

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 201890364 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2018.08.31

(22) Дата подачи заявки
2016.09.06

(51) Int. Cl. *C07D 495/20* (2006.01)
A61K 31/438 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)
A61P 17/06 (2006.01)

(54) СОЕДИНЕНИЯ, ПРИГОДНЫЕ ДЛЯ ИНГИБИРОВАНИЯ ROR-ГАММА-t

(31) 62/215,929

(32) 2015.09.09

(33) US

(86) PCT/US2016/050374

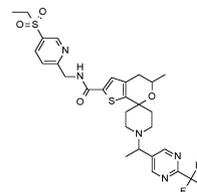
(87) WO 2017/044410 2017.03.16

(71) Заявитель:
ЭЛИ ЛИЛЛИ ЭНД КОМПАНИ (US)

(72) Изобретатель:
Морфи Джон Ричард (US)

(74) Представитель:
Угрюмов В.М., Лыу Т.Н., Строкова
О.В., Карпенко О.Ю., Христофоров
А.А., Гизатуллина Е.М., Глухарёва
А.О. (RU)

(57) В данном изобретении предложены новые ингибиторы ROR-гамма-t и их фармацевтические композиции:



A1

201890364

201890364

A1

СОЕДИНЕНИЯ ПРИГОДНЫЕ ДЛЯ ИНГИБИРОВАНИЯ ROR-ГАММА-T

Данное изобретение относится к соединениям пригодным для ингибирования орфанного гамма-t-рецептора, родственного рецептору ретиноевой кислоты (ROR γ t), фармацевтическим композициям и способам лечения заболеваний, связанных с активностью ROR γ .

Орфанные рецепторы, родственные рецептору ретиноевой кислоты (ROR) являются членами суперсемейства ядерных рецепторов (ЯР), признанных в качестве важных патологических регуляторов при многих заболеваниях. Подсемейство ROR состоит из ROR α , ROR β и ROR γ . Ген ROR γ мыши и человека образует две изоформы, γ 1 и γ 2, последняя наиболее часто упоминается как γ t. ROR γ t сигналинг, зачастую в ответ на сигналинг рецептора IL-23/IL-23, требуется для дифференцирования наивных CD4⁺ Т-клеток в подкласс Т-клеток, обозначенных Th17, которые отличаются от классических Th1 и Th2 клеток, и поддерживают жизнедеятельность. Th17 клетки вырабатывают интерлейкин-17A (IL-17) и IL-17F. Кроме того, Th17 клетки вырабатывают ряд других факторов, известных в побуждении воспалительных реакций, включая фактор некроза опухоли-альфа (TNF- α), интерлейкин-6 (IL-6), GM-CSF, CXCL1 и CCL20. Естественные клетки-киллеры и врожденные лимфоидные клетки, такие как подобные индукторам лимфоидной ткани (LTi)-клетки, экспрессируют IL-23-рецептор и ROR γ t, и вырабатывают IL-17 в ответ на стимуляцию и IL-23. Существует много доказательств того, что IL-23-чувствительные, ROR γ t и IL-17-экспрессирующие клетки связаны с аутоиммунными заболеваниями (AI), воспалительными заболеваниями и раком. Таким образом, целенаправленное ингибирование ROR γ t может быть важным для снижения патогенеза данных заболеваний.

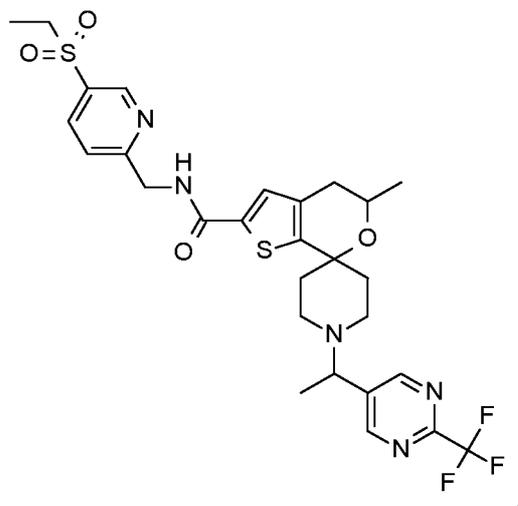
Аутоиммунные заболевания представляют собой хронические заболевания, для которых в настоящее время не существует лечения. Лечение аутоиммунных заболеваний главным образом включает попытку контролировать процесс заболевания и уменьшить симптомы путем введения противовоспалительных, обезболивающих препаратов или иммунодепрессантов. К сожалению, применение противовоспалительных и обезболивающих препаратов иногда неэффективны, а

применение иммунодепрессантов часто приводит к разрушительным долгосрочным побочным действиям. Наиболее значимыми побочными действиями иммунодепрессантов являются повышенный риск инфицирования и более высокий риск развития рака.

5 Идентифицированы природные и синтетические лиганды ROR γ t. В литературе были опубликованы малые молекулы-ингибиторы ROR γ t для аутоиммунных заболеваний. См. WO 2015/017335 и WO 2014/179564. Однако из-за распространённости аутоиммунных заболеваний в сочетании с неэффективностью или изнурительными побочными эффектами современных методов лечения, 10 существует необходимость в большем количестве вариантов лечения доступных для пациентов. Воздействие на ROR γ t может представлять собой преимущество по сравнению с современными методами лечения аутоиммунных заболеваний, за счет максимизации терапевтического эффекта путем воздействия на патогенные иммунные клетки, минимизируя при этом риск подавления иммунной защиты 15 организма-хозяина. .

Данное изобретение относится к новым соединениям, которые являются ингибиторами ROR γ t. Такие новые соединения могут удовлетворить потребность в активном, эффективном лечении увеита, рассеянного склероза, ревматоидного артрита, реакции трансплантата против хозяина, болезни Крона, других 20 воспалительных заболеваний кишечника, рака, псориаза и серонегативных спондилартропатий, таких как осевой спондилоартрит, анкилозирующий спондилоартрит и псориатический артрит.

Данное изобретение относится к соединению формулы



или его фармацевтически приемлемой соли.

Данное изобретение также относится к способу лечения псориаза у пациента, который включает введение пациенту, нуждающемуся в этом, соединения по данному изобретению или его фармацевтически приемлемой соли.

5 Кроме того, данное изобретение относится к способу лечения серонегативных спондилартропатий у пациента, который включает введение пациенту, нуждающемуся в этом, соединения по данному изобретению или его фармацевтически приемлемой соли. В указанном варианте реализации

10 серонегативные спондилартропатии представляют собой аксиальный спондилоартрит, анкилозирующий спондилоартрит или псориатический артрит. Данное изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей соединение по данному изобретению или его фармацевтически приемлемую соль, в комбинации с одним или более фармацевтически приемлемым носителем,

15 разбавителем или вспомогательным веществом. В дополнительном варианте реализации изобретения, композиция дополнительно содержит один или более другой терапевтический агент. В дополнительном варианте реализации изобретения, данное изобретение предлагает фармацевтическую композицию для лечения псориаза, содержащую соединение по данному изобретению по данному

20 изобретению, или его фармацевтически приемлемую соль, в комбинации с одним или более фармацевтически приемлемым носителем, разбавителем или вспомогательным веществом. В еще одном дополнительном варианте реализации изобретения, данное изобретение предлагает фармацевтическую композицию для

лечения серонегативных спондилартропатий, содержащую соединение по данному изобретению по данному изобретению, или его фармацевтически приемлемую соль, в комбинации с одним или более фармацевтически приемлемым носителем, разбавителем или вспомогательным веществом. В указанном варианте реализации изобретения, серонегативные спондилартропатии представляют собой аксиальные спондилоартриты, анкилозирующие спондилоартриты или псориатические артриты.

Дополнительно, данное изобретение предлагает соединение по данному изобретению или его фармацевтически приемлемую соль, для применения в лечении, в частности для лечения псориаза. Еще дополнительно, данное изобретение предлагает соединение по данному изобретению по данному изобретению или его фармацевтически приемлемую соль для применения в лечении псориаза. В дополнительном варианте реализации изобретения, данное изобретение предлагает применение соединения по данному изобретению или его фармацевтически приемлемую соль, для изготовления лекарственного средства для лечения псориаза.

Дополнительно, данное изобретение предлагает соединение по данному изобретению по данному изобретению или его фармацевтически приемлемую соль, для применения в лечении, в частности для лечения серонегативных спондилартропатий. Еще дополнительно, данное изобретение предлагает соединение по данному изобретению по данному изобретению или его фармацевтически приемлемую соль для применения в лечении серонегативных спондилартропатий. В дополнительном варианте реализации изобретения, данное изобретение предлагает применение соединения по данному изобретению или его фармацевтически приемлемую соль для изготовления лекарственного средства для лечения серонегативных спондилартропатий. В указанном варианте реализации изобретения, серонегативные спондилартропатии представляют собой аксиальные спондилоартриты, анкилозирующие спондилоартриты или псориатические артриты.

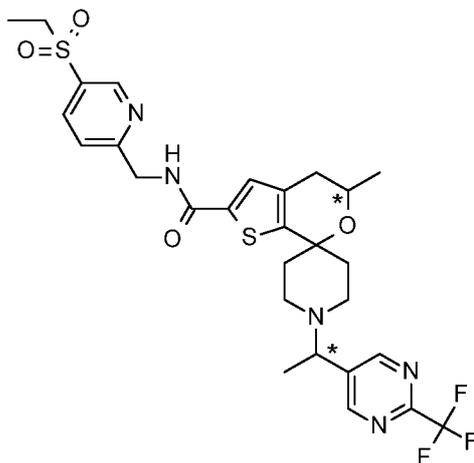
Данное изобретение также охватывает промежуточные соединения и способы, полезные для синтеза соединения по данному изобретению.

Термин «лечение» (или «лечить», или «лечение»), в контексте данного документа, относится к сдерживанию, замедлению, остановке или изменению течения или тяжести существующего симптома, состояния или расстройства.

Термин «спондилартропатии» относится к ряду хронических заболеваний суставов, которые обычно включают позвоночник и области, где связки и сухожилия прикрепляются к кости. Спондилартропатии иногда также называют спондилоартропатии или спондилоартриты. Термин «серонегативный» относится к заболеванию, которое является отрицательным для ревматоидного фактора.

Соединения по данному изобретению могут вводить в реакцию с образованием фармацевтически приемлемых солей. Фармацевтически приемлемые соли и общая методика для их получения хорошо известны в данной области. См., например, P. Stahl, *et al. Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use*, 2nd Revised Edition (Wiley-VCH, 2011); S.M. Berge, *et al.*, “Pharmaceutical Salts,” *Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 66, No. 1, January 1977.

