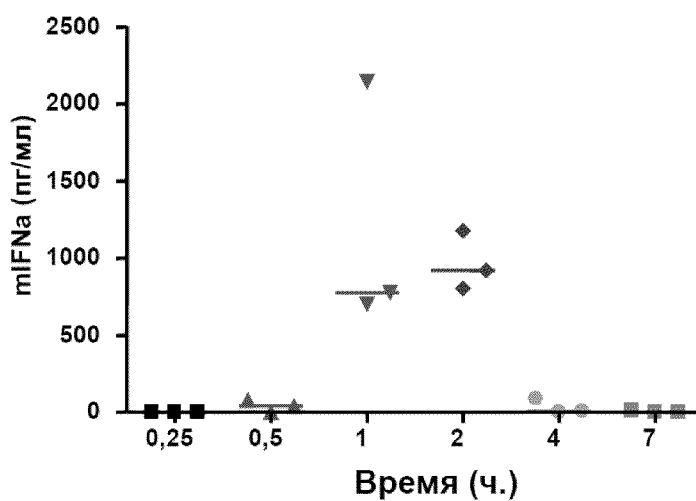
По доверенности

## Уровни IFNa в печени мышей



А

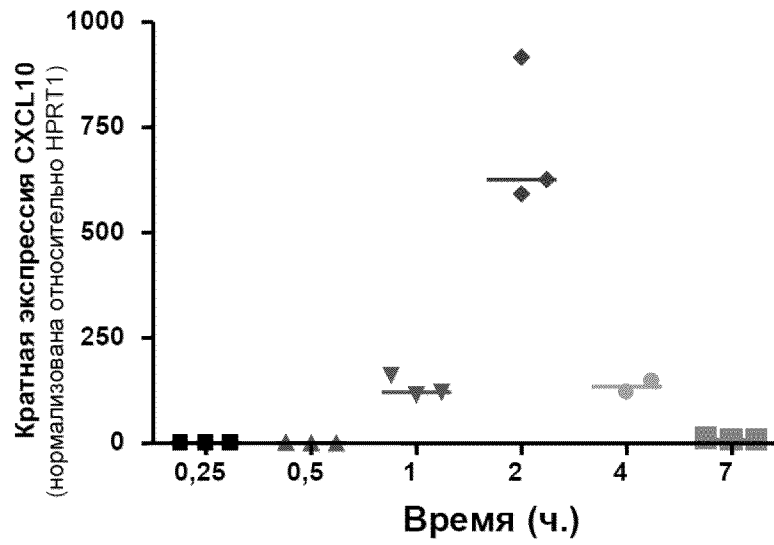
## Уровни IFNa в плазме мышей



В

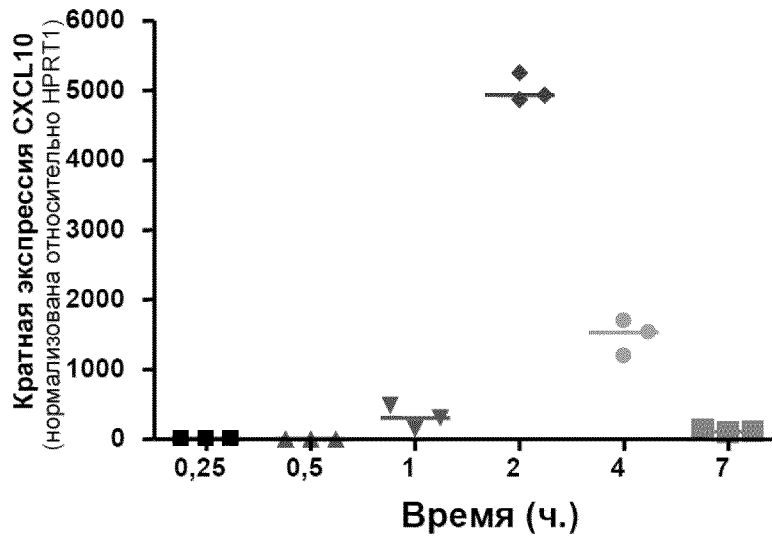
ФИГ.1

### Экспрессия CXCL10 в печени



C

### Экспрессия CXCL10 в крови



D

ФИГ.2