

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(21) 202490418 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки  
2024.06.17

(22) Дата подачи заявки  
2022.09.29

(51) Int. Cl. C07D 403/12 (2006.01)  
C07D 403/14 (2006.01)  
C07D 207/26 (2006.01)  
C07D 307/02 (2006.01)  
C07D 309/02 (2006.01)  
C07D 335/02 (2006.01)  
A61K 31/38 (2006.01)  
A61P 31/14 (2006.01)  
A61P 31/16 (2006.01)  
A61P 31/18 (2006.01)

(54) ЦИАНОСОЕДИНЕНИЯ, СПОСОБ ИХ ПОЛУЧЕНИЯ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

(31) 202111168232.4; 202210973184.4

(32) 2021.09.30; 2022.08.15

(33) CN

(86) PCT/CN2022/122384

(87) WO 2023/051657 2023.04.06

(71) Заявитель:

ШАНХАЙ ИНСТИТУТ ОФ  
МАТЕРИА МЕДИКА, ЧАЙНИЗ  
АКАДЕМИ ОФ САЙЕНСИЗ;  
УХАНЬ ИНСТИТУТ ОФ  
ВИРОЛОДЖИ, ЧАЙНИЗ АКАДЕМИ  
ОФ САЕНС; ХАЙНАНЬ СИМСЕР  
ФАРМАСЬЮТИКАЛ КО., ЛТД. (CN)

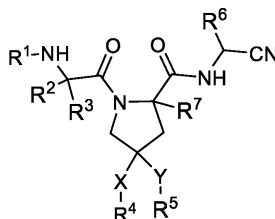
(72) Изобретатель:

Цзян Сянжуй, Сюй Ечунь, Чжан  
Лэйке, Су Хайся, Чжан Цюмэн, Чжао  
Вэньфэн, Шан Вэйцзюань, Шэнь  
Цзиншань, Сяо Гэнфу, Цзян Хуалянь  
(CN)

(74) Представитель:

Нилова М.И. (RU)

(57) Настоящее изобретение предусматривает соединение, представленное формулой I, его рацемат, энантиомер, диастереоизомер и фармацевтически приемлемую соль, а также их применение в предупреждении или лечении родственного заболевания, вызванного коронавирусной и/или пикорнавирусной инфекцией.



A1

202490418

202490418

A1

## **ЦИАНОСОЕДИНЕНИЯ, СПОСОБ ИХ ПОЛУЧЕНИЯ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ**

Настоящее изобретение испрашивает право приоритета следующих заявок: заявки на патент № 202111168232.4 под названием "ЦИАНОСОЕДИНЕНИЯ И СПОСОБ ИХ ПОЛУЧЕНИЯ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ" и поданной заявителем в Национальное управление интеллектуальной собственности Китая в четверг, 30 сентября 2021 г., и заявки на патент Китая № 202210973184.4 под названием "ЦИАНОСОЕДИНЕНИЯ И СПОСОБ ИХ ПОЛУЧЕНИЯ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ" и поданной заявителем в Национальное управление интеллектуальной собственности Китая в понедельник, 15 августа 2022 г. Совокупность вышеупомянутых предшествующих заявок включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

### **Область техники, к которой относится изобретение**

Настоящее изобретение относится к области медицинской химии и химического синтеза, в частности, настоящее изобретение относится к цианосоединениям, способу их получения и их применению.

### **Предпосылки изобретения**

Коронавирусы представляют собой вирусы с одноцепочечной положительно-полярной РНК, а некоторые коронавирусы могут широко распространяться среди людей и вызывать тяжелые симптомы. В настоящее время известно 7 коронавирусов, которые могут заражать людей, а именно HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63, HCoV-NKUI, SARS-CoV, MERS-CoV и SARS-CoV-2. Большинство функциональных белков коронавирусов кодируются геном ORF1ab, который изначально транслируется в полипротеин, а затем расщепляется на множество активных белков протеазой 3CL и протеазой PL. Следовательно, ингибирование активности протеазы 3CL может эффективно подавлять репликацию вирусов. Протеазы 3CL в разных коронавирусах характеризуются высокой степенью структурной гомологии, таким образом, ингибиторы протеаз 3CL характеризуются широким спектром противокоронавирусной активности.