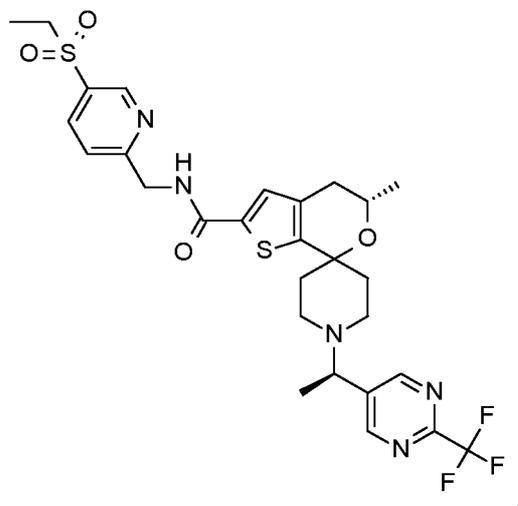
Специалисту в данной области техники будет понятно, что соединение по данному изобретению по данному изобретению, как проиллюстрировано в (I), или его фармацевтически приемлемая соль, состоит из основного фрагмента, который содержит по меньшей мере два хиральных центра, как представлено * ниже:



20

(I)

Хотя в данном изобретении рассматриваются все индивидуальные энантиомеры, а также смеси энантиомеров указанных соединений, включая рацематы, предпочтительные соединения по данному изобретению представлены (II) ниже:



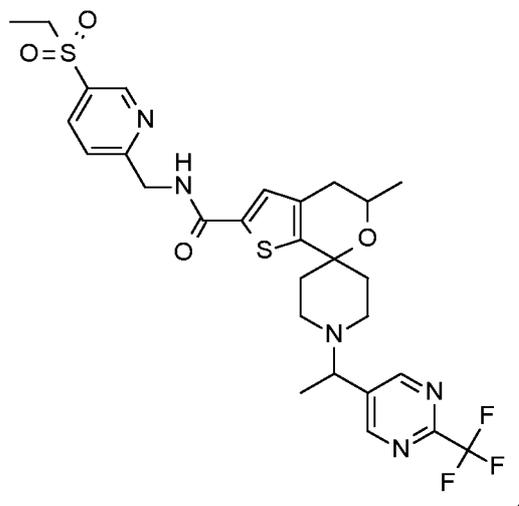
(II)

или их фармацевтически приемлемые соли.

5 Специалисту в данной области техники также будет понятно, что о (R) или (S) обозначения по системе Кана - Ингольда - Прелога для всех хиральных центров будут варьироваться в зависимости от типа замещения конкретного соединения. Индивидуальные энантиомеры или диастереомеры могут быть получены исходя из индивидуальных энантиомеров или диастереомеров соответствующих хиральных реагентов или путем стереоселективных или стереоспецифических синтетических способов. Альтернативно, индивидуальные энантиомеры или диастереомеры могут быть выделены из смесей стандартными способами хиральной хроматографии или способами кристаллизации в любой удобной точке синтеза соединений по данному изобретению. Индивидуальные энантиомеры соединений по данному изобретению являются предпочтительным вариантом реализации изобретения.

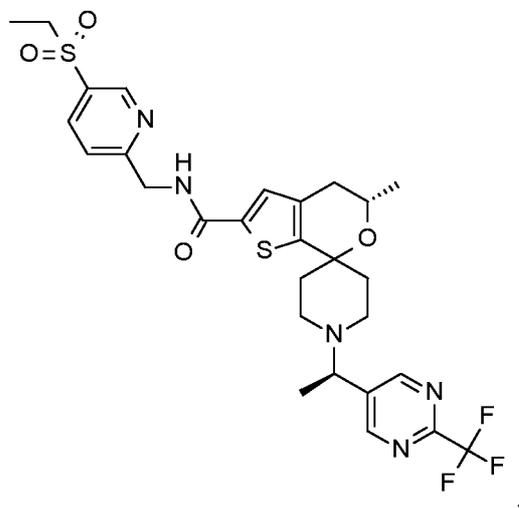
15 Соединения по данному изобретению предпочтительно готовят в виде фармацевтических композиций, вводимых различными путями. Такие фармацевтические композиции и способы их получения хорошо известны в данной области техники. См., например, *Remington: The Science and Practice of Pharmacy* (A. Gennaro, *et al.*, eds., 21st ed., Mack Publishing Co., 2005). Более предпочтительной является фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы

20



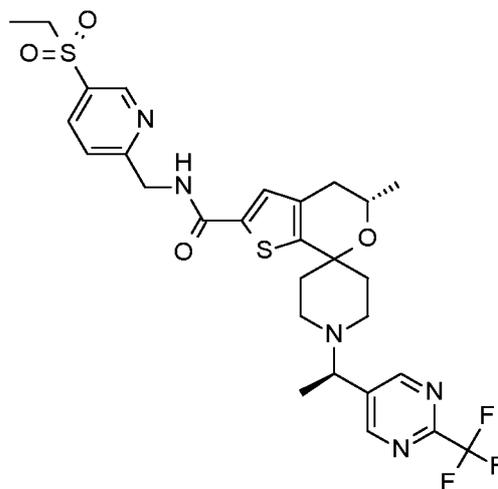
или его фармацевтически приемлемую соль и один или более фармацевтически приемлемых носителей или разбавителей.

Особенно предпочтительный вариант реализации данного изобретения
5 относится к соединению (5'S)-N-{[5-(этилсульфонил)пиридин-2-ил]метил}-5'-метил-1-{(1R)-1-[2-трифторметил]пиримидин-5-ил]этил}-4',5'-дигидроспиро[пиперидин-4,7'-тиено[2,3,с]пиран]-2'-карбоксамид:



или его фармацевтически приемлемой соли.

10 Другой особенно предпочтительный вариант реализации данного изобретения относится к соединению



Соединения по данному изобретению обычно эффективны в широком диапазоне доз. Например, дозы на день находятся в диапазоне от около 1 мг до 1 г. В некоторых случаях уровни доз ниже нижнего предела вышеуказанного диапазона могут быть более, чем достаточными, в то время как в других случаях могут быть использованы еще большие дозы при сохранении благоприятного профиля соотношения «польза/риск», и поэтому указанный диапазон доз не предназначен для ограничения объема изобретения каким-либо образом. Следует понимать, что количество фактически вводимого соединения будет определяться врачом с учетом соответствующих обстоятельств, включая состояние, подлежащее лечению, выбранный способ введения, фактическое введение соединения или соединений, возраст, вес и реакцию конкретного пациента, а также тяжесть симптомов пациента.

Индивидуальные изомеры, энантиомеры и диастереомеры могут быть разделены или расщеплены специалистом в данной области техники в любой подходящей точке синтеза соединений формулы I с помощью таких способов, как способы селективной кристаллизации или хиральной хроматографии (См., например, J. Jacques, et al., "Enantiomers, Racemates, and Resolutions", John Wiley and Sons, Inc., 1981, and E.L. Eliel and S.H. Wilen, "Stereochemistry of Organic Compounds", Wiley-Interscience, 1994). Обозначения «изомер 1» и «изомер 2» относятся к соединениям, которые элюируются в ходе хиральной хроматографии первым и вторым, соответственно, и если хиральную хроматографию проводят в

начале синтеза, то такое же обозначение применяется к последующим промежуточным соединениям и примерам.

Кроме того, определенные промежуточные соединения, описанные в данном документе, могут содержать одну или более защитных групп. Временная защитная группа может быть одинаковой или различной в каждом случае в зависимости от конкретных условий реакции и конкретных преобразований, которые должны выполняться. Условия защиты и снятия защиты хорошо известны специалисту в данной области техники и описаны в литературе (См., например "*Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*", Fourth Edition, by Peter G.M. Wuts and Theodora W. Greene, John Wiley and Sons, Inc. 2007).

Некоторые сокращения определены следующим образом: "AUC" (площадь под фармакокинетической кривой, описывающей зависимость "концентрация/время") обозначает площадь под кривой; "БСА" обозначает бычий сывороточный альбумин; "ПАФ" обозначает полный адъювант Фрейнда; "ДВА" относится к породе "разбавленного" коричневого нон-агути; "ДХМ" обозначает дихлорметан; "ФСБД" обозначает фосфатно-солевой буфер Дульбекко; "СИМД" обозначает среду Игла в модификации Дульбекко; "ДМСО" обозначает диметилсульфоксид; "EC₅₀" обозначает эффективную концентрацию, вызывающую эффект, равный половине максимального; "EtOAc" обозначает этилацетат; "Et₂O" обозначает этиловый эфир; "EtOH" обозначает этиловый спирт или этанол; "э.и." обозначает энантиомерный избыток; "Пример" относится к примеру; "ФБС" обозначает фетальную бычью сыворотку; "G" обозначает силу гравитации; "GAL" обозначает ДНК-связывающий домен бета-галактозидазы; "GPI" относится к глюкозо-6-фосфат изомеразе; "HEC" относится к гидроксиэтилцеллюлозе; "HEK" относится к мезенефросу человека; "HEPES" относится к 4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновой кислоте; "IC₅₀" относится к концентрации агента, который дает 50% максимального ингибирующего ответа, возможного для этого агента; "IL" относится к интерлейкину; "ИПС" относится к изопропиловому спирту или изопропанолу; "Kd" относится к константе диссоциации; "Ki" относится к константе ингибирования; "MeOH" относится к метиловому спирту или метанолу; "MEM" относится к минимальной поддерживающей среде; "PVMC" относится к мононуклеарным клеткам периферической крови; "PBS" относится к натрий-

фосфатному буферу; “Синтез” обозначает синтез “RAR” относится к рецептору ретиноевой кислоты; и “RPM” относится к среде, разработанной в Roswell Park Memorial Институте. “R_t” относится к времени удерживания; “SCX” относится к сильному катионообмену; “СФХ” относится к сверхкритической флюидной хроматографии; и “ТГФ” обозначает тетрагидрофуран.

Соединения по данному изобретению или их соли могут быть получены различными способами, известными в данной области техники, некоторые из которых проиллюстрированы в способах синтеза и примерах ниже. Конкретные стадии синтеза для каждого из описанных способов могут быть объединены в различные способы для получения соединений по данному изобретению или их солей. Продукты на каждой стадии ниже могут быть выделены с помощью традиционно принятых способов, хорошо известных в данной области техники, включая экстракцию, выпаривание, осаждение, хроматографию, фильтрование, растирание и кристаллизацию. Реагенты и исходные вещества легко доступны специалисту в данной области техники.

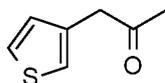
Следующие способы синтеза и примеры дополнительно иллюстрируют данное изобретение и представляют собой типичный синтез соединений по данному изобретению.

20

Способы синтеза и Примеры

Способ синтеза 1

1-(3-Тиенил)пропан-2-он



2-(3-Тиенил)уксусную кислоту (26,5 г, 146,5 ммоль) суспендировали в уксусном ангидриде (87,9 мл, 913 ммоль,) и добавляли 1-метилимидазол (7,57 г, 91,3 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 4 часов при комнатной температуре в атмосфере азота. Реакционную смесь охлаждали до 0 °С, добавляли воду (150 мл) и перемешивали в течение 1 часа. Раствор разбавляли EtOAc (300 мл) и последовательно промывали 2 М NaOH (2×200 мл), водой (200 мл) и насыщенным раствором хлорида натрия (200 мл). Органическую фазу отделяли,

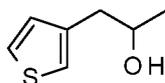
30

сушили над сульфатом натрия, фильтровали и упаривали досуха с получением указанного в заголовке соединения (28,16 г, 77%) в виде желтого масла. ^1H ЯМР (400,13 МГц, CDCl_3) δ 2,14 (с 3H), 3,7 (с, 2H), 6,94 (д, $J=5,1$ Гц, 1H), 7,08 (уш.с., 1H), 7,29-7,26 (м, 1H).

