

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202392379** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки  
2023.12.11

(51) Int. Cl. *C07D 471/04* (2006.01)  
*A61K 31/4353* (2006.01)  
*A61P 35/00* (2006.01)  
*A61P 37/02* (2006.01)

(22) Дата подачи заявки  
2022.03.22

**(54) КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ ФОРМА ФТОРЗАМЕЩЕННОГО СОЕДИНЕНИЯ  
ПИРИДОПИРАЗОЛА И СПОСОБ ЕЕ ПОЛУЧЕНИЯ**

(31) 202110309088.5

(32) 2021.03.23

(33) CN

(86) PCT/CN2022/082353

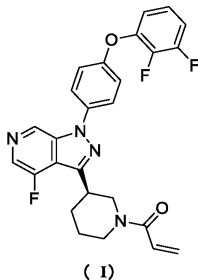
(87) WO 2022/199591 2022.09.29

(71) Заявитель:  
ДЖАМБО ДРАГ БЭНК КО., ЛТД.  
(CN)

(72) Изобретатель:  
Чжу Юйчуань, Вэй Сявэй, Ван  
Хаобинь, Шэнь Чуньли, Цзян Нин, У  
Чэндэ (CN)

(74) Представитель:  
Билык А.В., Поликарпов А.В.,  
Соколова М.В., Путинцев А.И.,  
Черкас Д.А., Игнатъев А.В., Дмитриев  
А.В., Бучака С.М., Бельтюкова М.В.  
(RU)

(57) Предложены кристаллическая форма фторзамещенного соединения пиридопиразола и способ ее получения. Также предложено применение указанного соединения и его кристаллической формы для получения лекарственного средства для лечения соответствующего заболевания.



**A1**

**202392379**

**202392379**

**A1**

**КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ ФОРМА ФТОРЗАМЕЩЕННОГО СОЕДИНЕНИЯ  
ПИРИДОПИРАЗОЛА И СПОСОБ ЕЕ ПОЛУЧЕНИЯ  
ПЕРЕКРЕСТНЫЕ ССЫЛКИ НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ**

Настоящая заявка претендует на приоритет китайской патентной заявки CN202110309088.5, поданной 23 марта 2021 г.

**ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ**

Настоящее изобретение относится к кристаллической форме фторзамещенного соединения пиридопиразола и к способу ее получения, и также относится к применению указанного соединения и его кристаллической формы для получения лекарственного средства для лечения соответствующего заболевания.

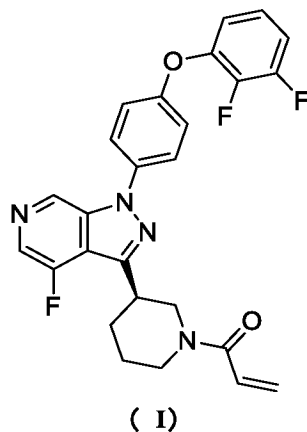
**ПРЕДШЕСТВУЮЩИЙ УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ**

Тирозинкиназа Брутона (ВТК) является ключевой киназой сигнального пути В-клеточного рецептора антигена (BCR); необратимо действующие ингибиторы ВТК связываются с активным сайтом Cys-481 киназы ковалентными связями, ингибируя активность ВТК, что приводит к эффективному ингибированию гиперпролиферации В-клеток для достижения противоопухолевого или противовоспалительного действия.

В настоящее время одним из лекарственных средств, уже доступных для коммерческой реализации, является ибрутиниб, который представляет собой необратимо действующий ингибитор ВТК, разработанный совместно Pharmacyclis и Johnson&Johnson; он одобрен Управлением по контролю за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA) для лечения мантийноклеточной лимфомы, хронического лимфолейкоза, макроглобулинемии Фаренгейта, хронической болезни "трансплантат против хозяина" и подобных заболеваний. Однако ибрутиниб также оказывает сильное ингибирующее действие на другие киназы, помимо ВТК, в особенности, на такие киназы, как киназа рецептора эпидермального фактора роста (EGFR), индуцируемая интерлейкином-2 Т-клеточная киназа (ITK) и тирозинкиназа, экспрессируемая в клетках карциномы печени (ТЕС), которое может приводить к серьезным нежелательным реакциям, таким как сыпь, диарея и кровотечения. Таким образом, в данной области техники необходимо разработать новый тип высокоактивных и высокоселективных ингибиторов ВТК для лечения соответствующих заболеваний.

**СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

Настоящее изобретение относится к кристаллической форме А соединения, имеющего Формулу (I), где его спектр, полученный способом рентгеновской порошковой дифрактометрии (РПД), содержит характеристические дифракционные пики при следующих углах  $2\theta$ :  $17,7805\pm 0,2000^\circ$ ,  $22,0193\pm 0,2000^\circ$ ,  $27,4192\pm 0,2000^\circ$ ,



В некоторых аспектах настоящего изобретения РПД спектр вышеуказанной кристаллической формы А содержит характеристические дифракционные пики при следующих углах  $2\theta$ :  $15,0010\pm 0,2000^\circ$ ,  $17,0603\pm 0,2000^\circ$ ,  $17,7805\pm 0,2000^\circ$ ,  $22,0193\pm 0,2000^\circ$ ,  $23,5013\pm 0,2000^\circ$ ,  $27,4192\pm 0,2000^\circ$ .

В некоторых аспектах настоящего изобретения РПД спектр вышеуказанной кристаллической формы А содержит характеристические дифракционные пики при следующих углах  $2\theta$ :  $8,1387\pm 0,2000^\circ$ ,  $15,0010\pm 0,2000^\circ$ ,  $16,1591\pm 0,2000^\circ$ ,  $17,0603\pm 0,2000^\circ$ ,  $17,7805\pm 0,2000^\circ$ ,  $22,0193\pm 0,2000^\circ$ ,  $23,5013\pm 0,2000^\circ$ ,  $27,4192\pm 0,2000^\circ$ .

В некоторых аспектах настоящего изобретения РПД спектр вышеуказанной кристаллической формы А содержит характеристические дифракционные пики при следующих углах  $2\theta$ :  $8,1387\pm 0,2000^\circ$ ,  $13,6809\pm 0,2000^\circ$ ,  $15,0010\pm 0,2000^\circ$ ,  $16,1591\pm 0,2000^\circ$ ,  $17,0603\pm 0,2000^\circ$ ,  $17,7805\pm 0,2000^\circ$ ,  $22,0193\pm 0,2000^\circ$ ,  $23,5013\pm 0,2000^\circ$ ,  $24,0218\pm 0,2000^\circ$ ,  $27,4192\pm 0,2000^\circ$ .

В некоторых аспектах настоящего изобретения РПД спектр вышеуказанной кристаллической формы А содержит характеристические дифракционные пики при следующих углах  $2\theta$ :  $17,7805\pm 0,2000^\circ$ ,  $22,0193\pm 0,2000^\circ$  и/или  $27,4192\pm 0,2000^\circ$  и/или  $8,1387\pm 0,2000^\circ$  и/или  $9,8194\pm 0,2000^\circ$  и/или  $13,6809\pm 0,2000^\circ$  и/или  $15,0010\pm 0,2000^\circ$  и/или  $16,1591\pm 0,2000^\circ$  и/или  $17,0603\pm 0,2000^\circ$  и/или  $18,4386\pm 0,2000^\circ$  и/или  $19,5400\pm 0,2000^\circ$  и/или  $21,3193\pm 0,2000^\circ$  и/или  $23,1597\pm 0,2000^\circ$  и/или  $23,5013\pm 0,2000^\circ$  и/или  $24,0218\pm 0,2000^\circ$  и/или  $26,1791\pm 0,2000^\circ$  и/или  $26,6006\pm 0,2000^\circ$  и/или  $27,1199\pm 0,2000^\circ$  и/или  $29,1595\pm 0,2000^\circ$  и/или  $29,7190\pm 0,2000^\circ$  и/или  $30,8417\pm 0,2000^\circ$  и/или

31,2196±0,2000° и/или 32,2992±0,2000° и/или 32,9612±0,2000° и/или 33,7773±0,2000° и/или 34,3779±0,2000° и/или 35,1796±0,2000° и/или 37,1408±0,2000°.

В некоторых аспектах настоящего изобретения РПД спектр вышеуказанной кристаллической формы А содержит характеристические дифракционные пики при следующих углах  $2\theta$ : 8,1387°, 9,8194°, 13,6809°, 15,0010°, 16,1591°, 17,0603°, 17,7805°, 18,4386°, 19,5400°, 21,3193°, 22,0193°, 23,1597°, 23,5013°, 24,0218°, 26,1791°, 26,6006°, 27,1199°, 27,4192°, 29,1595°, 29,7190°, 30,8417°, 31,2196°, 32,2992°, 32,9612°, 33,7773°, 34,3779°, 35,1796°, 37,1408°.

В некоторых аспектах настоящего изобретения общий вид РПД спектра вышеуказанной кристаллической формы А представлен на Фиг. 1.

В некоторых аспектах настоящего изобретения вышеуказанная кристаллическая форма имеет А данные спектрального РПД анализа, представленные в Таблице 1.