В дополнение к коронавирусам протеаза 3CL также играет важную роль в гидролизе полипротеинов, кодируемых пикорнавирусами, а ингибиторы протеазы 3CL могут эффективно ингибировать репликацию пикорнавирусов. Энтеровирус 71 представляет собой пикорнавирус и является одним из распространенных вирусов, которые вызывают энтеровирусный везикулярный стоматит, а также может вызывать менингит, стволочной

энцефалит, миокардит и другие заболевания. В последние годы наблюдают неоднократные вспышки заражения энтеровирусом 71 среди детей грудного и раннего возраста, и при этом в клинической практике по-прежнему отсутствуют эффективные терапевтические лекарственные средства.

5 Следовательно, сохраняется необходимость в соединениях, которые могут ингибировать РНК-вирусы/пикорнавирусы, в том числе коронавирусы/энтеровирус 71.

### **Сущность изобретения**

10 На основе кристаллической структуры протеазы 3CL авторы настоящего изобретения рационально разработали класс цианосоединений, которые могут эффективно ингибировать активность протеазы 3CL коронавируса и/или пикорнавируса, эффективно ингибировать активность протеазы 3CL различных пикорнавирусов, в том числе энтеровируса 71, *in vitro*, эффективно ингибировать репликацию пикорнавирусов на клеточном уровне и могут быть использованы для получения лекарственного препарата для  
15 лечения заболевания, индуцированного коронавирусами и/или пикорнавирусами. Авторы настоящего изобретения выполнили настоящее изобретение на этом основании.

Основной целью настоящего изобретения является обеспечение цианосоединения, представленного общей формулой I, его рацемата, энантиомера, диастереоизомера и фармацевтически приемлемой соли.

20 Второй целью настоящего изобретения является обеспечение способа получения таких соединений.

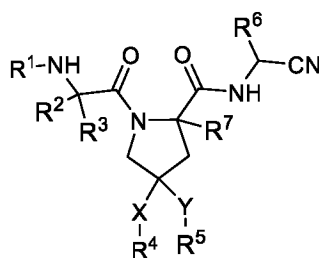
Третьей целью настоящего изобретения является обеспечение фармацевтической композиции, содержащей такие соединения.

25 Четвертой целью настоящего изобретения является обеспечение таких соединений при получении ингибиторов протеазы 3CL.

Пятой целью настоящего изобретения является обеспечение таких соединений при получении лекарственного препарата для предупреждения или лечения заболевания, индуцированного коронавирусами и/или пикорнавирусами.

30 Для достижения вышеуказанных целей в настоящем изобретении принято приведенное ниже техническое решение.

В одном аспекте в настоящем изобретении предусмотрены цианосоединение, представленное общей формулой I, его рацемат, энантиомер, диастереоизомер и фармацевтически приемлемая соль.



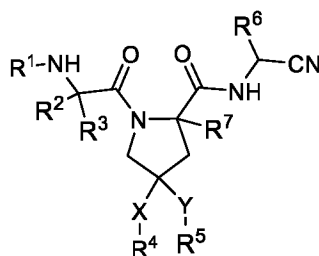
I

В другом аспекте в настоящем изобретении предусмотрен способ получения соединения общей формулы I.

5 Техническое решение настоящего изобретения предусматривает по меньшей мере приведенные ниже технические эффекты.

Соединение по настоящему изобретению характеризуется наличием ингибирующей протеазу 3CL активности, может ингибировать гидролиз белковых комплексов, экспрессируемых генами коронавируса и пикорнавирусов, а затем ингибирует репликацию и развитие вирусов, а также может быть применено для предупреждения и лечения заболеваний, вызванных коронавирусной или пикорнавирусной инфекцией.