5

Способ синтеза 2

1-(3-Тиенил)пропан-2-ол



К боргидриду натрия (1,61 г, 41,67 ммоль) добавляли сухой MeOH (63 мл) и
10 реакционную смесь охлаждали до -10 °С при добавлении MeOH. Дальше
охлаждали до -20 °С и по каплям добавляли раствор 1-(3-тиенил)пропан-2-она (4,92
г, 33,34 ммоль) в сухом MeOH (26,7 мл) в течение 40 минут и перемешивали в
течение 1,5 часов при -20 °С, затем при комнатной температуре в течение 17 часов.
15 Раствор охлаждали до -5 °С (внутренняя температура) и гасили насыщенным
раствором хлорида аммония (15 мл), затем 1 Н HCl (15 мл). Добавляли воду (30 мл)
и EtOAc (100 мл). Смесь концентрировали при пониженном давлении до 1/3 от
общего объема. Смесь экстрагировали EtOAc (2×100 мл). Органические экстракты
объединяли и сушили над сульфатом магния, фильтровали и упаривали досуха с
получением указанного в заголовке соединения (4,74 г, 100%). Масс-спектр (m/z):
20 125 (M-OH+H), 164,8 (M+Na).

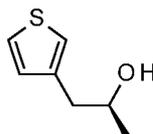
Альтернативный способ синтеза 2а

Порциями добавляли боргидрид натрия (7,06 г, 182,8 ммоль) в течение 30
минут при 0 °С к раствору 1-(3-тиенил)пропан-2-она (28,16 г, 140,6 ммоль) в MeOH
25 (282 мл) и перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Упаривали
досуха, разбавляли EtOAc (200 мл) и промывали насыщенным раствором хлорида
аммония (150 мл). Водный слой экстрагировали EtOAc (2×200 мл). Органические
экстракты объединяли, сушили над сульфатом натрия, фильтровали и упаривали
при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью флэш-хроматографии на
30 силикагеле, элюируя смесью MeOH: ДХМ (0:100 до 5:95) с получением указанного

в заголовке соединения (12,85 г, 64%) в виде бледно-красного масла. Масс-спектр (m/z): 125 (M-OH+H).

Способ синтеза 3

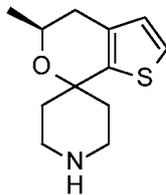
5 (2S)-1-(3-Тиенил)пропан-2-ол



3-Бромтиофен (6,88 г, 42,2 ммоль) растворяли в безводном ТГФ (10 мл) и толуоле (100 мл). Охлаждали до -78 °С. К смеси через шприц добавляли втор-бутиллитий (1,3 моль/л в циклогексане, 34 мл, 44 ммоль) в течение 15 минут. Температуру поддерживали при < -60 °С, перемешивали 10 минут, затем порциями добавляли (2S)-2-метилоксиран (4,9 г, 84,4 ммоль). Через 5 минут, добавляли диэтилэфират трифторида бора (5,3 мл, 42 ммоль) в течение 15 минут через капельную воронку. Температуру поддерживали при < -55 °С. После завершения добавления, перемешивали при -78 °С в течение 2 часов. Гасили при -78 °С насыщенным раствором гидрокарбоната натрия, добавляли Et₂O и нагревали до температуры окружающей среды. Промывали насыщенным раствором гидрокарбоната натрия (2 ×), затем насыщенным раствором хлорида натрия. Органический слой сушили над сульфатом натрия, фильтровали и упаривали при пониженном давлении. Очищали с помощью флэш-хроматографии на силикагеле, элюируя 15% EtOAc/смесью изомеров гексана с получением указанного в заголовке соединения (3,85 г, 64,2%). Проводили повторную очистку смешанных фракций с получением общего количества указанного в заголовке соединения (4,29 г, 71,5%) в виде бесцветной жидкости. ¹H ЯМР (400,13 МГц, CDCl₃) δ 7,28-7,26 (дд, J=2,9, 5,0, 1H), 7,03-7,01 (м, 1H), 6,96 (дд, J=1,2, 4,9, 1H), 4,04-3,95 (м, 1H), 2,83-2,68 (м, 2H), 1,63 (с, 1H), 1,22 (д, J= 6,2, 3H), OR [α]²⁰D +25,50 (с 1,00, CHCl₃),

Способ синтеза 4

(5'S)-5'-Метил-4',5'-дигидроспиро[пиперидин-4,7'-тиено[2,3-с]пиран]

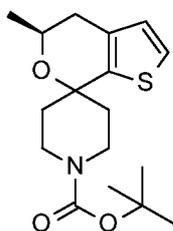


5 *трет*-Бутил 4-оксопиперидин-1-карбоксилат (6,50 г, 32,6 ммоль) и (2S)-1-(3-
тиенил)пропан-2-ол (4,64 г, 32,6 ммоль) растворяли в ДХМ (100 мл). Добавляли
трифторуксусную кислоту (20 мл, 264,5 ммоль). Смесь перемешивали при
температуре окружающей среды 18 часов. Смесь упаривали при пониженном
давлении, а затем добавляли воду и Et₂O. Органический слой промывали водой,
водные фазы объединяли, а затем доводили рН до щелочного с помощью твердого
10 карбоната натрия. Насыщали водный слой твердым хлоридом натрия, затем водный
слой промывали EtOAc (5×). Объединяли EtOAc слои, промывали насыщенным
раствором хлорида натрия, сушили сульфатом натрия, фильтровали и упаривали
при пониженном давлении с получением указанного в заголовке соединения (4,61 г,
63%) в виде бледно-желтого масла. Масс-спектр (m/z): 224,2 (M+H).

15

Способ синтеза 5

трет-бутил-(5'S)-5'-метил-4',5'-дигидро-1Н-спиро[пиперидин-4,7'-тиено[2,3-
с]пиран]-1-карбоксилат

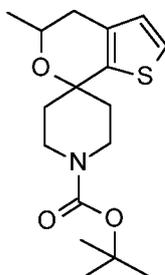


20 (5'S)-5'-Метил-4',5'-дигидроспиро[пиперидин-4,7'-тиено[2,3-с]пиран] (10,39
г, 46,53 ммоль) растворяли в ДХМ (100 мл). Порциями добавляли ди-*трет*-
бутилдикарбонат (11,52 мл, 51,18 ммоль) и смесь перемешивали при комнатной
температуре в течение 1,5 часа. Добавляли дополнительное количество ди-*трет*-
бутилдикарбоната (2,00 мл, 9,17 ммоль) и перемешивали 30 минут, затем упаривали
25 при пониженном давлении. Добавляли имидазол (2,21 г, 32,5 ммоль) для

разложения ди-*трет*-бутилдикарбоната (Synthesis, 2001, № 4, 550). Добавляли Et₂O и промывали насыщенным раствором хлорида натрия. Органический слой сушили над сульфатом натрия, фильтровали и упаривали при пониженном давлении. Очищали с помощью флэш-хроматографии на силикагеле, элюируя 10% EtOAc/смесью изомеров гексана. Повторно очищали с помощью флэш-хроматографии на силикагеле, элюируя 15% EtOAc/смесью изомеров гексана с получением указанного в заголовке соединения (12,92 г, 86%) в виде бесцветного масла. ¹H ЯМР (400,13 МГц, d₆-DMCO) δ 7,33 (д, J=5,1, 1H), 6,77 (д, J=5,1, 1H), 3,92-3,72 (м, 3H), 3,15-2,91 (с, 2H), 2,62 (дд, J=15,8, 3,0, 1H), 2,30 (дд, J=15,8, 10,6, 1H), 2,1 (м, 1H), 1,76-1,63 (м, 2H), 1,51-1,40 (м, 1H), 1,38 (с, 9H), 1,24 (д, J=6,2, 3H), 100% э.и. на основе СФХ-хроматографии, Lux Amylose-2, 5 мл/мин, 225 нм, R_t = 1,75 мин, OR [α]²⁰D +82,1 (с 1,00, CHCl₃).

Способ синтеза 6

15 *трет*-Бутил-5'-метил-4',5'-дигидро-1H-спиро[пиперидин-4,7'-тиено[2,3-с]пиран]-1-карбоксилат



Трифторуксусную кислоту (34,16 мл, 451,8 ммоль) по каплям добавляли при 0 °С к раствору 1-(3-тиенил)пропан-2-ола (12,85 г, 90,35 ммоль) и *трет*-бутил 4-оксопиперидин-1-карбоксилата (23,40 г, 117,5 ммоль) в сухом ДХМ (135 мл) и поддерживали перемешивание при комнатной температуре в течение 17 часов. Смесь упаривали досуха, остаток разбавляли MeOH, а затем растворитель упаривали при пониженном давлении. Остаток забирали MeOH и очищали с помощью ионообменной хроматографии. Слои, содержащие желаемый продукт, объединяли и упаривали при пониженном давлении при совместном испарении с толуолом (3×) для получения бледно-оранжевого твердого неочищенного 5-метилспиро[4,5-дигидротиено[2,3-с]пиран-7,4'-пиперидина]. Порциями добавляли

4-диметиламинопиридин (2,23 г, 18,07 ммоль) и триэтиламин (37,8 мл, 271,1 ммоль) к раствору 5-метилспиро[4,5-дигидротиено[2,3-с]пиран-7,4'-пиперидин] (20,18 г, 90,35 ммоль) в сухом ДХМ (90,35 мл), охлажденном до 0 °С. По каплям добавляли раствор ди-*трет*-бутилдикарбоната (30,49 г, 135,5 ммоль,) в сухом ДХМ (27,1 мл). Перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Добавляли воду (100 мл), водный слой экстрагировали ДХМ (3×100 мл), промывали насыщенным раствором хлорида натрия (100 мл) и упаривали при пониженном давлении. Очищали с помощью флэш-хроматографии на силикагеле, элюируя смесью EtOAc: *изо*-гексан (0:100 до 20:80). Остаток упаривали вместе с ДХМ (3×) с получением указанного в заголовке соединения (27,64 г, 92,7%) в виде белого твердого вещества. Масс-спектр (m/z): 346 (M+Na)

Альтернативный способ синтеза ба

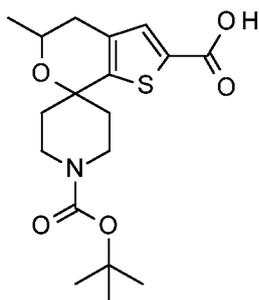
трет-Бутил-5'-метил-4',5'-дигидро-1H-спиро[пиперидин-4,7'-тиено[2,3-с]пиран]-
1-карбоксилат

По каплям добавляли трифторуксусную кислоту (20,17 мл, 266,72 ммоль) при 0 °С к раствору 1-(3-тиенил)пропан-2-ола (4,74 г, 33,34 ммоль) и *трет*-бутил-4-оксопиперидин-1-карбоксилата (7,80 г, 38,34 ммоль) в сухом ДХМ (100 мл) и перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Смесью упаривали досуха и остаток разбавляли MeOH. Неочищенное вещество очищали с помощью ионообменной хроматографии. Слои, содержащие желаемый продукт, объединяли и упаривали при пониженном давлении совместным выпариванием с ДХМ (3×) для получения неочищенного 5-метилспиро[4,5-дигидротиено[2,3-с]пиран-7,4'-пиперидин] (8,17 г). Добавляли 4-диметиламинопиридин (0,831 г, 6,67 ммоль) и триэтиламин (9,29 мл, 66,68 ммоль) к раствору 5-метилспиро[4,5-дигидротиено[2,3-с]пиран-7,4'-пиперидин] (8,17 г) в сухом ДХМ (66,7 мл), охлажденном до 0 °С. По каплям добавляли раствор ди-*трет*-бутилдикарбоната (18,19 г, 83,35 ммоль,) в сухом ДХМ (16,7 мл). Перемешивали при комнатной температуре в течение 3 дней. Добавляли воду (60 мл), водный слой экстрагировали ДХМ (3× 50 мл), промывали насыщенным раствором хлорида натрия (20 мл), фильтровали через фазовый сепаратор и упаривали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью флэш-хроматографии на силикагеле, элюируя смесью EtOAc: *изо*-гексан (0:100 до

20:80). Остаток упаривали совместно с ДХМ (2×) с получением указанного в заголовке соединения (9,41 г, 80%). Масс-спектр (m/z): 346 (M+Na).