Таблица 1. Данные спектрального РПД анализа кристаллической формы А соединения, имеющего Формулу (I)

Номер	Угол $2\theta$ (°)	Межплоскостное расстояние (А)	Интенсивность (импульсы)	Относительная интенсивность (%)
1	8,1387	10,8548	1132	25,5
2	9,8194	9,0002	307	6,9
3	13,6809	6,4673	990	22,3
4	15,0010	5,9011	1385	31,2
5	16,1591	5,4807	1198	26,9
6	17,0603	5,1931	1382	31,1
7	17,7805	4,9844	1529	34,4
8	18,4386	4,8079	800	18,0
9	19,5400	4,5393	777	17,5
10	21,3193	4,1643	265	6,0
11	22,0193	4,0335	4446	100,0
12	23,1597	3,8374	1081	24,3
13	23,5013	3,7824	1445	32,5
14	24,0218	3,7016	930	20,9
15	26,1791	3,4013	615	13,8
16	26,6006	3,3483	841	18,9
17	27,1199	3,2854	806	18,1

18	27,4192	3,2502	1635	36,8
19	29,1595	3,0600	160	3,6
20	29,7190	3,0037	388	8,7
21	30,8417	2,8969	212	4,8
22	31,2196	2,8627	137	3,1
23	32,2992	2,7694	248	5,6
24	32,9612	2,7153	201	4,5
25	33,7773	2,6515	234	5,3
26	34,3779	2,6065	202	4,5
27	35,1796	2,5490	135	3,0
28	37,1408	2,4187	163	3,7

В некоторых аспектах настоящего изобретения начальная точка эндотермического пика на кривой, полученной способом дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) для вышеуказанной кристаллической формы А, находится при  $107,89 \pm 3,00^\circ\text{C}$ , и пик экзотермического пика находится при  $147,76 \pm 3,00^\circ\text{C}$ .

В некоторых аспектах настоящего изобретения ДСК спектр вышеуказанной кристаллической формы А имеет вид, представленный на Фиг. 2.

В некоторых аспектах настоящего изобретения потери массы вышеуказанной кристаллической формы А, определяемые по кривой термогравиметрического анализа (ТГА), достигают  $0,06\%$  при  $200,0 \pm 3^\circ\text{C}$ .

В некоторых аспектах настоящего изобретения ТГА спектр вышеуказанной кристаллической формы А имеет вид, представленный на Фиг. 3.

В некоторых аспектах настоящего изобретения монокристалл вышеуказанной кристаллической формы А имеет следующие рентгенодифракционные данные: моноклинная кристаллическая система, пространственная группа  $C2$ , параметры кристаллической ячейки:  $a=22,0128(6) \text{ \AA}$ ,  $b=12,7542(3) \text{ \AA}$ ,  $c=16,0152(4) \text{ \AA}$ ,  $\alpha = \gamma = 90^\circ$ ,  $\beta = 90,4900(10)^\circ$ , объем  $V=4496,2(2) \text{ \AA}^3$ , величина параметра Флэка абсолютной конфигурации:  $0,04(3)$ .

Настоящее изобретение также относится к способу получения кристаллической формы А соединения, имеющего Формулу (I), включающему:

1) Соединение, имеющее Формулу (I), помещают в растворитель для получения раствора;

2) В раствор добавляют антирастворитель, перемешивают при определенной температуре в течение периода времени и фильтруют, осадок на фильтре сушат при пониженном давлении.

Где растворитель представляет собой сложноэфирный растворитель, растворитель, представляющий собой простой эфир, или спиртовой растворитель.

Антирастворитель представляет собой н-гептан, н-гексан или воду.

Температура перемешивания составляет от 0 до 40°C.

Время перемешивания составляет от 12 до 48 часов.

Настоящее изобретение также относится к способу получения кристаллической формы А соединения, имеющего Формулу (I), включающему:

1) Соединение, имеющее Формулу (I), помещают в растворитель для получения раствора;

2) В раствор добавляют антирастворитель, смесь перемешивают при 30°C и фильтруют, осадок на фильтре сушат при пониженном давлении.

При этом растворитель представляет собой этилацетат, тетрагидрофуран или этанол.

Антирастворитель представляет собой н-гептан, н-гексан или воду.

Время перемешивания составляет от 12 до 20 часов.

Настоящее изобретение также относится к применению вышеуказанной кристаллической формы А для получения лекарственного средства для лечения заболевания, связанного с ВТК.

В некоторых аспектах настоящего изобретения заболевание, связанное с ВТК, представляет собой гематому или аутоиммунное заболевание.

#### ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Если не указано иное, приведенные ниже упоминаемые в настоящей работе термины и фразы имеют нижеследующие значения. В отсутствие конкретного определения конкретная фраза или термин не должны считаться неопределенными или неясными, напротив, им должно быть приписано общепринятое значение. Если в настоящей работе упоминается наименование продукта, то предполагается, что оно относится к соответствующему продукту или его активному ингредиенту.

Промежуточные соединения согласно настоящему изобретению могут быть получены различными способами синтеза, хорошо известными специалистам в данной области техники, включая конкретные способы воплощения, перечисленные ниже, способы воплощения, образованные комбинированием с другими химическими

способами синтеза, и эквивалентные замены способов, хорошо известные специалистам в данной области техники. Предпочтительные способы воплощения включают, без ограничений, воплощения настоящего изобретения.

Химические реакции конкретных способов воплощения настоящего изобретения проводят в подходящих растворителях, и растворители должны быть подходящими для выполнения химических превращений настоящего изобретения и для работы с требуемыми реагентами и материалами в настоящем изобретении. В некоторых случаях для получения соединения согласно настоящему изобретению специалистам в данной области техники иногда необходимо изменить или выбрать этапы синтеза или реакционные процессы на основании существующих способов воплощения.

Структура соединения согласно настоящему изобретению может быть подтверждена традиционными способами, хорошо известными специалистам в данной области техники. Если в настоящей работе упомянута абсолютная конфигурация соединения, то абсолютная конфигурация может быть подтверждена традиционными для данной области техники техническими средствами. Например, рентгеновскую дифракцию монокристаллов используют для регистрации интенсивностей дифракции на выращенном монокристалле с помощью дифрактометра Bruker D8 Venture с источником излучения  $\text{CuK}\alpha$  в режиме сканирования:  $\varphi/\omega$ . После сбора нужных данных для анализа кристаллической структуры далее используют прямой способ (Shelxs97) подтверждения абсолютной конфигурации.

Ниже настоящее изобретение описано более подробно с помощью воплощений, но эти воплощения не ограничивают настоящее изобретение.

Все растворители, используемые в настоящем изобретении, коммерчески доступны и могут быть использованы без дополнительной очистки.

Растворители, используемые в настоящем изобретении, могут быть коммерчески доступны.

Наименование соединений произведено в соответствии с принципами наименования, традиционными для данной области техники, или с помощью программного обеспечения, и коммерчески доступные соединения имеют наименования, указанные в каталогах поставщиков.

## ТЕХНИЧЕСКИЙ РЕЗУЛЬТАТ

Соединение согласно настоящему изобретению стабильно в кристаллической форме, имеет низкую гигроскопичность и меньше подвержено влиянию фототермических эффектов. Как высокоактивный и высокоселективный ингибитор киназы ВТК, соединение

согласно настоящему изобретению имеет высокую селективность в отношении киназ EGFR, ИТК и ТЕС.

Способ рентгеновской порошковой дифрактометрии (РПД) согласно настоящему изобретению

Наименование устройства: Рентгеновский дифрактометр.

Модель устройства: DX-2700BH.

Изготовитель устройства: Dandong Haoyuan Instrument Co., Ltd.

Параметры способа:

Лучевая трубка: Си, k-Альфа ( $\lambda=1,54059\text{\AA}$ ).

Напряжение лучевой трубки: 40 кВ; ток лучевой трубки: 40 мА.

Щель расходимости: 0,3 мм.

Щель детектора: 1 мм.

Антирассеивающая щель: 1 мм.

Диапазон сканирования: от 3 до 40 градусов.

Шаг по диаметру: 0,02 градуса.

Длина шага: 0,5 секунд.

Способ испытания: образец помещают на столик для образца, обеспечивая плоскую поверхность столика для образца. Затем столик для образца помещают в рентгеновский дифрактометр для проведения испытаний.

Способ дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) согласно настоящему изобретению

Модель устройства: дифференциальный сканирующий калориметр DSC1.

Способ испытания: отбирают образец (2,97 мг) и помещают в тигель для ДСК, выдерживающий высокое давление; после герметизации на прессующей пластине производят испытание, и образец нагревают от 40°C до 350°C со скоростью нагревания 10°C/мин.

Способ термогравиметрического анализа (ТГА) согласно настоящему изобретению

Модель устройства: Mettler TGA2SF/1100.

Способ испытания: отбирают образец (2-5 мг) и помещают в тигель из оксида алюминия для проведения испытаний. В условиях 20 мл/мин N<sub>2</sub>, образец нагревают от 40°C до 500°C со скоростью нагревания 10°C/мин, и потери массы от 40°C до 200°C составили 0,06%.

Способ динамической сорбции паров (ДСП) согласно настоящему изобретению



Модель устройства: устройство SMS DVS Intrinsic Plus для динамической адсорбции паров.

Условия проведения испытания: отбирают образец (10-20 мг) и помещают на поддон для образцов для проведения ДСП испытаний.

Более подробно, параметры ДСП были следующими:

Температура: 25°C.

Баланс:  $dm/dt=0,002\%/мин$  (минимум: 10 мин, и максимум: 180 мин).

Сушка: сушат при 0% относительной влажности (отн.вл.) до  $dm/dt\leq 0,002\%/мин$  или максимум 180 мин.

Шаг относительной влажности в испытании (%): 10% (0%-90%), 5% (90-95%).

Диапазон относительной влажности в испытании (%): 0%-95%-0%.