Настоящее изобретение относится к цианосоединению, представленному общей формулой I, его рацемату, энантиомеру, диастереоизомеру или фармацевтически приемлемой соли:



I,

где

R<sup>1</sup> выбран из -COR<sup>8</sup> и -SO<sub>2</sub>R<sup>9</sup>;

каждый из R<sup>2</sup> и R<sup>3</sup> независимо выбран из H, D, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>алкила, адамантила и C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>циклоалкила, или R<sup>2</sup> и R<sup>3</sup> и присоединенный к ним атом углерода вместе образуют 3-8-членное карбоциклическое кольцо;

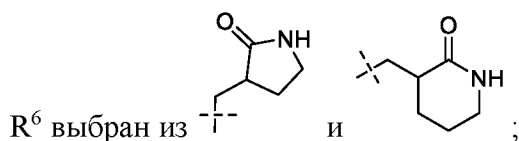
X выбран из O, S, S(=O)<sub>2</sub> и S=O;

Y отсутствует или выбран из O, S, S(=O)<sub>2</sub> и S=O;

R<sup>4</sup> выбран из H, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>алкила, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>циклоалкила, C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>арила, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>алкилзамещенного C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>арила, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>алкоксизамещенного C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>арила и галогенированного C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>арила;

$R^5$  выбран из H,  $C_1$ - $C_{10}$ алкила и  $C_3$ - $C_7$ циклоалкила;

или  $R^4$  и  $R^5$  соединены друг с другом с образованием  $C_2$ - $C_6$ алкилена, с соединением таким образом X и Y;



5  $R^7$  выбран из H и D;

$R^8$  выбран из H,  $C_1$ - $C_{10}$ алкила,  $C_1$ - $C_{10}$ алкокси,  $C_3$ - $C_7$ циклоалкила, галогенированного  $C_1$ - $C_{10}$ алкила, галогенированного  $C_3$ - $C_7$ циклоалкила,  $-NR^{13}R^{14}$ ,  $C_6$ - $C_{20}$ арила, галогенированного  $C_6$ - $C_{20}$ арила,  $C_1$ - $C_{10}$ алкилзамещенного  $C_6$ - $C_{20}$ арила, галогенированного  $C_1$ - $C_{10}$ алкилзамещенного  $C_6$ - $C_{20}$ арила, 5-20-членного гетероарила и галогенированного 5-10 20-членного гетероарила;

$R^9$  выбран из  $C_1$ - $C_{10}$ алкила,  $C_3$ - $C_7$ циклоалкила, галогенированного  $C_1$ - $C_{10}$ алкила, галогенированного  $C_3$ - $C_7$ циклоалкила,  $-NR^{15}R^{16}$ ,  $C_6$ - $C_{20}$ арила, галогенированного  $C_6$ - $C_{20}$ арила,  $C_1$ - $C_{10}$ алкилзамещенного  $C_6$ - $C_{20}$ арила, галогенированного  $C_1$ - $C_{10}$ алкилзамещенного  $C_6$ - $C_{20}$ арила, 5-20-членного гетероарила и галогенированного 5-20-15 членного гетероарила;

каждый из  $R^{13}$  и  $R^{14}$  независимо выбран из H и  $C_1$ - $C_{10}$ алкила;

каждый из  $R^{15}$  и  $R^{16}$  независимо выбран из H и  $C_1$ - $C_{10}$ алкила.

В некоторых вариантах осуществления каждый из  $R^2$  и  $R^3$  независимо выбран из H, D,  $C_1$ - $C_6$ алкила, адамантила и  $C_3$ - $C_7$ циклоалкила, или  $R^2$  и  $R^3$  и присоединенный к ним атом 20 углерода вместе образуют 3-8-членное карбоциклическое кольцо.