Способ синтеза 7

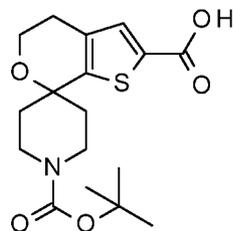
- 5 1-(*трет*-Бутоксикарбонил)-5'-метил-4',5'-дигидроспиро[пиперидин-4,7'-тиено[2,3-с]пиран]-2'-карбоновая кислота



- трет*-Бутил-5'-метил-4',5'-дигидро-1Н-спиро[пиперидин-4,7'-тиено[2,3-с]пиран]-1-карбоксилат (7,16 г, 21,71 ммоль) растворяли в ТГФ (108,5 мл) и охлаждали до -78 °С. По каплям добавляли бутиллитий (2,5 М в смеси изомеров гексана, 13 мл, 32,56 ммоль) в течение 20 минут и смесь перемешивали еще 30 минут после завершения добавления. Барботировали CO₂ через канюлю и поддерживали перемешивание при этой температуре в течение 1 часа с непрерывным добавлением CO₂. Реакционную смесь оставляли нагреваться до 0 °С в течение 2 часов с непрерывным добавлением CO₂ и осторожно гасили водой (80 мл). Реакционную смесь выливали в воду и водный слой экстрагировали Et₂O (100 мл). Органическую фазу промывали 2 Н NaOH (3× 15 мл) и водой (50 мл). Водный слой подкисляли 2 Н HCl (3×) до pH= 6, и экстрагировали EtOAc. Органические экстракты объединяли и промывали насыщенным раствором хлорида натрия (50 мл), сушили над сульфатом магния, фильтровали и упаривали при пониженном давлении для получения указанного в заголовке соединения (7,89 г, 97%) в виде не совсем белого твердого вещества. Масс-спектр (m/z): 390 (M+Na).

Способ синтеза 8

1-(*трет*-Бутоксикарбонил)-4',5'-дигидроспиро[пиперидин-4,7'-тиено[2,3-с]пиран]-2'-карбоновая кислота

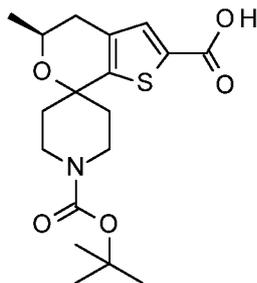


- 5 *трет*-Бутил-4',5'-дигидро-1H-спиро[пиперидин-4,7'-тиено[2,3-с]пиран]-1-карбоксилат растворяли (полученный, как описано в J. Med. Chem., 2011, 54, (8), стр. 2687-2700 и WO2011060035) (10 г, 32,32 ммоль) в ТГФ (100 мл) и охлаждали до -78 °С. По каплям добавляли бутиллитий (22,22 мл, 35,55 ммоль) в течение 15 минут и перемешивали смесь еще 15 минут после завершения добавления.
- 10 Барботировали в CO₂ через канюлю и позволяли смеси нагреться до комнатной температуры при непрерывном добавлении CO₂. Через 2 часа, смесь охлаждали до 0 °С и добавляли воду, а затем Et₂O. Водный слой подщелачивали 1 Н NaOH и органический слой промывали 1 Н NaOH (3 ×). Объединяли щелочные фазы и подкисляли до pH 2 5 Н HCl. Водный слой промывали EtOAc (3×), органические
- 15 экстракты объединяли и промывали насыщенным раствором хлорида натрия. Сушили над сульфатом натрия, фильтровали и упаривали при пониженном давлении с получением указанного в заголовке соединения (11,11 г, 97,27%) в виде белого твердого вещества. Масс-спектр (m/z): 352,2 (М-Н).

20

Способ синтеза 9

(5'S)-1-*трет*-Бутоксикарбонил)-5'-метил-4',5' дигидроспиро[пиперидин-4,7'-тиено[2,3-с]пиран]-2'-карбоновая кислота

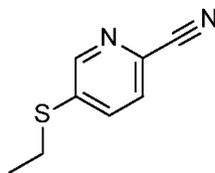


трет-Бутил-(5'S)-5'-метил-4',5'-дигидро-1Н-спиро[пиперидин-4,7'-
тиено[2,3-с]пиран]-1-карбоксилат (11,19 г, 34,60 ммоль) растворяли в безводном
ТГФ (200 мл) и охлаждали до -78 °С. По каплям добавляли *n*-бутиллитий (21 мл,
34,64 ммоль) в течение 20 минут. После завершения добавления, перемешивали при
5 -78 °С в течение 20 минут, затем барботировали СО₂ через канюлю в течение 60
минут. Смесь нагревали до комнатной температуры с непрерывным добавлением
СО₂. После перемешивания в течение 1 часа при комнатной температуре, гасили
водой (3 мл) и упаривали при пониженном давлении до 25% объема. Добавляли
Et₂O и воду. Промывали водой (2×) и водные слои объединяли. Доводили рН до
10 кислого 1 Н НСl. Насыщали водный слой хлоридом натрия и экстрагировали EtOAc
(2×). EtOAc экстракты объединяли, промывали насыщенным раствором хлорида
натрия, сушили над сульфатом натрия, фильтровали и упаривали при пониженном
давлении с получением указанного в заголовке соединения(13,40 г, 100%) в виде
белой пены. Масс-спектр (m/z): 366 (М-Н).

15

Способ синтеза 10

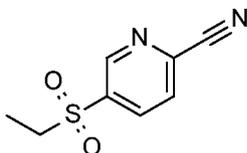
5-(Этилсульфанил)пиридин-2-карбонитрил



5-Бромпиридин-2-карбонитрил (49,42 г, 270,1 ммоль) и карбонат калия
20 (113,5 г, 821,2 ммоль) растворяли в 1-метил-2-пирролидиноне (280 мл) и порциями
добавляли этантиол (26,4 мл, 356 ммоль) в течение 30 минут так, чтобы
температура оставалась ниже 50 °С. Реакционную смесь охлаждали до комнатной
температуры и перемешивали в течение ночи. Разбавляли EtOAc (1200 мл) и водой
(2200 мл). Органические слои собирали и промывали насыщенным раствором
25 хлорида натрия (3×300 мл). Органический слой сушили над сульфатом натрия,
фильтровали и упаривали при пониженном давлении с получением указанного в
заголовке соединения (44,87 г, 100%) в виде не совсем белого твердого вещества.
¹Н ЯМР (400,13 МГц, d₆-DMCO) δ 8,63 (с, 1H), 7,93 (с, 2H), 3,17 (кв., J=7,3, 2H),
1,29 (т., J=7,3, 3H).

Способ синтеза 11

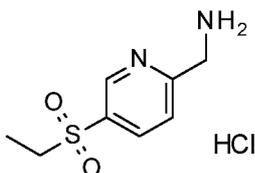
5-(Этилсульфонил)пиридин-2-карбонитрил



5 5-(Этилсульфонил)пиридин-2-карбонитрил (44,36 г, 270,1 ммоль) растворяли в безводном ДХМ (540 мл) и охлаждали до -20 °С. Добавляли 3-хлорпероксибензойную кислоту (130 г, 565,0 ммоль) порциями по 10-12 грамм в течение 1 часа, поддерживая внутреннюю температуру между 0 °С и -10 °С. Реакционную смесь перемешивали в охлаждающей бане, что дает возможность
10 нагреться до комнатной температуры в течение ночи. Промывали 1 Н NaOH (1 л), водой, 1 Н NaOH (2×500 мл) и насыщенным раствором хлорида натрия. Органический слой сушили над сульфатом натрия, фильтровали и упаривали при пониженном давлении с получением указанного в заголовке соединения (49,52 г, 93%) в виде белого твердого вещества. ¹Н ЯМР (400,13 МГц, d₆-ДМСО) δ 9,20 (д, J=1,9, 1H), 8,56 (дд, J=2,0, 8,1, 1H), 8,36 (д, J=8,1, 1H), 3,52 (кв., J=7,3, 2H), 1,16 (т., J=7,5, 3H).

Способ синтеза 12

1-[5-(Этилсульфонил)пиридин-2-ил]метанамин гидрохлорид



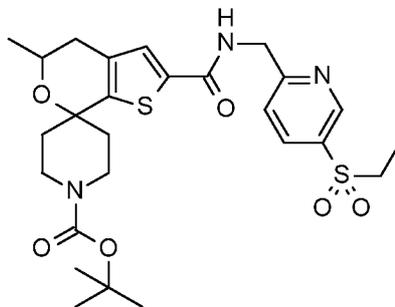
20

5-(Этилсульфонил)пиридин-2-карбонитрил (49,52 г, 252,4 ммоль) разделяли на три порции по 16,5 г. В атмосфере N₂ в 2250 мл колбу Парра добавляли 10% Pd/C (1,65 г, 15,5 ммоль) и добавляли MeOH(750 мл). Добавляли 5-(этилсульфонил)пиридин-2-карбонитрил (16,5 г, 84,09 ммоль), растворенный в
25 MeOH (750 мл). Добавляли HCl (водная 6 Н, 17,1 мл, 102,6 ммоль). Колбу закрывали, продували N₂, продували H₂, и создавали давление 68,9 кПа при

комнатной температуре в течение 3 часов. Продуovali N₂, а затем смесь фильтровали. Повторяли для остальных частей 5-(этилсульфонил)пиридин-2-карбонитрила. Объединяли все фильтраты и упаривали при пониженном давлении с получением указанного в заголовке соединения (59,61 г, 99%) в виде бежевого твердого вещества. Масс-спектр (m/z): 201 (M+H-Cl).