Таблица 2. Классификация по оценкам гигроскопичности

Классификация по гигроскопичности	$\Delta W\%$
Растворяется в абсорбированной воде	Поглощает количество влаги, достаточное для образования жидкости
Чрезвычайно гигроскопичен	$\Delta W\% \geq 15\%$
Гигроскопичен	$15\% > \Delta W\% \geq 2\%$
Слабо гигроскопичен	$2\% > \Delta W\% \geq 0,2\%$
Негигроскопичен или практически не гигроскопичен	$\Delta W\% < 0,2\%$

Примечание:  $\Delta W\%$  представляет массу влаги, поглощенной испытуемым веществом при  $25\pm 1^\circ\text{C}$  и  $80\pm 2\%$  отн.вл.

#### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

На Фиг. 1 представлен РПД спектр, полученный при облучении Cu-K $\alpha$  кристаллической формы А соединения, имеющего Формулу (I).

На Фиг. 2 представлен ДСК спектр кристаллической формы А соединения, имеющего Формулу (I).

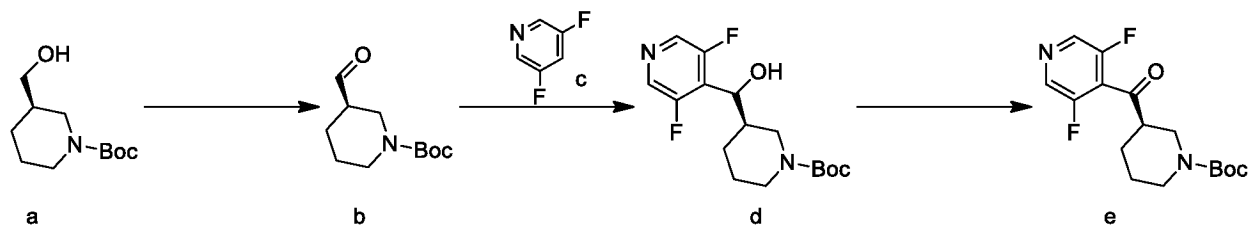
На Фиг. 3 представлен ТГА спектр кристаллической формы А соединения, имеющего Формулу (I).

На Фиг. 4 представлен ДСП спектр кристаллической формы А соединения, имеющего Формулу (I).

## ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ВОПЛОЩЕНИЙ

Для лучшего понимания настоящего изобретения ниже оно описано более подробно в виде конкретных воплощений, однако конкретные способы воплощения не ограничивают объем настоящего изобретения.

Воплощение 1. Получение соединения, имеющего Формулу (I)



Этап 1: Синтез соединения b

Получение раствора гипохлорита натрия:  $\text{NaHCO}_3$  (11,00 г, 130,94 ммоль,  $7,05 \cdot 10^{-2}$  экв.) растворяли в  $\text{NaClO}$  (2,42 кг, 2,60 моль, 2 л, чистота 8%, 1,40 экв.).  $\text{KBr}$  (2 М, 96,00 мл,  $1,03 \cdot 10^{-1}$  экв.) (водный раствор) добавляли в раствор соединения a (400 г, 1,86 моль, 1 экв.) и 2,2,2,6,6-тетраметилпиперидиноксида (2,98 г, 18,97 ммоль,  $1,02 \cdot 10^{-2}$  экв.) в дихлорметане (1,6 л); смесь выдерживали при 5-35°C в ледяной бане и к смеси добавляли по каплям приготовленный, как описано выше, раствор гипохлорита натрия. После добавления по каплям, смесь выдерживали при 25-35°C, и реакцию проводили непрерывно в течение 30 минут. По завершении реакции раствор отстаивали, в результате чего раствор разделялся; водную фазу, полученную разделением, экстрагировали дихлорметаном (1,6 л), объединенную органическую фазу последовательно промывали 1М соляной кислотой (содержащей  $\text{KI}$  (616,85 г, 3,72 моль, 2 экв.), 1,6 л) и 10% раствором тиосульфата натрия (1,6 л), и органическую фазу сушили безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении досуха. Было получено соединение b. ЖХ-МС (ИЭР) (жидкостная хромато-масс-спектрометрия с ионизацией электроспреем):  $m/z$  ( $\text{M}-55$ )<sup>+</sup>: 158,7.

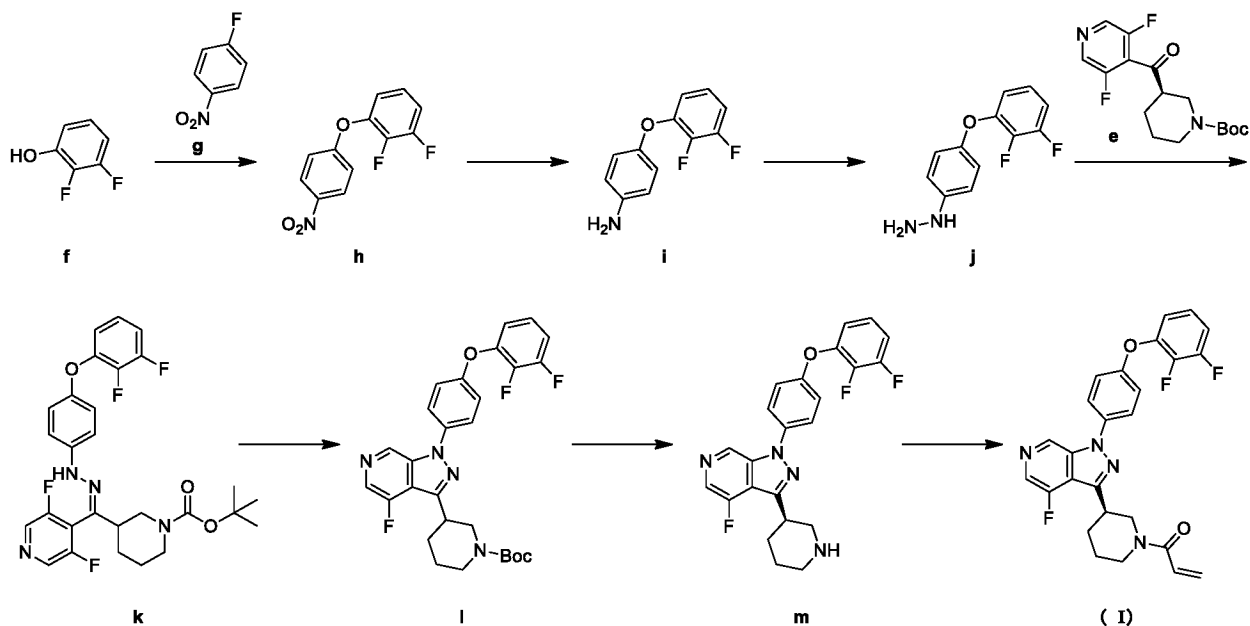
Этап 2: Синтез соединения d

При охлаждении на ледяной бане с этанолом и азотом, н-бутиллитий (2,5 М, 1,13 л, 1,07 экв.) по каплям добавляли в раствор соединения c (309,65 г, 2,69 моль, 1,02 экв.) в тетрагидрофуране (2,1 л), и во время добавления по каплям поддерживали температуру от -68 до -40°C. После добавления по каплям смесь оставляли реагировать при температуре от -68 до -40°C в течение 1 часа. По каплям добавляли раствор соединения b (563 г, 2,64 моль, 1 экв.) в тетрагидрофуране (0,7 л), поддерживая температуру от -68 до -40°C. После добавления по каплям температуру медленно повышали до 0°C, и смесь оставляли

реагировать в течение 2 часов. В реакционный раствор при перемешивании добавляли насыщенный раствор хлорида аммония (1,2 л), и реакционный раствор концентрировали до приблизительно 3 л при пониженном давлении и экстрагировали этилацетатом (1,2 л×3). Объединенную органическую фазу последовательно промывали 1М соляной кислотой (1,2 л) и полунасыщенным водным раствором поваренной соли (1,2 л), органическую фазу сушили безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении досуха. После концентрирования было получено соединение d. ЖХ-МС (ИЭР):  $m/z$  (M-55)<sup>+</sup>: 272,9.

### Этап 3: Синтез соединения e

В раствор соединения d (464 г, 1,41 моль, 1 экв.) и 2,2,2,6,6-тетраметилпиперидиноксида (2,23 г, 14,16 ммоль, и 0,01 экв.) в дихлорметане (1,8 л), поддерживая температуру 10-15°C с помощью ледяной бани, добавляли КВг (2 М, 74,00 мл,  $1,05 \cdot 10^{-1}$  экв.) (водный раствор); поддерживая температуру 10-15°C, по каплям добавляли NaClO (1,84 кг, 1,98 моль, 1,72 л, чистота 8%, 1,4 экв.) и оставляли реагировать в течение 10 минут. Добавляли NaHCO<sub>3</sub> (40 г, 476,15 ммоль,  $3,37 \cdot 10^{-1}$  экв.), и реакция продолжалась в течение еще 30 мин. Реакционный раствор отстаивали, после чего происходило расслаивание, и полученную при разделении водную фазу экстрагировали дихлорметаном (9 л). Объединенную органическую фазу последовательно промывали 1М соляной кислотой (содержащей 2,35 кг KI, 2 экв., 9 л) и 10% раствором тиосульфата натрия (9 л), органическую фазу сушили безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении досуха. В результате исследования с помощью сверхкритической флюидной хроматографии (хроматографическая колонка: Chiralpak AD-3 150×4,6 мм, внутр. диаметр, 3 мкм; подвижная фаза: А: сверхкритический диоксид углерода, В: 0,05% этанольный раствор диэтиламина; градиент: концентрацию В повышали от 5% до 40% в течение 5,5 минут и поддерживали равной 5% в течение 1,2 мин; скорость течения: 2,5 мл/мин; температура колонки: 40°C; длина волны: 220 нм), было показано, что соединение находится в единственной конфигурации. Было получено соединение e. ЖХ-МС (ИЭР):  $m/z$  (M-55)<sup>+</sup>: 271,1.