В некоторых вариантах осуществления каждый из  $R^2$  и  $R^3$  независимо выбран из H, изопропила, трет-бутила, циклопентила и адамантила, или  $R^2$  и  $R^3$  и присоединенный к ним атом углерода вместе образуют циклопропил и циклопентил.

В некоторых вариантах осуществления один из  $R^2$  и  $R^3$  выбран из H, а другой выбран 25 из изопропила, трет-бутила, циклопентила и адамантила, или  $R^2$  и  $R^3$  и присоединенный к ним атом углерода вместе образуют циклопропил и циклопентил.

В некоторых вариантах осуществления  $R^4$  выбран из H,  $C_1$ - $C_6$ алкила,  $C_3$ - $C_8$ циклоалкила,  $C_6$ - $C_{10}$ арила,  $C_1$ - $C_6$ алкилзамещенного  $C_6$ - $C_{10}$ арила,  $C_1$ - $C_6$ алкоксизамещенного  $C_6$ - $C_{10}$ арила и галогенированного  $C_6$ - $C_{10}$ арила;

30  $R^5$  выбран из H,  $C_1$ - $C_6$ алкила и  $C_3$ - $C_7$ циклоалкила;

или  $R^4$  и  $R^5$  соединены друг с другом с образованием  $C_2$ - $C_6$ алкилена, с соединением таким образом X и Y.

В некоторых вариантах осуществления X выбран из O, S, S(=O)<sub>2</sub> и S=O; Y отсутствует или выбран из O, S и S=O; R<sup>4</sup> выбран из C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкила и C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>арила, R<sup>5</sup> выбран из H; или R<sup>4</sup> и R<sup>5</sup> соединены друг с другом с образованием C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>алкилена, с соединением таким образом X и Y.

5 В некоторых вариантах осуществления R<sup>4</sup> и R<sup>5</sup> соединены друг с другом с образованием CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> и CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, с соединением таким образом X и Y.

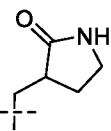
В некоторых вариантах осуществления каждый из X и Y независимо выбран из O, S и S=O, а R<sup>4</sup> и R<sup>5</sup> соединены друг с другом с образованием CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> и CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, с соединением таким образом X и Y.

10 В некоторых вариантах осуществления каждый из X и Y независимо выбран из O и S, а R<sup>4</sup> и R<sup>5</sup> соединены друг с другом с образованием CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, с соединением таким образом X и Y.

В некоторых вариантах осуществления X и Y одновременно выбраны из S, или X и Y одновременно выбраны из O, а R<sup>4</sup> и R<sup>5</sup> соединены друг с другом с образованием CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, с соединением таким образом X и Y.

15

В некоторых вариантах осуществления X выбран из S, Y отсутствует, R<sup>4</sup> выбран из фенила и изопропила, а R<sup>5</sup> выбран из H.



В некоторых вариантах осуществления R<sup>6</sup> выбран из

В некоторых вариантах осуществления R<sup>7</sup> выбран из H.

20 В некоторых вариантах осуществления R<sup>8</sup> выбран из H, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкила, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкокси, C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>циклоалкила, галогенированного C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкила, галогенированного C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>циклоалкила, -NR<sup>13</sup>R<sup>14</sup>, C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>арила, галогенированного C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>арила, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкилзамещенного C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>арила, галогенированного C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкилзамещенного C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>арила, 5-10-членного гетероарила и галогенированного 5-10-членного гетероарила.

25 В некоторых вариантах осуществления R<sup>8</sup> выбран из C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкила, галогенированного C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкила, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкокси, -NR<sup>13</sup>R<sup>14</sup>, C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>циклоалкила, галогенированного C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>циклоалкила, фенила, галогенфенила, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкилзамещенного фенила, галогенированного C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкилзамещенного фенила и 5-6-членного гетероарила.