Способ синтеза 13

трет-Бутил-2'-([5-(этилсульфонил)пиридин-2-ил]метил)карбамоил)-5'-метил-4',5'-дигидро-1H--спиро[пиперидин-4,7'-тиено[2,3,с]пиран]-1-карбоксилат



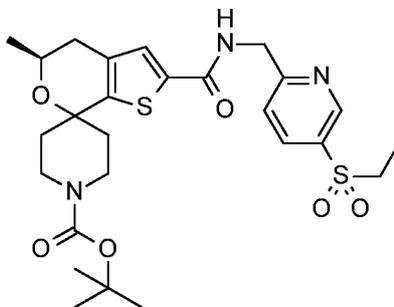
10

1-[5-(Этилсульфонил)пиридин-2-ил]метанамин гидрохлорид (3,1 г, 13 ммоль), 1-(*трет*-бутоксикарбонил)-5'-метил-4',5'-дигидроспиро[пиперидин-4,7'-тиено[2,3-с]пиран]-2'-карбоновую кислоту (3,9 г, 10 ммоль) растворяли в безводном ДХМ (52 мл). Охлаждали до 0 °С и порциями добавляли триметиламин (10 мл, 73 ммоль), а затем 1,67 М раствор 2,4,6-трипропил-1,3,4,2,4,6-триоксатрифосфоринан -2,4,6- триоксид (8,6 г, 14 ммоль) в EtOAc. Смесь оставляли нагреваться до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Осторожно добавляли воду (50 мл) и перемешивали 10 минут при комнатной температуре. Водный слой экстрагировали ДХМ (2×), затем органические экстракты объединяли. Органические экстракты промывали насыщенным раствором хлорида натрия, сушили над сульфатом натрия, фильтровали и упаривали при пониженном давлении. Неочищенное вещество очищали хроматографией на силикагеле, элюируя градиентом от 50% до 100% EtOAc/смесь изомеров гексана с получением указанного в заголовке соединения (4,89 г, 83%) в виде желтой пены. Масс-спектр (m/z): 550 (M+H).

25

Способ синтеза 14

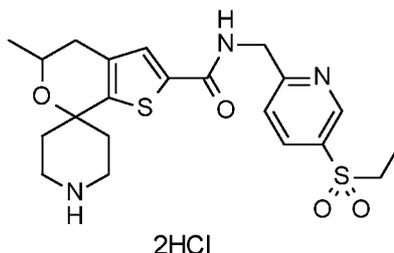
трет-Бутил-(5'*S*)-2'-([5-(этилсульфонил)пиридин-2-ил]метил}карбамоил)-5'-метил-4',5'-дигидро-1Н--спиро[пиперидин-4,7'-тиено[2,3,с]пиран]-1-карбоксилат



- 5 1-[5-(Этилсульфонил)пиридин-2-ил]метанами́н гидрохлорид (2,86 г, 10,5 ммоль), (5'*S*)-1-*трет*-бутоксикарбонил)-5'-метил-4',5'-дигидроспиро[пиперидин-4,7'-тиено[2,3-с]пиран]-2'-карбоновую кислоту (3,50 г, 9,52 ммоль) и 1-гидроксibenзотриазол (1,44 г, 10,5 ммоль) растворяли в безводном ТГФ (100 мл) и диметилформамиде (50 мл). Добавляли N,N-диизопропилэтиламин (4,98 мл, 28,6
- 10 ммоль), а затем 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимид гидрохлорид и оставляли перемешиваться при комнатной температуре в течение ночи. Упаривали при пониженном давлении до ~40% объема, затем добавляли EtOAc. Промывали насыщенным раствором гидрокарбоната натрия (2×), водой (2×), насыщенным раствором хлорида натрия (2×), органический слой сушили над сульфатом натрия,
- 15 фильтровали и упаривали при пониженном давлении. В результате хроматография на силикагеле с использованием 80% EtOAc/смесь изомеров гексана давала указанное в заголовке соединение (4,51 г, 86%) в виде серого пены. Масс-спектр (m/z): 550 (M+H).

Способ синтеза 15

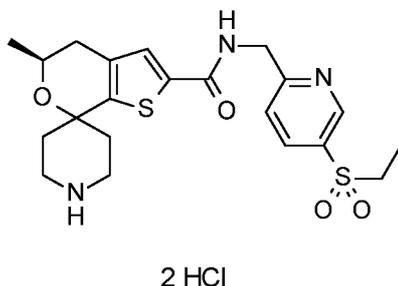
N-{[5-(Этилсульфонил)пиридин-2-ил]метил}-5'-метил-4',5'-
дигидроспиро[пиперидин-4,7'-тиено[2,3,с]пиран]-2'-карбоксамид дигидрохлорид



5 *трет*-Бутил-2'-({[5-(этилсульфонил)пиридин-2-ил]метил}карбамоил)-5'-
метил-4',5'-дигидро-1H-спиро[пиперидин-4,7'-тиено[2,3,с]пиран]-1-карбоксилат
(0,95 г, 1,68 ммоль) растворяли в MeOH (10 мл) и добавляли 4 М HCl в диоксане
(4,5 мл, 18 ммоль). Перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа,
затем упаривали при пониженном давлении с получением указанного в заголовке
10 соединения (0,86 г, 100%) в виде белого твердого вещества. Масс-спектр (m/z): 450
(M+H-2HCl).

Способ синтеза 16

15 (5'S)-N-{[5-(Этилсульфонил)пиридин-2-ил]метил}-5'-метил-4',5'-
дигидроспиро[пиперидин-4,7'-тиено[2,3,с]пиран]-2'-
карбоксамид дигидрохлорид



20 *трет*-Бутил-(5'S)-2'-({[5-(этилсульфонил)пиридин-2-ил]метил}карбамоил)-
5'-метил-4',5'-дигидро-1H-спиро[пиперидин-4,7'-тиено[2,3,с]пиран]-1-
карбоксилат (1,14 г, 2,0 ммоль) растворяли в 1,4-диоксане (10 мл) и MeOH (5 мл).
Добавляли 4 М HCl в диоксане (5,0 мл, 20 ммоль) и перемешивали при комнатной
температуре в течение 2 часов. Упаривали до около 10 мл, затем добавляли Et₂O и

энергично перемешивали в течение ночи. Добавляли смесь изомеров гексана, фильтровали и промывали смесью изомеров гексана с получением указанного в заголовке соединения (0,99 г, 91%) в виде светло-желтого твердого вещества. Масс-спектр (m/z): 450 (M+H-2HCl).

5

Способ синтеза 17

1-[2-(Трифторметил)пиримидин-5-ил]этанол



2-(Трифторметил)пиримидин-5-карбальдегид (11,31 ммоль, 1,992 г) растворяли в ТГФ (56,56 мл), охлаждали до 0°C и медленно добавляли метилмагнийбромид (3 М в Et₂O) (33,94 ммоль, 11,31 мл). Оставляли реакционную смесь нагреваться до комнатной температуры и перемешивали в течение 2,5 часов. Реакцию гасили 1 Н НСl. Добавляли EtOAc и промывали 1 Н НСl. Органические фазы сушили над сульфатом натрия, фильтровали и упаривали при пониженном давлении с получением указанного в заголовке соединения (1,663 г, 76,5%). Масс-спектр (m/z): 193,0 (M+H).

15

Способ синтеза 18

5-(1-Бромэтил)-2-(трифторметил)пиримидин



20

1-[2-(трифторметил)пиримидин-5-ил]этанол (8,655 ммоль, 1,663 г) и трифенилфосфин (12,98 ммоль, 3,405 г) растворяли в ДХМ (86,55 мл) и добавляли N-бромсукцинимид (12,98 ммоль, 2,311 г) при комнатной температуре. Через три часа, реакционную смесь упаривали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали с помощью хроматографии на силикагеле, элюируя смесью 10%

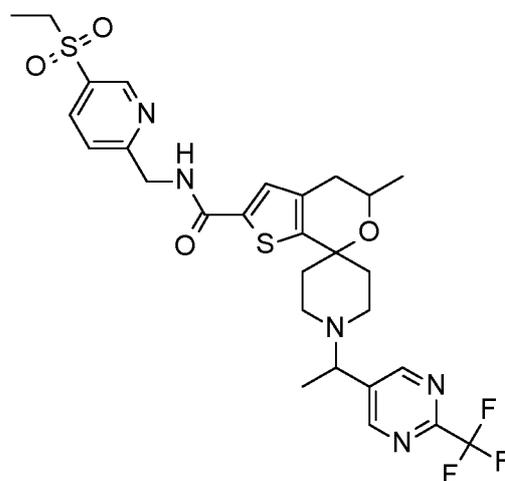
25

EtOAc / смесь изомеров гексана с получением указанного в заголовке соединения (1,641 г, 74,34%). ¹H ЯМР (400,13 МГц, d₆-ДМСО) δ 9,26 (с, 2H), 5,63 (кв., J= 7,0 Гц, 1H), 2,09 (д, J= 7,0 Гц, 3H).

5

Пример 1

N-{[5-(Этилсульфонил)пиридин-2-ил]метил}-5'-метил-1-{1-[2-(трифторметил)пиримидин-5-ил]этил}-4',5'-дигидроспиро[пиперидин-4,7'-тиено[2,3-С]пиран]-2'-карбоксамид



10

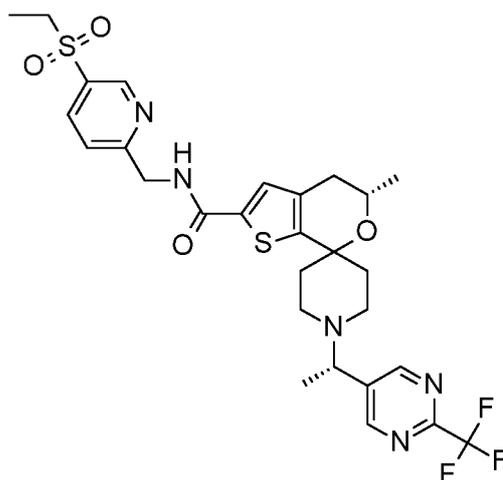
N-{[5-(Этилсульфонил)пиридин-2-ил]метил}-5'-метил-4',5'-

дигидроспиро[пиперидин-4,7'-тиено[2,3,с]пиран]-2'-карбоксамид дигидрохлорид (1,12 г, 2,31 ммоль) растворяли в ацетонитриле (11,6 мл) и диизопропилэтиламине (2,42 мл, 13,9 ммоль) и добавляли 5-(1-бромэтил)-2-(трифторметил)пиримидин (0,71 г, 2,77 ммоль). Смесь нагревали при 60 °С в течение 90 минут, затем охлаждали до температура окружающей среды и упаривали при пониженном давлении. Неочищенную смесь растворяли в MeOH (5 мл), затем загружали на 50 г СФХ колонку. Промывали MeOH (150 мл), а затем элюировали продукт 2 Н раствором аммиака /MeOH (150 мл). Слои аммиак/MeOH упаривали при пониженном давлении до оранжевой пены. Очищали неочищенное вещество с помощью хроматографии на силикагеле, элюируя градиентом 100% ДХМ до 95% ДХМ/MeOH с получением указанного в заголовке соединения (1,54 г, 43%). Масс-спектр (m/z): 624 (M+H).