#### Этап 4: Синтез соединения h

При перемешивании  $K_2CO_3$  (1,47 кг, 10,63 моль, 1,5 экв.) добавляли в раствор соединения g (1 кг, 7,09 моль, 751,88 мл, 1 экв.) и соединения f (1,11 кг, 8,50 моль, 1,2 экв.) в ацетонитриле (5 л); температуру повышали до  $75^\circ C$  и оставляли реагировать в течение 13 часов. Реакционный раствор охлаждали до комнатной температуры, после отстаивания супернатант добавляли в 50 л воды, и спустя 10 минут образовывалось большое количество твердых веществ, их перемешивали непрерывно в течение 10 минут; оставшийся реакционный раствор фильтровали, осадок на фильтре промывали ацетонитрилом (1 л), объединенный фильтрат добавляли в 10 л воды при перемешивании, и спустя 10 минут образовывалось большое количество твердых веществ, и их перемешивали непрерывно в течение 10 мин. Полученные две фракции суспендированных твердых веществ объединяли и отфильтровывали, осадок на фильтре промывали водой (1 л), непрерывно фильтровали досуха с отсасыванием, и собирали осадок на фильтре. Было получено соединение h.  $^1H$  ЯМР (400 МГц,  $CDCl_3$ )  $\delta$  8,20-8,23 (м, 2H), 7,11-7,14 (м, 2H), 7,02-7,04 (м, 2H), 6,96-7,01 (м, 1H).

#### Этап 5: Синтез соединения i

В находящийся в колбе для гидрирования раствор соединения h (200 г, 796,22 ммоль, 1 экв.) в метаноле (1 л) добавляли Pd/C (4 г, 10% чистота) (влажный палладий на угле); атмосферу заменяли на аргон три раза, затем заменяли на водород три раза, и реакцию проводили при комнатной температуре ( $25^\circ C$ ) в течение 16 часов под давлением водорода (30 psi (приблизительно  $2,068 \cdot 10^5$  Па)). Реакционный раствор (распределенная диатомитовая земля) фильтровали, осадок на фильтре промывали

метанолом (1 л), и объединенный фильтрат концентрировали при пониженном давлении досуха. Было получено соединение *i*. ЖХ-МС (ИЭР):  $m/z$  (M+1)<sup>+</sup>: 222,0.

#### Этап 6: Синтез соединения *j*

На водно-ледяной бане (5°C) соединение *i* (350 г, 1,58 моль, 1 экв.) добавляли к смеси концентрированной соляной кислоты (2 л) и воды (1 л), и к полученной суспензии по каплям добавляли раствор NaNO<sub>2</sub> (218,35 г, 3,16 моль, 2 экв.) в воде (0,5 л). Во время добавления по каплям температуру внутри реакционной смеси поддерживали в диапазоне 5-15°C, и добавление по каплям производили в течение ~0,5 часа. После добавления по каплям реакцию проводили, поддерживая температуру 5-10°C, в течение 1 часа. В реакционный раствор по каплям добавляли раствор концентрированной соляной кислоты (1 л), в которой был растворен SnCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O (1,43 кг, 6,33 моль, 4,00 экв.). Во время добавления по каплям температуру внутри реакционной смеси поддерживали в диапазоне 5-15°C, и добавление по каплям производили в течение приблизительно всего 3 часов. После добавления по каплям добавляли воду (0,75 л) таким образом, чтобы твердые вещества были равномерно распределены в реакционной системе. Температуру медленно повышали до комнатной температуры (25°C), и реакция продолжалась в течение еще 4 часов. Реакционный раствор фильтровали, осадок на фильтре промывали водой (3 л), и осадок на фильтре собирали. Осадок на фильтре разделяли на 4 части, каждую из которых диспергировали в смеси метанола (0,5 л) и дихлорметана (4 л). Величину pH доводили до приблизительно 14 добавлением 6M раствора NaOH, и после отстаивания раствор разделяли. Полученную водную фазу экстрагировали дихлорметаном (2 л×2), и органическую фазу собирали; органическую фазу объединяли и фильтровали, осадок на фильтре промывали 500 мл дихлорметана; объединенный фильтрат разделяли, водную фазу экстрагировали дихлорметаном (1 л×2), и органическую фазу собирали. Объединенную органическую фазу сушили безводным сульфатом натрия, фильтровали, и фильтрат концентрировали при пониженном давлении досуха. Было получено соединение *j*. ЖХ-МС (ИЭР):  $m/z$  (M+1)<sup>+</sup>: 237,1.

#### Этап 7: Синтез соединения *k*

AcOH (15,21 моль, 870,00 мл, 4,96 экв.) добавляли в раствор соединения *e* (1 кг, 3,06 моль, 1 экв.) и соединения *j* (1 кг, 4,23 моль, 1,38 экв.) в этаноле (5 л) и оставляли реагировать при комнатной температуре (25°C) в течение 12 часов. Реакционный раствор концентрировали при пониженном давлении досуха. Было получено соединение *k*.

#### Этап 8: Синтез соединения *l*

В раствор соединения **k** (1,9 кг, 3,49 моль, 1 экв.) в N,N-диметилформамиде (6,5 л) добавляли Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2,8 кг, 8,59 моль, 2,46 экв.), температуру повышали до 100°C и оставляли реагировать в течение 1,5 часов. Реакционный раствор фильтровали, и фильтрат концентрировали, применяя масляный насос, при пониженном давлении досуха; осадок на фильтре промывали дихлорметаном (1 л), и объединенный фильтрат концентрировали досуха при пониженном давлении, последовательно применяя водяной насос и масляный насос. Концентрат диспергировали в этаноле (8 л), фильтровали после перемешивания в течение 1 часа, и осадок на фильтре промывали 1 л этанола. Объединенный фильтрат концентрировали досуха при пониженном давлении, очищали на колонке с силикагелем (петролейный эфир : этилацетат = 1:0-4:1 с добавлением 10% дихлорметана), и затем полученный концентрат диспергировали в этилацетате (1,1 л). При перемешивании добавляли 3,3 л петролейного эфира, и смесь перемешивали при комнатной температуре (25°C) в течение 3 часов. Смесь фильтровали, осадок на фильтре промывали 200 мл петролейного эфира, осадок на фильтре собирали и концентрировали досуха при пониженном давлении. Было получено соединение **l**. ЖХ-МС (ИЭР): m/z: 525,3 [M+1]. После исследования сверхкритической флюидной хроматографией (хроматографическая колонка: Chiralpak AD-3 50×4,6 мм, внутр. диаметр, 3 мкм; подвижная фаза: А: сверхкритический диоксид углерода, В: 0,05% этанольный раствор диэтиламина; градиент: концентрацию В повышали от 5% до 40% в течение 5 мин, до 5% в течение 0,5 мин и поддерживали равной 5% в течение 1,5 мин; скорость течения: 2,5 мл/мин; температура колонки: 35°C; длина волны: 220 нм), было показано, что соединение представляет собой рацемическую смесь.

#### Этап 9: Синтез соединения **m**

Метанольный раствор (3,8 л) HCl (4M, 3,80 л, 6,33 экв.) по каплям добавляли в суспензию соединения **l** (1,26 кг, 2,40 моль, 1 экв.) в метаноле (2,6 л), и после добавления по каплям оставляли реагировать при комнатной температуре (25°C) в течение 0,5 часа; по истечении этого времени раствор становился прозрачным. Реакционный раствор концентрировали досуха при пониженном давлении. Концентрат растворяли в смеси 4 л дихлорметана и 400 мл метанола, рН доводили до 14 добавлением 6M раствора гидроксида натрия, перемешивали непрерывно в течение 0,5 часа, и после отстаивания раствор разделяли. Полученную водную фазу экстрагировали 3 л дихлорметана, объединенную органическую фазу сушили безводным сульфатом натрия и фильтровали, фильтрат концентрировали досуха при пониженном давлении. После исследования сверхкритической флюидной хроматографией (хроматографическая колонка: Chiralpak

IG-3 50×4,6 мм, внутр. диаметр, 3 мкм; подвижная фаза: А: сверхкритический диоксид углерода, В: 0,05% этанольный раствор диэтиламина; градиент: концентрацию В повышали от 5% до 40% в течение 2 мин, до 5% в течение 0,5 мин, поддерживали равной 40% в течение 1,2 минуты и поддерживали равной 5% в течение 0,8 мин; скорость течения: 4 мл/мин; температура колонки: 35°C; и длина волны: 220 нм), было показано, что продукт представлял собой рацемическое соединение. После разделения сверхкритической флюидной хроматографией (СФХ) (хроматографическая колонка: DAICEL CHIRALPAK AD (250 мм x 50 мм, 10 мкм); подвижная фаза: А: сверхкритический диоксид углерода, В: [0,1% NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O MeOH]; В%: 50%-50%, мин), продукт очищали с получением соединения *m*; время удержания составляло 2,584 минуты. ЖХ-МС (ИЭР): *m/z*: 425,2 [M+1].