30 В некоторых вариантах осуществления R<sup>9</sup> выбран из C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкила, C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>циклоалкила, галогенированного C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкила, галогенированного C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>циклоалкила, -NR<sup>15</sup>R<sup>16</sup>, C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>арила, галогенированного C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>арила, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкилзамещенного C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>арила,

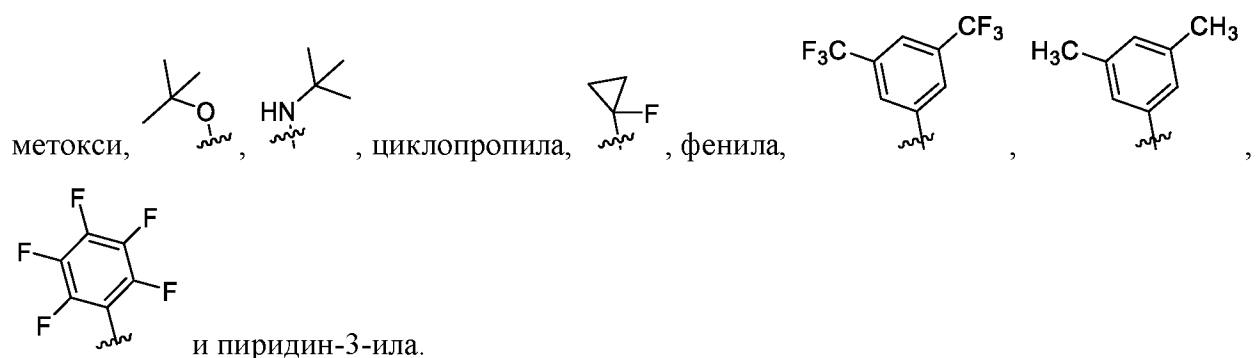
галогенированного C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкилзамещенного C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>арила, 5-10-членного гетероарила и галогенированного 5-10-членного гетероарила.

5 В некоторых вариантах осуществления R<sup>9</sup> выбран из C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкила, C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>циклоалкила, фенила, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкилзамещенного фенила и галогенированного C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкилзамещенного фенила.

В некоторых вариантах осуществления каждый из R<sup>13</sup> и R<sup>14</sup> независимо выбран из H и C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкила.

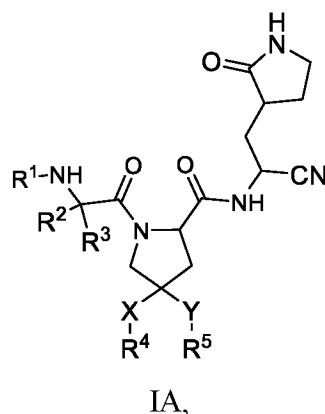
В некоторых вариантах осуществления каждый из R<sup>15</sup> и R<sup>16</sup> независимо выбран из H и C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкила.

10 В некоторых вариантах осуществления R<sup>8</sup> выбран из CH<sub>3</sub>, CF<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, CF<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>,



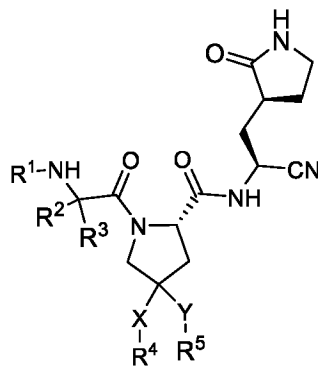
В некоторых вариантах осуществления R<sup>9</sup> выбран из CH<sub>3</sub>, циклопропила, фенила, п-метилфенила и п-трифторметилфенила.

15 В некоторых вариантах осуществления цианосоединение, представленное общей формулой I, выбрано из цианосоединения, представленного общей формулой IA:



где R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup>, X и Y определены выше.