20

Пример 2

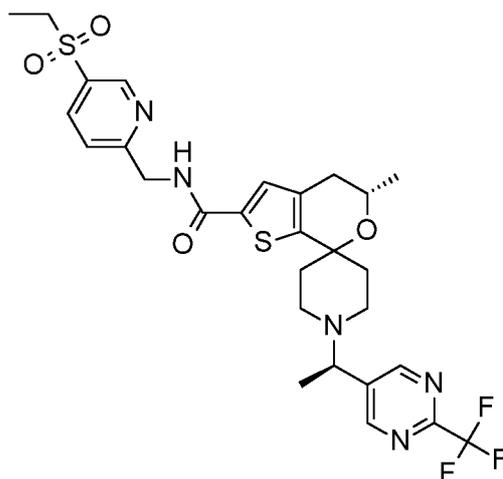
(5S')-N-{{5-(Этилсульфонил)пиридин-2-ил}метил}-5'-метил-1-{{(1S)-1-[2-(трифторметил)пиримидин-5-ил]этил}}-4',5'-дигидроспиро[пиперидин-4,7'тиено[2,3-C]пиран]-2'-карбоксамид



5

Пример 3

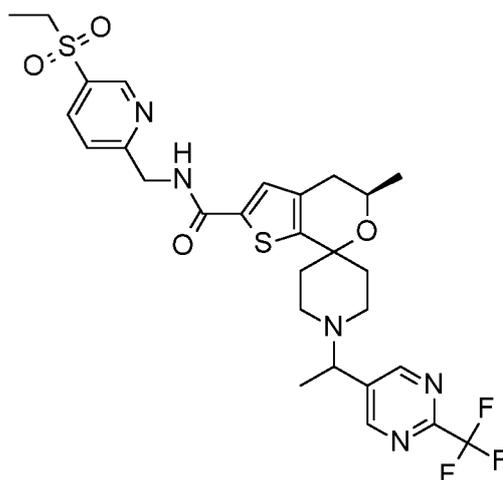
(5S')-N-{{5-(Этилсульфонил)пиридин-2-ил}метил}-5'-метил-1-{{(1R)-1-[2-(трифторметил)пиримидин-5-ил]этил}}-4',5'-дигидроспиро[пиперидин-4,7'тиено[2,3-C]пиран]-2'-карбоксамид



10

Пример 4

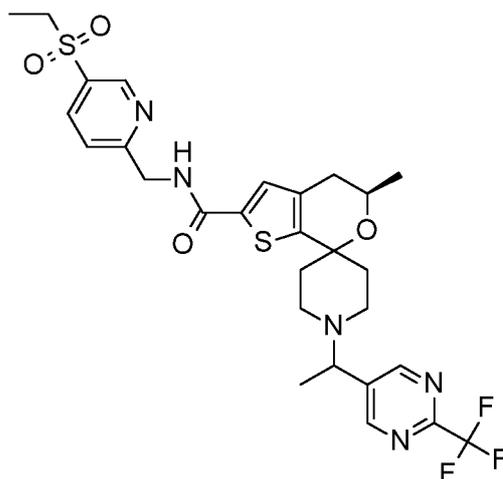
(5R')-N-{[5-(Этилсульфонил)пиридин-2-ил]метил}-5'-метил-1-{1-[2-(трифторметил)пиримидин-5-ил]этил}-4',5'-дигидроспиро[пиперидин-4,7'тиено[2,3-С]пиран]-2'-карбоксамид изомер 1



5

Пример 5

(5R')-N-{[5-(Этилсульфонил)пиридин-2-ил]метил}-5'-метил-1-{1-[2-(трифторметил)пиримидин-5-ил]этил}-4',5'-дигидроспиро[пиперидин-4,7'тиено[2,3-С]пиран]-2'-карбоксамид изомер 2



10

N-{[5-(Этилсульфонил)пиридин-2-ил]метил}-5'-метил-1-{1-[2-(трифторметил)пиримидин-5-ил]этил}-4',5'-дигидроспиро[пиперидин-4,7'тиено[2,3-С]пиран]-2'-карбоксамид (1,28 г, 2,05 ммоль) растворяли в MeOH (58,5 мл). Разделяли с помощью хиральной хроматографии с помощью СФХ [колонка AD-IC (30 x 250 мм, 5 мкм) и элюировали 50% ИПС (20 mM NH₃) при 120

15

мл/минута с введением 4,5 мл (200 мг) каждые 10 минут с получением Примера 5, (5R')-N-{{5-(этилсульфонил)пиридин-2-ил}метил}-5'-метил-1-{{1-[2-(трифторметил)пиримидин-5-ил]этил}}-4',5'-дигидроспиро[пиперидин-4,7'тиено[2,3-С]пиран]-2'-карбоксамида изомер 2 и смешанных фракций, содержащих, Пример 2, (5S')-N-{{5-(этилсульфонил)пиридин-2-ил}метил}-5'-метил-1-{{(1S)-1-[2-(трифторметил)пиримидин-5-ил]этил}}-4',5'-дигидроспиро[пиперидин-4,7'тиено[2,3-С]пиран]-2'-карбоксамид, Пример 3, (5S')-N-{{5-(этилсульфонил)пиридин-2-ил}метил}-5'-метил-1-{{(1R)-1-[2-(трифторметил)пиримидин-5-ил]этил}}-4',5'-дигидроспиро[пиперидин-4,7'тиено[2,3-С]пиран]-2'-карбоксамид и Пример 4, (5R')-N-{{5-(этилсульфонил)пиридин-2-ил}метил}-5'-метил-1-{{1-[2-(трифторметил)пиримидин-5-ил]этил}}-4',5'-дигидроспиро[пиперидин-4,7'тиено[2,3-С]пиран]-2'-карбоксамид изомер 1. Смешанные фракции упаривали и растворяли в MeOH (55,5 мл). Смесь разделяли с помощью хиральной хроматографии с помощью СФХ [колонка OJ-H (30 x 250 мм, 5мкм и элюировали 22% MeOH (20 mM NH₃) при 160 мл/минуту, и введением 5,0 мл каждые 5 минут с получением Примера 4, (5R')-N-{{5-(этилсульфонил)пиридин-2-ил}метил}-5'-метил-1-{{1-[2-(трифторметил)пиримидин-5-ил]этил}}-4',5'-дигидроспиро[пиперидин-4,7'тиено[2,3-С]пиран]-2'-карбоксамида изомер 1 и смеси Примера 3, (5S')-N-{{5-(этилсульфонил)пиридин-2-ил}метил}-5'-метил-1-{{(1R)-1-[2-(трифторметил)пиримидин-5-ил]этил}}-4',5'-дигидроспиро[пиперидин-4,7'тиено[2,3-С]пиран]-2'-карбоксамида и Примера 2, (5S')-N-{{5-(этилсульфонил)пиридин-2-ил}метил}-5'-метил-1-{{(1S)-1-[2-(трифторметил)пиримидин-5-ил]этил}}-4',5'-дигидроспиро[пиперидин-4,7'тиено[2,3-С]пиран]-2'-карбоксамид. Смешанные фракции упаривали и растворяли их в MeOH (30,0 мл). Смесь разделяли с помощью хиральной хроматографии с помощью СФХ [колонка AD-H (50 x 250 мм, 5 мкм) и элюировали 50% ИПС (20 mM NH₃) при 200 мл/мин, и введением 3,0 мл каждые 32 минуты с получением Примера 2, (5S')-N-{{5-(этилсульфонил)пиридин-2-ил}метил}-5'-метил-1-{{(1S)-1-[2-(трифторметил)пиримидин-5-ил]этил}}-4',5'-дигидроспиро[пиперидин-4,7'тиено[2,3-С]пиран]-2'-карбоксамида и Примера 3, (5S')-N-{{5-(этилсульфонил)пиридин-2-ил}метил}-5'-метил-1-{{(1R)-1-[2-(трифторметил)пиримидин-5-ил]этил}}-4',5'-дигидроспиро[пиперидин-

4,7'-тиено[2,3-С]пиран]-2'-карбоксамид. Каждый набор чистых фракций упаривали, затем отделенные продукты растворяли в ацетонитриле (0,6 мл), добавляли воду, замораживали при -78 °С, и лиофилизировали с получением

Примера 2, 0,214 г, 16%, 99,5% э.и., $R_t = 2,94$ минут, Масс-спектр (m/z): 624 (M+H).

5 Пример 3, 0,203 г, 15%, 98,9% э.и., $R_t = 2,75$ минут, Масс-спектр (m/z): 624 (M+H).

Пример 4, 0,251 г, 17%, 98,3% э.и., $R_t = 4,75$ минут, Масс-спектр (m/z): 624 (M+H).

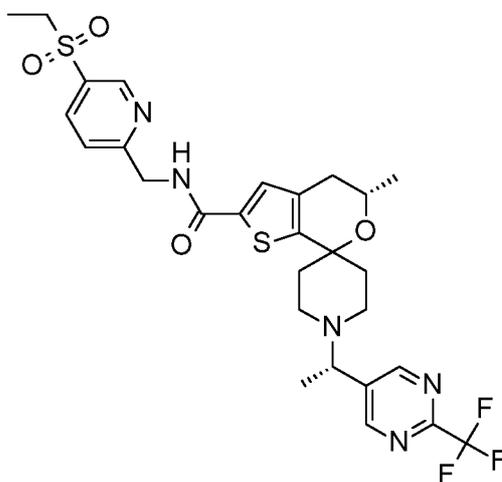
Пример 5, 0,272 г, 18%, 100% э.и., $R_t = 4,33$ минут, Масс-спектр (m/z): 624 (M+H).

Аналитические условия: СФХ (220 нм УФ), колонка: AD-IC 30 x 250 мм, 5 мкм, подвижная фаза: 50% ИПС (20 мМ NH₃). -Аналитические условия хиральной ЖХ :
10 СФХ (225 нм УФ), колонка Chirocel OJ-H, 20% MeOH (0,2% изопропиламин)/CO₂, 5 мл/мин.

Альтернативный способ синтеза Примера 2

(5S')-N-{[5-(Этилсульфонил)пиридин-2-ил]метил}-5'-метил-1-((1S)-1-[2-(трифторметил)пиримидин-5-ил]этил}-4',5'-дигидроспиро[пиперидин-4,7'-тиено[2,3-С]пиран]-2'-карбоксамид

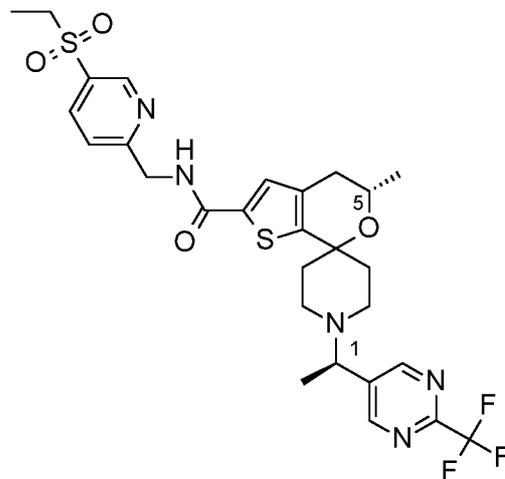
15



и альтернативный способ синтеза Примера 3

(5S')-N-{[5-(Этилсульфонил)пиридин-2-ил]метил}-5'-метил-1-((1R)-1-[2-(трифторметил)пиримидин-5-ил]этил}-4',5'-дигидроспиро[пиперидин-4,7'-тиено[2,3-С]пиран]-2'-карбоксамид

20



(5S)-N-([5-(Этилсульфонил)пиридин-2-ил]метил}-5'-метил-4',5'-дигидроспиро[пиперидин-4,7'-тиено[2,3,с]пиран]-2'-карбоксамид дигидрохлорид (28,28 г, 58,19 ммоль) растворяли в ацетонитриле (280 мл) и диизопропилэтиламине (50 мл, 290,9 ммоль) и добавляли 5-(1-бромэтил)-2-(трифторметил) пиримидин (0,71 г, 2,77 ммоль), затем перемешивали при температуре окружающей среды в течение ночи. Упаривали при пониженном давлении, затем неочищенную смесь растворяли в ДХМ и очищали хроматографией на силикагеле, элюируя смесью 100% EtOAc с получением смеси 10 указанных в заголовке соединений. Разделяли с помощью хиральной хроматографии [колонка Chiralpak IA (8 x 40,5 см, 225 нм) и элюируя смесью 40% ацетонитрил/60% изопропиловый спирт (с 0,2% диметилэтиламином) при 400 мл/минута, введение 20 мл (2000 мг). Каждый диастереомер упаривали при пониженном давлении, затем растворяли в горячем этаноле (250 мл), фильтровали горячим, затем оставляли охладиться до температуры окружающей среды и промывали холодным этанолом. Твердое вещество сушили в вакуумной печи при 55 °С с получением Примера 2, 9,94 г, 27%, 90,8 % э.и., $R_t = 3,93$ минут, Масс-спектр (m/z): 624 (M+H) и Примера 3, 9,42 г, 26%, 98,8% э.и., $R_t = 9,25$ минут, Масс-спектр (m/z): 624 (M+H)) в виде кристаллического вещества. Аналитические условия: колонка Chiralpak IA (4,6 x 150 мм, 225 нм) и элюировали смесью 40% ацетонитрил/60% изопропиловый спирт (с 0,2% диметилэтиламин) при 1 мл/минута.