Этап 10: Синтез соединения, имеющего Формулу (I)

Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (105 г, 990,66 ммоль, 1,5 экв.) добавляли в раствор соединения *m* (280 г, 659,73 ммоль, 1 экв.) в тетрагидрофуране (2,8 л) и воде (2,8 л); в реакционный раствор по каплям добавляли раствор акрилоилхлорида (65,88 г, 727,92 ммоль, 59,35 мл, 1,1 экв.) в тетрагидрофуране (0,7 л) и оставляли реагировать при комнатной температуре (28°C) в течение 0,5 часа. Затем добавляли раствор акрилоилхлорида (10,6 г, 117,12 ммоль, 9,55 мл, 1,78·10<sup>-1</sup> экв.) и Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (70 г, 660,45 ммоль, 1,00 экв.) в тетрагидрофуране (50 мл), и оставляли реагировать при комнатной температуре (28°C) в течение 0,5 часа. pH реакционного раствора доводили до 6 добавлением 1 Н соляной кислоты, и раствор экстрагировали дихлорметаном (3,5 л×2). Объединенную органическую фазу сушили безводным сульфатом натрия, фильтровали, и фильтрат концентрировали досуха при пониженном давлении. Концентрат очищали на колонке с силикагелем (петролейный эфир : этилацетат = 1:0-1:1 с добавлением 10% дихлорметана для увеличения растворимости). Полученный неочищенный продукт растворяли в дихлорметане (1 л) и концентрировали досуха при пониженном давлении; эту операцию повторяли три раза, после чего был подключен масляный насос для концентрирования при пониженном давлении, в результате чего получали соединение, имеющее Формулу (I). В результате СФХ (хроматографическая колонка: целлюлоза 2150×4,6 мм, внутр. диаметр, 5 мкм; подвижная фаза: А: сверхкритический диоксид углерода, В: 0,05% этанольный раствор диэтиламина; градиент: концентрацию В повышали от 5% до 40% в течение 5 минут и поддерживали равной 40% в течение 2,5 минут, возвращали к 5% и поддерживали в течение 2,5 минут; скорость течения: 2,5 мл/мин; температура колонки: 35°C; длина волны: 220 нм), было показано, что соединение находится в единственной конфигурации,

и время удержания составляло 6,916 мин.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ )  $\delta$  9,08 (с, 1H), 8,32 (с, 1H), 7,85 (д,  $J = 8,8$  Гц, 2H), 7,24-7,33 (м, 4H), 7,09-7,11 (м, 1H), 6,80-6,7582 (м, 1H), 6,08 (т,  $J = 16,1$  Гц, 1H), 5,59-5,70 (м, 1H), 4,70-4,72 (м, 0,5H), 4,32 (т,  $J = 12,7$  Гц, 1H), 4,07-4,10 (м, 0,5H), 3,57-3,44 (м, 0,5H), 3,33-3,15 (м, 1,5H), 3,12-3,03 (м, 0,5H), 3,03-2,88 (м, 0,5H), 2,27-2,16 (м, 1H), 2,05-1,78 (м, 2H), 1,68-1,49 (м, 1H); ЖХ-МС (ИЭР):  $m/z$  (M+1) $^+$ : 479,3.

Подтверждение конфигурации соединения, имеющего Формулу (I).

При комнатной температуре соединение (I), имеющее Формулу (I) (100 мг, 209,00 мкмоль, 1 экв.), растворяли в дихлорметане (ДХМ) (0,3 мл). При перемешивании по каплям добавляли н-гептан (1,5 мл), после чего появлялось видимое вязкое вещество, которое не растворялось при нагревании (40-50°C). Его охлаждали до комнатной температуры и оставляли отстаиваться в течение ночи, что приводило к появлению желтого маслянистого вещества. Его оставляли отстаиваться при комнатной температуре в темноте в течение семи месяцев, в результате чего в системе образовывался прозрачный кристалл. Его отбирали для проведения дифракционного анализа на монокристалле, который подтвердил указанную выше конфигурацию.

Дифракционный анализ на монокристалле:

Модель устройства: Монокристалльный рентгеновский дифрактометр (SC-XRD) (D8 VENTURE).

Заключение: молекулярная формула соединения, имеющего Формулу (I):  $\text{C}_{26}\text{H}_{21}\text{F}_3\text{N}_4\text{O}_2$ , кристаллическая система: моноклинная, пространственная группа  $C_2$ , параметры кристаллической ячейки:  $a=22,0128(6)$  Å,  $b=12,7542(3)$  Å,  $c=16,0152(4)$  Å,  $\alpha = \gamma = 90^\circ$ ,  $\beta = 90,4900(10)^\circ$ , объем  $V=4496,2(2)$  Å $^3$ , величина параметра Флэка абсолютной конфигурации: 0,04(3).

Воплощение 2. Получение кристаллической формы А соединения, имеющего Формулу (I)

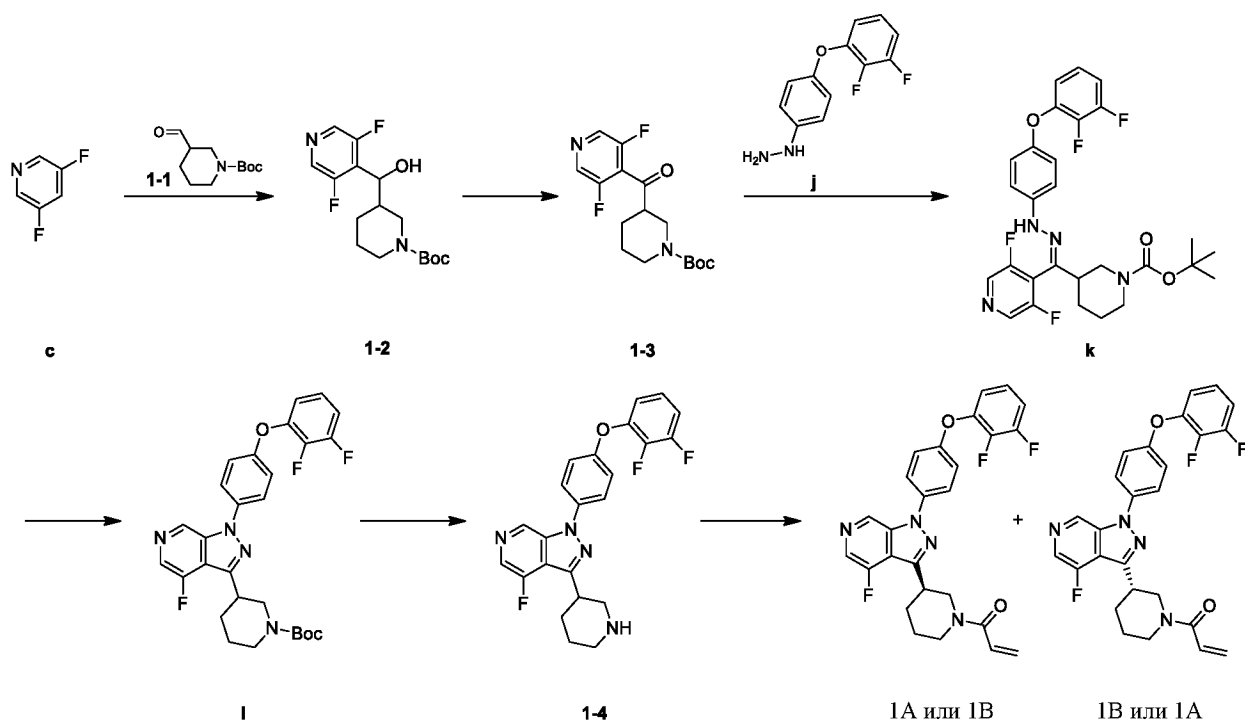
При комнатной температуре (30°C) соединение, имеющее Формулу (I) (79,3 г, 165,74 ммоль, 1 экв.), растворяли в этилацетате (80 мл) и к нему медленно добавляли по каплям н-гептан (400 мл) до достижения объема приблизительно 100 мл. Осаждалось вязкое твердое вещество, скорость добавления по каплям замедляли, а скорость перемешивания увеличивали. Спустя приблизительно 2 часа добавление по каплям прекращали, большое количество твердого вещества (приставшего к стенке емкости) диспергировали, и непрерывное перемешивание производили при комнатной температуре



(30°C) в течение 16 часов. Вещество отфильтровывали, и осадок собирали на фильтре. Осадок на фильтре сушили при пониженном давлении, и полученное на фильтре вещество сушили в вакууме при 60°C в течение ночи (16 часов) с получением кристаллической формы А соединения, имеющего Формулу (I).

В бутылку с одним отверстием емкостью 500 мл помещали соединение (30,00 г, 62,70 ммоль, 1 экв.), имеющее Формулу (I), к нему добавляли этанол (60 мл), и нагревали до 80°C и перемешивали до практически полного растворения. Смесь охлаждали до комнатной температуры (30°C), добавляли кристаллическую форму А (приблизительно 300 мг) соединения, имеющего Формулу (I), перемешивали при комнатной температуре (30°C) в течение 2 часов, затем по каплям добавляли воду (120 мл), и все перемешивали при комнатной температуре (30°C) в течение 16 часов. Большое количество твердого вещества диспергировали и вновь перемешивали в течение 2 часов. Вещество отфильтровывали, осадок собирали на фильтре и затем сушили в вакууме при 90°C в течение 32 часов с получением кристаллической формы А соединения, имеющего Формулу (I).

### Воплощение 3. Получение соединения 1



#### Этап 1: Получение соединения 1-2

Получение раствора диизопропиламида лития (ЛДА): в защитной атмосфере азота, при -78°C н-бутиллитий (2,5 М, 7,04 мл, 1,1 экв.) по каплям добавляли в раствор диизопропиламина (1,70 г, 16,80 ммоль, 2,37 мл, 1,05 экв.) в безводном тетрагидрофуране

(30 мл); полученную смесь нагревали до 0°C и оставляли реагировать в течение 0,5 часа, и затем вновь охлаждали до -78°C для последующего использования.