Дифракция рентгеновского излучения, Пример 3

Монокристалл устанавливали на тонком волокне MiTeGen при 23°C. Данные собирали с использованием источника излучения CuK α ($\lambda = 1,54178 \text{ \AA}$) и 3-гранного гониометра на основе Bruker D8, оборудованного детектором области SMART 6000CCD (Bruker-AXS. SHELXTL (V2013 6.2) Мэдисон, Висконсин, США). Уточнение структуры и обработку данных выполняли с помощью программы SAINT V8.32b (Sheldrick, G.M., (2008), SHELXS-97, Acta Cryst. A64, 112-122). Индексировали элементарную ячейку имеющую параметры моноклинной ячейки $a = 10,1624(2) \text{ \AA}$, $b = 9,9080(2) \text{ \AA}$, $c = 15,1085(3) \text{ \AA}$, и $\alpha = 90^\circ$, $\beta = 100,6879(14)^\circ$, $\gamma = 90^\circ$. Объём ячейки в кристаллической структуре равнялся 1494,87(5) \AA^3 . Расчетная плотность структуры равнялась 1,386 г/см³ при 23°C. Структуру решали с помощью прямых методов (Sheldrick, G.M., (2008), SHELXS-97, Acta Cryst. A64, 112-122). Все атомные параметры были независимо уточнены. Выбор кристаллографической группы, которая является P2₁, подтверждалась успешной конвергенцией полномасштабного уточнения наименьших квадратов на F² (Sheldrick, GM, (2013), SHELXL-2013, Программа для уточнения кристаллической структуры, Институт неорганической химии, Гёттинген, Германия) с окончательной 1.088. Конечный остаточный коэффициент R₁ равен = 0,0771, а наибольшая разность пиков и дырок после окончательного цикла уточнения составляла 0.315 и -0.333 (e.Å⁻³), соответственно. Абсолютный структурный параметр уточнён до 0,072(17).

Определяли структура примера 3 и молекулярная структура соответствует изображённой в Примере 3. Следует отметить, что кристаллическая структура имеет высокое качество и устанавливает абсолютную стереохимию хиральных центров примера 3 C5 как (S) и C1 как (R) от группы пиперидина с использованием аномального вклада рассеяния тяжелого атома (серы) в структуре. Абсолютная конфигурация определена из кристаллической структуры как (5'S)-N-{{5-(этилсульфонил)пиридин-2-ил}метил}-5'-метил-1-{{(1R)-1-[2-(трифторметил)пиримидин-5-ил]этил}-4',5'-дигидроспиро [пиперидин-4,7'-тиено[2,3-с]пиран]-2'-карбоксамид.

Биологические Тесты

Связывание Ингибиторов с RORa, b, и g

Для определения значений K_i использовали тесты конкурентного связывания рецептор-лиганд His-меченного человеческого родственного RAR орфанного рецептора альфа (hRORa), родственного RAR человеческого орфанного рецептора бета (hRORb) и родственного RAR человеческого орфанного рецептора гамма (hRORg). Типичные процедуры приведены ниже.

Тесты конкурентного связывания с рецептором проводят в буфере, состоящем из ФСБД (1 л) (Nyclone # SH30028.03), 2,2 г фракции БСА v (Roche # 9048-46-8), 100 мл глицерина (Fischer # 56-81-5) и 40 мл ДМСО (реагентная чистота). Конечные лунки содержат 20мкг/мл аprotинина и 20мкг/мл лейпептина и 10 мкл Refabloc (Пефаблок). Обычно тесты связывания с рецепторами включают в себя радиомеченные лиганды, такие как 7 нМ [3H]-25-гидроксихолестерин для связывания с альфа-рецептором, 20 нМ [3H]-3-[[4-[[3-(2,6-дихлорфенил)-5-изопропил-изоксазол-4-ил]метокси]-N,2-диметиланилино]метил]бензойную кислоту для связывания с бета-рецептором и 6 нМ [3H]-25-гидроксихолестерин для связывания с гамма-рецептором и 0,5 мкг рецептора RORa, 0,03мкг рецептора RORb или 0,13 мкг рецептора RORg на лунку. Тесты обычно проводят в 96-луночном формате. Конкурирующие испытуемые соединения добавляют при различных концентрациях в пределах от около 0,4 нМ до 25 мкМ. Неспецифическое связывание определяют в присутствии 250 нМ 25-гидроксихолестерина для связывания RORa и RORg, 250 нМ 3-[[4-[[3-(2,6-дихлорфенил)-5-изопропил-изоксазол-4-ил]метокси]-N, 2-диметиланилино] метил] бензойной кислоты для связывания RORb. Растворы для образцов, меток и рецепторов объединяют в 96-луночном аналитическом планшете (Costar 3632) и инкубируют в течение ночи при комнатной температуре, затем добавляют 25 мкл гранул (Amersham YSi (2-5 микрон) медные His-tag Spa Beads, # RPNQ0096) до конечной концентрации гранул добавленных к каждой реакции 1 мг/лунку. Планшеты перемешивают в течение 30 минут на орбитальном шейкере при комнатной температуре. После инкубации в течение 4 часов планшеты считывают на счетчике Wallac MICROBETA®.

Данные используются для расчета предполагаемого IC₅₀ с использованием четырехпараметрического логистического выравнивания. K_d для [3H]-25-гидроксихолестерина для ROR_a и ROR_g и [3H]-3-[[4-[[3-(2,6-дихлорфенил)-5-изопропил-изоксазол-4-ил]метокси]-N,2-диметиланилино]метил] бензойной кислоты для связывания с ROR_b, определяют связыванием до насыщения. Значения IC₅₀ для соединений преобразуются в K_i с использованием уравнения Чэн-Прушоффа.

Результаты следующих примеров соединений показаны в таблице 2 ниже.

Таблица 2

Пример №	ROR _a K _i (нМ)	ROR _b K _i (нМ)	ROR _g K _i (нМ)
1	>20,400	>12500	12,0 ± 7,3, n=2
2	>20,400	>12500	6,24 ± 0,73, n=2
3	>20,400	>12500	16,6 ± 8,8, n=5
4	>20,400	2190	148 ± 40, n=2
5	>20,400	407	153 ± 25, n=2

10 Значение ± СОСЗ; СОСЗ = стандартная ошибка среднего значения

Данные результаты демонстрируют, что соединения Таблицы 2 являются селективными к ROR_g по отношению ROR_a и ROR_b.

15 Тест HEK293 ROR_g GAL4 рецептор-репортер

В качестве индикатора обратной агонистической активности, тест рецептор-репортер RAR-родственного орфанного рецептора гамма (ROR_g) (ROR_g-GAL4 / pGL4.31) проводится в клетках HEK293. HEK293 клетки ко-трансфицировали с использованием реагента Eugene™. Репортерную плазмиду, содержащую связывающий домен GAL4 и минимальный аденовирусный промотор перед геном люциферазы светлячка, ко-трансфицируют с плазмидой, конститутивно экспрессирующей домен связывания лиганда ROR_g человека, слитый с ДНК-связывающим доменом GAL4 дрожжей. Клетки трансфицировали в T150 см² колбах в среде MEM без ФБС. После 18 часов инкубации трансфицированные клетки трипсинизируют, высевают в 96-луночные планшеты для микротитрования в среде СИМД-F12 3:1, содержащей 10% ФБС, инкубируют в течение 4 часов и затем подвергают воздействию различных концентраций тестируемых соединений в диапазоне от около 0,05 нМ до 10мкМ. После 18 часов инкубации с

соединениями, клетки лизируют и активность люциферазы количественно определяют с использованием стандартных техник. Данные выравнивали 4 параметрическим логистическим выравниванием, для определения значений IC₅₀.

Результаты следующих примеров соединений показаны в таблице 3 ниже.

5

Таблица 3

Пример №	hIC ₅₀ (нМ)
1	56,5 ± 39,4, n=2
2	45,8 ± 8,5, n=2
3	21,8 ± 7,03, n=2
4	97,9 ± 5,1, n=2
5	59,5 ± 1,3, n=2

Значение ± СОСЗ; СОСЗ = стандартная ошибка среднего значения

Данные результаты демонстрируют, что соединения Таблицы 3 являются обратными агонистами по отношению к ROR_γ рецептору человека.

10

PBMC IL-17 анализ секреции ELISA и анализ жизнеспособности клеток Cell TiterGlo.

PBMC выделяют из цельнокровяных лейкоцитарных плёнок с помощью первичной комбинации свежих лейкоцитарных пленок с равными объемами забуференного фосфатом физиологического раствора. Тридцать пять мл раствора PBS / лейкоцитарная пленка затем осторожно накладывают на 15 мл Ficoll в 50 мл конических пробирках. После центрифугирования в течение 30 минут при 500 × g (с медленным ускорением и замедлением) верхний слой плазмы отбрасывается, и слой клеток вдоль границы среды с Ficoll собирают и объединяют. Каждая пробирка объемом 250 мл заполняется доверху средой RPMI-1640 комнатной температуры. Пробирки центрифугируются в течение 10 минут при 500×G (с медленным ускорением и замедлением), среда удаляется аспирацией, и этап промывки повторяется. Клетки ресуспендируют в охлажденной льдом восстановительной клеточной среде для замораживания от Life Technologies (номер в каталоге 12648-010) на льду. Концентрацию клеток доводят до 66,7 млн. клеток / мл. Клетки медленно замораживают при -1 ° C / мин в пробирках с 100 миллионами клеток и хранят в жидком азоте.