В защитной атмосфере азота при -78°C полученный, как указано выше, раствор ЛДА по каплям добавляли в раствор соединения с (1,84 г, 15,99 ммоль, 1 экв.) в безводном тетрагидрофуране (5 мл), и полученную смесь оставляли реагировать при -78°C в течение 1 часа. В реакционный раствор по каплям добавляли раствор соединения 1-1 (3,41 г, 15,99 ммоль, 1 экв.) в безводном тетрагидрофуране (5 мл), и полученную смесь постепенно нагревали до комнатной температуры (24°C) и оставляли непрерывно реагировать в течение 16 часов. В систему добавляли насыщенный раствор хлорида аммония, добавляли этилацетат (20 мл), и раствор разделяли и экстрагировали. Органическую фазу промывали насыщенным водным раствором поваренной соли (10 мл), сушили безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Продукт разделяли и очищали колоночной хроматографией с получением соединения 1-2. ЖХ-МС: МС (ИЭР)  $m/z$  (M-55)<sup>+</sup>: 272,9.

#### Этап 2: Получение соединения 1-3

При 0°C к раствору соединения 1-2 (5,07 г, 15,44 ммоль, 1 экв.) в безводном дихлорметане (300 мл) добавляли окислитель Десс-Мартина (7,84 г, 18,47 ммоль, 5,72 мл, 1,2 экв.), и температуру смеси постепенно повышали до комнатной температуры (26°C) и оставляли реагировать в течение 3 часов. В систему добавляли насыщенный раствор бикарбоната натрия (200 мл) и дихлорметан (400 мл) и фильтровали. Фильтрат разделяли, органическую фазу промывали насыщенным водным раствором поваренной соли (100 мл), сушили безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Было получено соединение 1-3. ЖХ-МС: МС (ИЭР)  $m/z$  (M-55)<sup>+</sup>: 270,9.

#### Этап 3: Получение соединения 1-4

В раствор соединения 1-3 (500 мг, 1,53 ммоль, 1 экв.) и соединения j (1,00 г, 4,23 ммоль, 2,76 экв.) в этаноле (25 мл) добавляли уксусную кислоту (5,25 г, 87,43 ммоль, 5 мл, 57,06 экв.) и оставляли реагировать при комнатной температуре (25°C) в течение 16 часов. Реакционный раствор концентрировали при пониженном давлении с получением соединения k. ЖХ-МС: МС (ИЭР)  $m/z$  (M-55)<sup>+</sup>: 489,1.

#### Этап 4: Получение соединения 1

В раствор соединения k (1,9 г, 3,49 ммоль, 1 экв.) в N,N-диметилформамиде (30 мл) добавляли карбонат церия (3,45 г, 10,57 ммоль, 3,03 экв.), температуру повышали до 135°C и оставляли реагировать в течение 1 часа. Реакционный раствор (распределенная

диатомитовая земля) фильтровали, осадок на фильтре промывали N,N-диметилформамидом (30 мл), и фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Продукт разделяли и очищали колоночной хроматографией с получением соединения 1. ЖХ-МС: МС (ИЭР)  $m/z$  (M+H)<sup>+</sup>: 525,3. Этап 5:

Этап 5: Получение соединения 1-4

В раствор соединения 1 (585 мг, 1,12 ммоль, 1 экв.) в дихлорметане (16 мл) по каплям добавляли трифторуксусную кислоту (6,16 г, 54,02 ммоль, 4 мл, 48,44 экв.) и оставляли реагировать при комнатной температуре (30°C) в течение 0,5 часа. Реакционный раствор концентрировали при пониженном давлении с получением соединения 1-4 (неочищенный продукт, трифторацетат). ЖХ-МС: МС (ИЭР)  $m/z$  (M+1)<sup>+</sup>: 425,2.

Этап 6: Получение соединений 1А и 1В

В раствор соединения 1-4 (1,36 г, 2,53 ммоль, 1 экв., трифторацетат) в тетрагидрофуране (10 мл) и воде (10 мл) добавляли карбонат натрия (1,15 г, 10,85 ммоль, 4,30 экв.), в реакционный раствор по каплям добавляли раствор акрилоилхлорида (130 мг, 1,44 ммоль, 117,12 мкл,  $5,69 \cdot 10^{-1}$  экв.) в тетрагидрофуране (1 мл) и оставляли реагировать при комнатной температуре (25°C) в течение 1 часа. рН реакционного раствора доводили до приблизительно 5 добавлением 1 Н соляной кислоты, и смесь экстрагировали дихлорметаном (10 мл×3). Объединенную органическую фазу сушили безводным сульфатом натрия, фильтровали, и фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Фильтрат разделяли и очищали колоночной хроматографией, и в результате проведения СФХ (хроматографическая колонка: целлюлоза 2150×4,6 мм, внутр. диаметр, 5 мкм; подвижная фаза: А: сверхкритический диоксид углерода, В: 0,05% этанольный раствор диэтиламина; градиент: концентрацию В повышали от 5% до 40% в течение 5 мин, поддерживали равной 40% в течение 2,5 мин и возвращали к балансу 5% в течение 2,5 мин; скорость течения: 2,5 мл/мин; температура колонки: 35°C; длина волны: 220 нм), было установлено, что продукт представляет собой рацемическое соединение. Продукт подвергали хиральному разделению (хроматографическая колонка: Phenomenex-Cellulose-2 (250 мм × 30 мм, 5 мкм); подвижная фаза: А: сверхкритический диоксид углерода, В: [0,1% NH<sub>3</sub>H<sub>2</sub>O в EtOH]; В%: 40%-40%) с получением хиральных изомеров: соединения 1А (время удержания составляло 6,616 минут) и соединения 1В (время удержания составляло 6,971 минут).

Соединение 1А:  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ )  $\delta$  9,09 (с, 1H), 8,33 (с, 1H), 7,85 (д, J = 9,0 Гц, 2H), 7,39-7,22 (м, 4H), 7,16-7,05 (м, 1H), 6,92-6,76 (м, 1H), 6,09 (т, J = 16,1 Гц, 1H), 5,72-5,57 (м, 1H), 4,72 (д, J = 12,3 Гц, 0,5H), 4,31 (т, J = 13,7 Гц, 1H), 4,17-4,00 (м, 0,5H), 3,53-3,44 (м, 0,5H), 3,33-3,14 (м, 1,5H), 3,12-3,02 (м, 0,5H), 3,01-2,89 (м, 0,5H), 2,27-2,16 (м, 1H), 2,05-1,80 (м, 2H), 1,66-1,46 (м, 1H). ЖХ-МС: МС (ИЭР) m/z (M+1) $^+$ : 479,2.

Соединение 1В:  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ )  $\delta$  9,09 (с, 1H), 8,33 (с, 1H), 7,85 (д, J = 8,8 Гц, 2H), 7,40-7,23 (м, 4H), 7,14-7,04 (м, 1H), 6,94-6,75 (м, 1H), 6,10 (т, J = 16,1 Гц, 1H), 5,72-5,52 (м, 1H), 4,73 (д, J = 12,5 Гц, 0,5H), 4,32 (т, J = 12,7 Гц, 1H), 4,09 (д, J = 13,1 Гц, 0,5H), 3,57-3,44 (м, 0,5H), 3,33-3,15 (м, 1,5H), 3,12-3,03 (м, 0,5H), 3,03-2,88 (м, 0,5H), 2,27-2,16 (м, 1H), 2,05-1,79 (м, 2H), 1,68-1,49 (м, 1H). ЖХ-МС: МС (ИЭР) m/z (M+1) $^+$ : 479,2.

#### Воплощение 4. Исследование гигроскопичности кристаллической формы А соединения, имеющего Формулу (I)

Экспериментальный материал:

Устройство динамической адсорбции водяного пара SMS DVS Intrinsic Plus.

Методика эксперимента:

Отбирали образец (10-20 мг) и помещали в лоток для проб для проведения испытаний ДСП.

Результат эксперимента:

Спектр ДСП кристаллической формы А соединения, имеющего Формулу (I), представлен на Фиг. 4;  $\Delta W=0,23\%$ .

Заключение по эксперименту:

Увеличение массы кристаллической формы А соединения, имеющего Формулу (I), при 80% отн.вл./25°C составило 0,23%, то есть гигроскопичность образца была невелика.

#### Воплощение 5. Определение стабильности твердой кристаллической формы А соединения, имеющего Формулу (I)

Стабильность кристаллической формы А соединения, имеющего Формулу (I), исследовали в соответствии с руководством "Guiding Principles for Stability Test of Raw Materials and Preparations" (Общие нормы 9001, Часть четыре Фармакопеи Китая (Chinese Pharmacopoeia), издание 2015 г.), под влиянием нескольких факторов ((высокая температура (60°C, на открытом воздухе), высокая влажность (комнатная температура/относительная влажность 92,5%, на открытом воздухе), яркое освещение

(интенсивность видимого света 5000 лк и интенсивность ультрафиолетового излучения 90 Вт/см<sup>2</sup>, на открытом воздухе) и при ускоренной деградации (40°C/75% отн.вл., на открытом воздухе) и (60°C/75% отн.вл., на открытом воздухе)).

Взвешивали приблизительно 20 мг кристаллической формы А соединения, имеющего Формулу (I), которое помещали на дно стеклянного бюкса и распределяли в виде тонкого слоя. Образец был полностью готов для отбора проб. От образцов, которые помещали в различные условия, отбирали пробы для проведения испытаний (рентгеновская порошковая дифрактометрия), спустя 5 суток, 10 суток, 1 месяц, 2 месяца и 3 месяца. Результаты испытаний сравнивали с данными, полученными в сутки 0; результаты испытаний представлены ниже в Таблице 3:

Таблица 3. Результаты определения стабильности твердой кристаллической формы кристаллической формы А соединения, имеющего Формулу (I)

Условия проведения испытания	Момент времени	Кристаллическая форма
-	Сутки 0	Кристаллическая форма А
Высокая температура (60°C, на открытом воздухе)	Сутки 5	Кристаллическая форма А
	Сутки 10	Кристаллическая форма А
Высокая влажность (25°C/относительная влажность 92,5%, на открытом воздухе)	Сутки 5	Кристаллическая форма А
	Сутки 10	Кристаллическая форма А
Яркое освещение (5000 лк и интенсивность ультрафиолетового излучения 90 Вт/см <sup>2</sup> , на открытом воздухе)	Сутки 5	Кристаллическая форма А
	Сутки 10	Кристаллическая форма А
40°C/75% отн.вл. (на открытом воздухе)	1М	Кристаллическая форма А
	2М	Кристаллическая форма А
	3М	Кристаллическая форма А
60°C/75% отн.вл. (на открытом воздухе)	1М	Кристаллическая форма А
	2М	Кристаллическая форма А
	3М	Кристаллическая форма А

Заключение: кристаллическая форма А соединения, имеющего Формулу (I), имеет высокую стабильность под действием указанных факторов и в условиях ускоренной деградации.

## Результаты биологических испытаний

Экспериментальный пример 1: Исследование киназ EGFR, ИТК, ТЕС и ВТК.

1. Условия реакции:

Буфер: 20 mM HEPES (4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновая кислота) (pH 7,5), 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 mM ЭГТА (этиленгликольтетрауксусная кислота), 0,02% Brij35, 0,02 мг/мл БСА (бычий сывороточный альбумин), 0,1 mM Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub>, 2 mM DTT (дитиотреитол), 1% ДМСО.

2. Проведение реакции:

2.1. В свежеприготовленном реакционном буфере готовили индикаторный субстрат.

2.2. В приготовленный раствор субстрата добавляли требуемый кофактор.

2.3. В раствор субстрата вводили указанную киназу и осторожно смешивали.

2.4. Для доставки соединения в ДМСО в реакционную смесь, содержащую киназу, применяли акустическое устройство (Echo550).

2.5. Для иницирования реакции в реакционную смесь добавляли <sup>33</sup>P-АТФ (удельная активность 0,01 мкКюри/мкл, конечная) (конечные концентрации АТФ составили 2 мкМ, 5 мкМ и 5 мкМ, соответственно).

2.6. Реакцию с киназой выдерживали при комнатной температуре в течение 120 мин.

2.7. Реакцию отслеживали на ионообменной бумаге P81 (Whatman#3698-915).

2.8. Для очистки фильтровальной бумаги применяли 0,75% фосфорную кислоту.

2.9. Измеряли радиоактивность оставшегося на фильтровальной бумаге фосфорилированного субстрата.

3. Анализ данных: активность киназы выражали в виде процента остаточной активности киназы в испытуемом образце по сравнению с реакцией носителя (диметилсульфоксидом). Величины IC<sub>50</sub> и аппроксимирующие кривые были получены с помощью программного обеспечения Prism4 (GraphPad).

4. Заключение по эксперименту: результаты представлены в Таблице 4.

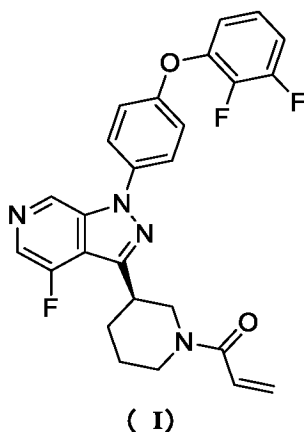
Таблица 4. Сравнение ингибирующей активности киназ EGFR, ИТК, ТЕС и ВТК

Соединение	EGFR (IC <sub>50</sub> , нМ)	ИТК (IC <sub>50</sub> , нМ)	ТЕС (IC <sub>50</sub> , нМ)	ВТК (IC <sub>50</sub> , нМ)	Соотношение активностей EGFR, ИТК, ТЕС и ВТК
1В	829	5430	74,8	2,16	В 383 раза, 2513 раза, 34 раза

Заключение: соединение согласно настоящему изобретению проявляет наилучшую селективность в отношении киназ EGFR, ИТК и ТЕС.

**ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ**

1. Кристаллическая форма А соединения, имеющего Формулу (I), где спектр указанной формы, полученный способом рентгеновской порошковой дифрактометрии (РПД), содержит характеристические дифракционные пики при следующих углах  $2\theta$ :  $17,7805\pm 0,2000^\circ$ ,  $22,0193\pm 0,2000^\circ$ ,  $27,4192\pm 0,2000^\circ$ :



2. Кристаллическая форма А по п. 1, где ее РПД спектр содержит характеристические дифракционные пики при следующих углах  $2\theta$ :  $15,0010\pm 0,2000^\circ$ ,  $17,0603\pm 0,2000^\circ$ ,  $17,7805\pm 0,2000^\circ$ ,  $22,0193\pm 0,2000^\circ$ ,  $23,5013\pm 0,2000^\circ$ ,  $27,4192\pm 0,2000^\circ$ .

3. Кристаллическая форма А по п. 2, где ее РПД спектр содержит характеристические дифракционные пики при следующих углах  $2\theta$ :  $8,1387\pm 0,2000^\circ$ ,  $15,0010\pm 0,2000^\circ$ ,  $16,1591\pm 0,2000^\circ$ ,  $17,0603\pm 0,2000^\circ$ ,  $17,7805\pm 0,2000^\circ$ ,  $22,0193\pm 0,2000^\circ$ ,  $23,5013\pm 0,2000^\circ$ ,  $27,4192\pm 0,2000^\circ$ .

4. Кристаллическая форма А по п. 3, где ее РПД спектр содержит характеристические дифракционные пики при следующих углах  $2\theta$ :  $8,1387\pm 0,2000^\circ$ ,  $13,6809\pm 0,2000^\circ$ ,  $15,0010\pm 0,2000^\circ$ ,  $16,1591\pm 0,2000^\circ$ ,  $17,0603\pm 0,2000^\circ$ ,  $17,7805\pm 0,2000^\circ$ ,  $22,0193\pm 0,2000^\circ$ ,  $23,5013\pm 0,2000^\circ$ ,  $24,0218\pm 0,2000^\circ$ ,  $27,4192\pm 0,2000^\circ$ .

5. Кристаллическая форма А по п. 4, где ее РПД спектр содержит характеристические дифракционные пики при следующих углах  $2\theta$ :  $8,1387^\circ$ ,  $9,8194^\circ$ ,  $13,6809^\circ$ ,  $15,0010^\circ$ ,  $16,1591^\circ$ ,  $17,0603^\circ$ ,  $17,7805^\circ$ ,  $18,4386^\circ$ ,  $19,5400^\circ$ ,  $21,3193^\circ$ ,  $22,0193^\circ$ ,  $23,1597^\circ$ ,  $23,5013^\circ$ ,  $24,0218^\circ$ ,  $26,1791^\circ$ ,  $26,6006^\circ$ ,  $27,1199^\circ$ ,  $27,4192^\circ$ ,  $29,1595^\circ$ ,  $29,7190^\circ$ ,  $30,8417^\circ$ ,  $31,2196^\circ$ ,  $32,2992^\circ$ ,  $32,9612^\circ$ ,  $33,7773^\circ$ ,  $34,3779^\circ$ ,  $35,1796^\circ$ ,  $37,1408^\circ$ .



6. Кристаллическая форма А по п. 5, где ее РПД спектр имеет общий вид, представленный на Фиг. 1.

7. Кристаллическая форма А по любому из пп. 1-6, где начальная точка эндотермического пика на ее кривой, полученной дифференциальной сканирующей калориметрией (ДСК), находится при  $107,89 \pm 3,00^\circ\text{C}$ , и экзотермический пик находится при  $147,76 \pm 3,00^\circ\text{C}$ .

8. Кристаллическая форма А по п. 7, где ее ДСК спектр имеет вид, представленный на Фиг. 2.

9. Кристаллическая форма А по любому из пп. 1-6, где ее потери массы, определяемые по кривой термогравиметрического анализа (ТГА), достигают 0,06% при  $200,0 \pm 3^\circ\text{C}$ .

10. Кристаллическая форма А по п. 9, где ее ТГА спектр имеет вид, представленный на Фиг. 3.

11. Кристаллическая форма А по п. 1, где ее монокристалл имеет следующие рентгенодифракционные данные: моноклинная кристаллическая система, пространственная группа  $C2$ , параметры кристаллической ячейки:  $a=22,0128(6) \text{ \AA}$ ,  $b=12,7542(3) \text{ \AA}$ ,  $c=16,0152(4) \text{ \AA}$ ,  $\alpha=\gamma=90^\circ$ ,  $\beta=90,4900(10)^\circ$ , объем  $V=4496,2(2) \text{ \AA}^3$ , величина параметра Флэка абсолютной конфигурации: 0,04(3).