25

Стимулирование секреции IL-17 и добавление соединения

РВМС оттаивают путем ресуспендирования с 1 мл полной среды (RPMI-1640, содержащей 30 mM HEPES, 100 единиц / мл пенициллина, 100 мкг / мл стрептомицина, 3,25 mM L-глутамин, 0,2 мкМ бета-меркаптоэтанол и 10% ФБС) с последующим добавлением по каплям 2 мл, 4 мл, 8 мл и 16 мл полной среды с осторожным перемешиванием круговыми движениями. Клетки центрифугируют в течение 5 минут, и осадок клеток ресуспендируют в полных средах. Сгустки клеток разрушаются путем пропускания раствора содержащего клетки через иглу шприца 23 калибра и 40 мкМ клеточный фильтр. Сто тысяч клеток на лунку добавляют в 384-луночные полистироловые планшеты с обработанным плоским дном для клеточной культуры, объемом 30 мкл. Стимулирующий коктейль, содержащий человеческое антитело против CD3, человеческое антитело против CD28, IL-23 и соединения, полученные в полной среде, добавляют к клеткам одновременно в общем объеме 30 мкл. Конечная концентрация добавленных стимуляторов составляет 160 нг/мл, 500 нг/мл и 5 нг/мл для антитела против CD3, антитела против CD28 и IL-23 соответственно и 0,3% для ДМСО. Планшеты герметизируют герметизирующей пленкой AERASEAL® и инкубируют в течение 48 часов при 37 °C, влажности 95% и 5% CO₂.

После инкубационного периода планшеты центрифугируют при 200 × g в течение пяти минут. Супернатанты разводят 1:1 с равным объемом 1% БСА /PBS) и тестируют на IL-17 с помощью набора IL-17 ELISA человека из R&D system (номер в каталог #D317E) в соответствии с протоколом, поставляемым с комплектом, за одним исключением - вместо колориметрического субстрата, поставляемого в комплекте используют колориметрический субстрат OPD (дигидрохлорид о-фенилендиамина, Sigma номер в каталоге #P6912). Абсорбция при 492 нм измеряется с помощью многоканального планшетного ридера Envision. Значения A492 преобразуют в концентрацию IL-17 на основе стандартной кривой IL-17, как показано ниже:

$$\text{пг/мл IL-17} = \text{EC}_{50} * \left[\frac{(\text{Верх-Низ})}{(\text{A492-Низ})} - 1 \right] (1/\text{-Горб})$$

IC₅₀ для ингибирования секреции IL-17 рассчитывают на основе преобразованных значений, используя стандартное 4-параметрическое выравнивание с максимальным ингибированием,

определяемым из средних значений лунок, в которые не добавляли ни стимуляторов, ни соединений и минимальным ингибированием из средних значений лунок, в которые добавляли стимуляторы и не добавляли соединения.

Равные объемы реагента для определения жизнеспособности клеток Cell TITERGLO® (Promega номер в каталоге #G7573) добавляют к клеткам, оставшимся в планшетах, и после пятнадцатиминутной инкубации с аккуратным встряхиванием при комнатной температуре, измеряют люминесценцию с помощью многоканального планшетного ридера Envision. Процентная гибель клеток рассчитывается с помощью установления 100% активности (гибели клеток) при нулевых единицах люминесценции и минимальной активности (максимальное количество жизнеспособных клеток) в качестве средних единиц люминесценции лунок, содержащих только стимуляторы, и никакого добавленного соединения. IC₅₀ рассчитывали с использованием четырех параметрического выравнивания.

Результаты следующих примеров соединений показаны в таблице 4 ниже.

15 Таблица 4

Пример №	hPBMC IL-17 ELISA (нМ)	Cell TiterGlo жизнеспособность клеток (EC ₅₀)
1	77,3	>1.0 мкМ
2	33,7 ± 33,1, n=6	>1.0 мкМ
3	20,0 ± 12,6, n=12	>1,0 мкМ
4	106	>1,0 мкМ
5	30,5 ± 29,3, n=4	>1,0 мкМ

Значение ± СОСЗ; СОСЗ = стандартная ошибка среднего значения

Эти результаты показывают, что соединения из таблицы 4 ингибируют антитело к CD3 / антитело к CD28 / IL-23 стимулированную секрецию IL-17 в PBMC без измеримого цитотоксического эффекта.

20

Модель артрита, индуцированная глюкозо-6-фосфатизомеразой (GPI):

Модель артрита, индуцированная GPI, адаптирована из K. Iwanami et al *Arthritis Rheumatism* 58, 754–763, 2008 и D. Schubert et al. *J Immunology* 172, 4503-4509, 2004. Мышей (8-9 недельных самцов мышей DBA/1) (Harlan) случайным

25

образом назначают в группы лечения по весу тела, полученному в день иммунизации (день 0). В день иммунизации (день 0) смесь 1:1 (об.:об.) рекомбинантной GPI человека (разведенной до 4 мг / мл в ФБС(Gibco)) и полный адъювант Фрейнда (CFA, Sigma) смешивают в гомогенизаторе на высокой скорости (Omni) в течение 40 минут в холодной комнате. В эмульсии достигается конечная концентрация GPI 2 мг / мл. Мышам вводят эмульсию GPI в основание хвоста (2 участка инъекции, подкожно, по 100 мкл для каждого участка). Испытуемые соединения вводят перорально, начиная с того же дня, что и иммунизация (день 0). Начиная с 0-го дня, каждая лапа оценивается по степени тяжести набухания суставов на основе 0-3 системы подсчета баллов (См. К. Iwanami et al *Arthritis Rheumatism* 58, 754–763, 2008). Клиническая оценка представляет общий балл всех 4 лап (максимальный балл = 12). Клинические оценки оцениваются в дни 0, 2, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 16, 18 и 21.

AUC рассчитывается с помощью трапециевидного метода для клинической оценки с течением времени со дня иммунизации (день 0) до 21 дня. Р-значения тестирования были получены из t-теста Стьюдента.

Лечение (n = 8 / группа) примером 3 (1000 мг / кг) и носителем (1% НЕС, 0,25% полисорбата 80 и 0,05% противовспенивателя в очищенной воде), начинают в день 0 и вводят перорально один раз в день. Пример 3 уменьшает тяжесть набухания лапы и поддерживает более низкие средние клинические баллы по ходу болезни по сравнению с группой с носителем. Этот эффект приводит к 75% -ному сокращению AUC клинической оценки, по совокупному показателю набухания лапы с течением времени, что статистически значимо по сравнению с группой с носителем, как показано в таблице 5.

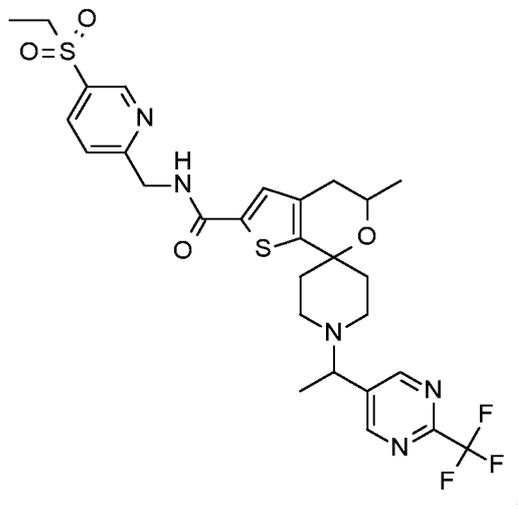
Таблица 5

Лечение	Клиническая оценка AUC (значение \pm СОСЗ)
Плацебо	87,70 \pm 4,88
Пример 3	22,20 \pm 8,68*

Значения указаны как значение \pm СОСЗ. *p<0,05 по сравнению с носителем (Стьюдент t-тест). СОСЗ = стандартная ошибка среднего значения

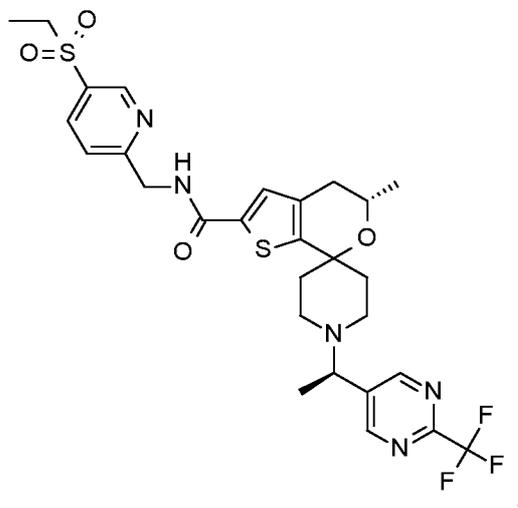
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы



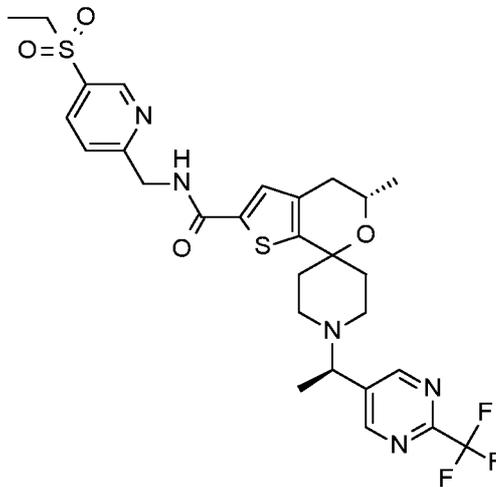
5 или его фармацевтически приемлемая соль.

2. Соединение по п. 1 формулы



или его фармацевтически приемлемая соль.

3. Соединение по п. 1 или 2 формулы



- 5 4. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по любому из пп. 1-3 или его фармацевтически приемлемую соль, в комбинации с одним или более фармацевтически приемлемых носителей, разбавителей или вспомогательных веществ.
- 10 5. Фармацевтическая композиция по п. 4, отличающаяся тем, что содержит один или более других терапевтических агентов.
- 15 6. Способ лечения псориаза, включающий введение соединения по любому из пп. 1-3 или его фармацевтически приемлемой соли пациенту, нуждающемуся в этом.
- 20 7. Способ лечения серонегативных спондилартропатий, включающий введение соединения по любому из пп. 1-3 или его фармацевтически приемлемой соли пациенту, нуждающемуся в этом.
8. Способ по п.7 для лечения аксиального спондилоартрита, анкилозирующего спондилоартрита или псориатического артрита.

9. Соединение по любому из пп. 1-3 или его фармацевтически приемлемая соль для применения в лечении.
- 5 10. Соединение по любому из пп. 1-3 или его фармацевтически приемлемая соль для применения в лечении псориаза.
11. Соединение по любому из пп. 1-3 или его фармацевтически приемлемая соль для применения в лечении серонегативных спондилартропатий.
- 10 12. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль для применения по п.11, отличающееся тем, что применяется для лечения аксиального спондилоартрита, анкилозирующего спондилоартрита или псориатического артрита.
- 15 13. Применение соединения по любому из пп. 1-3 или его фармацевтически приемлемой соли для изготовления лекарственного средства для лечения псориаза.
- 20 14. Применение соединения по любому из пп. 1-3 или его фармацевтически приемлемой соли для изготовления лекарственного средства для лечения серонегативных спондилартропатий.
- 25 15. Применение по п. 14 для изготовления лекарственного средства для лечения аксиального спондилоартрита, анкилозирующего спондилоартрита или псориатического артрита.