12. Способ получения кристаллической формы А соединения, имеющего Формулу (I), включающий:

1) добавление соединения, имеющего Формулу (I), в растворитель для получения раствора,

2) добавление в раствор антирастворителя, перемешивание при определенной температуре в течение периода времени и фильтрование, сушку отфильтрованного осадка при пониженном давлении;

где

растворитель представляет собой сложноэфирный растворитель, растворитель, представляющий собой простой эфир, или спиртовой растворитель;

антирастворитель представляет собой н-гептан, н-гексан или воду;

температура перемешивания составляет от 0 до 40°C;

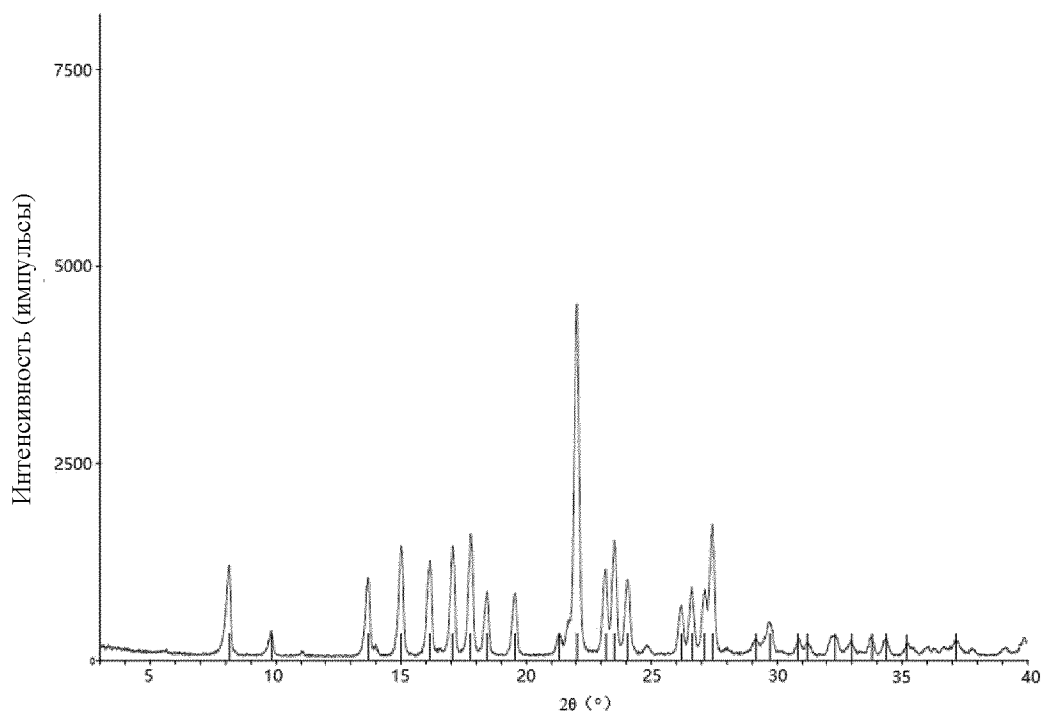
время перемешивания составляет от 12 до 48 часов.

13. Применение кристаллической формы А по любому из пп. 1-11 для получения лекарственного средства для лечения заболевания, связанного с ВТК.

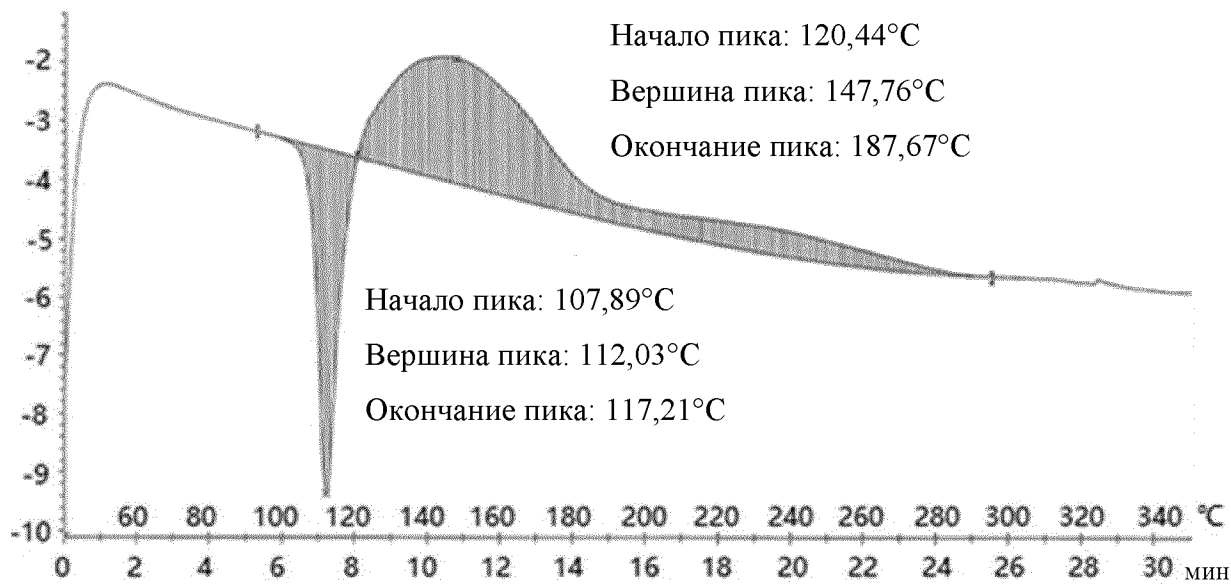
14. Применение по п. 13, где заболевание, связанное с ВТК, представляет собой гематому или аутоиммунное заболевание.

Кристаллическая форма фторзамещенного соединения пиридопиразола  
и способ ее получения

1/2

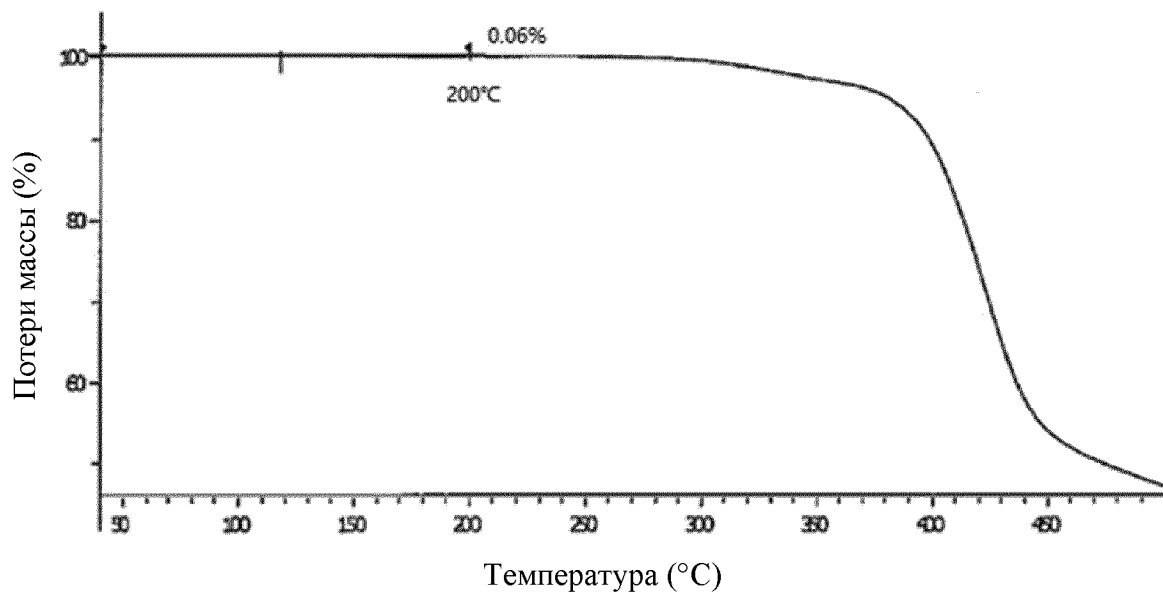


Фиг. 1

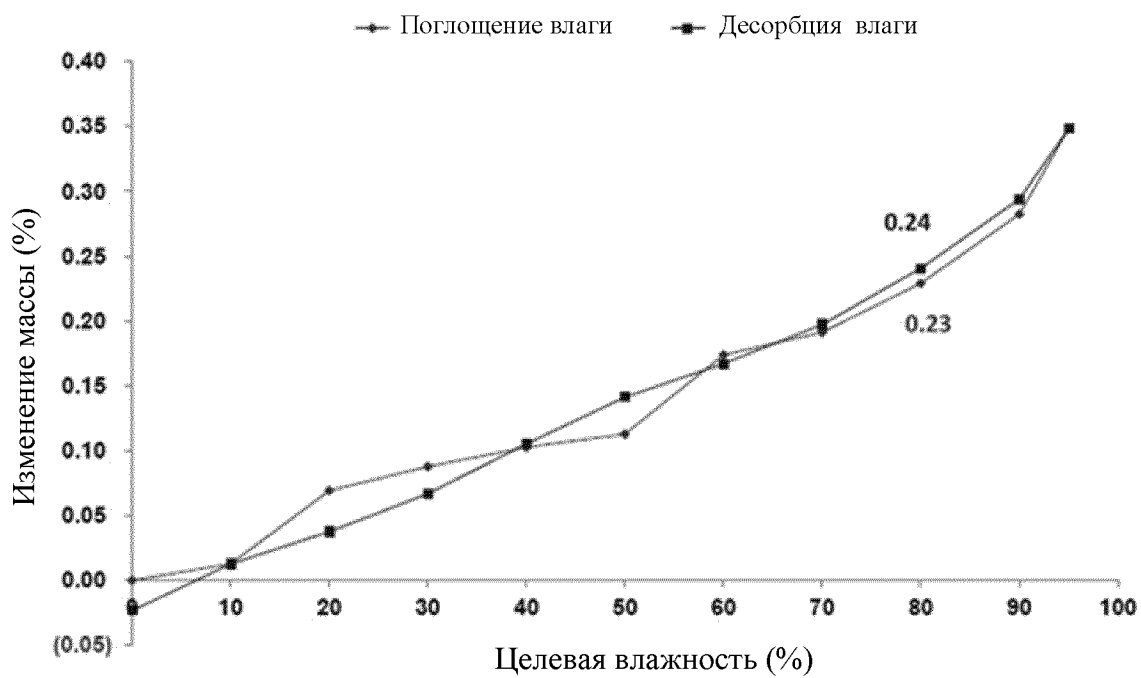


Фиг. 2

2/2



Фиг. 3



Фиг. 4