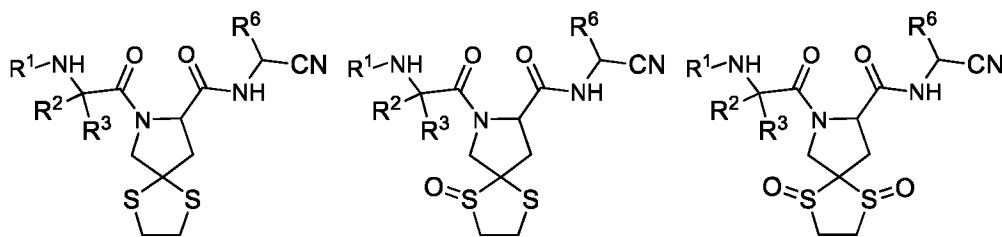
20 В некоторых вариантах осуществления цианосоединение, представленное общей формулой I, выбрано из цианосоединения, представленного общей формулой IB:



IB,

где каждый заместитель определен выше.

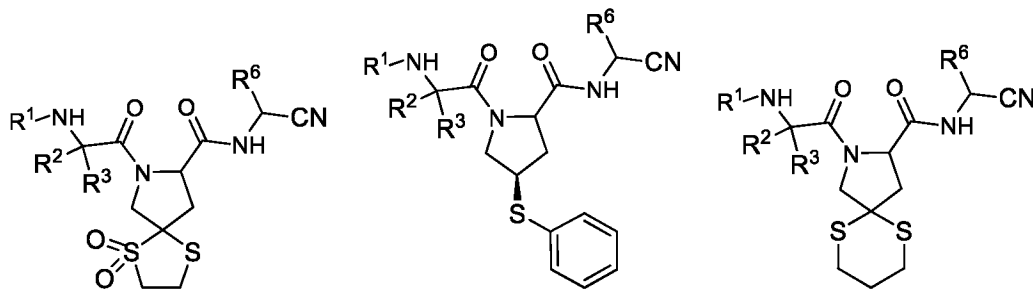
В некоторых вариантах осуществления цианосоединение, представленное общей формулой I, выбрано из любого цианосоединения, представленного следующей общей формулой:



I-1

I-2

I-3

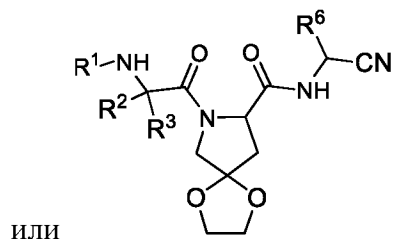


I-4

I-5

I-6

10



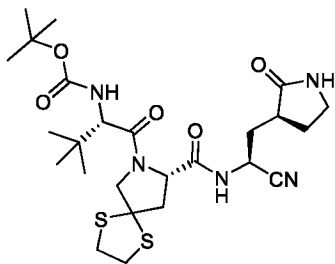
I-7,

где R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> и R<sup>6</sup> определены выше.

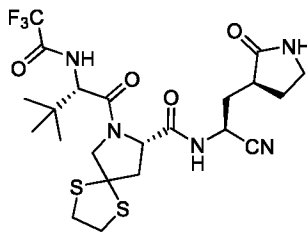
В некоторых вариантах осуществления соединение, представленное общей формулой I по настоящему изобретению, выбрано из следующих соединений:

15

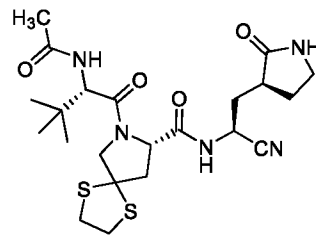




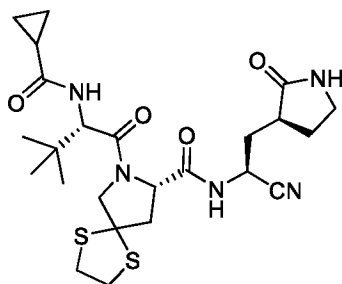
соединение 1,



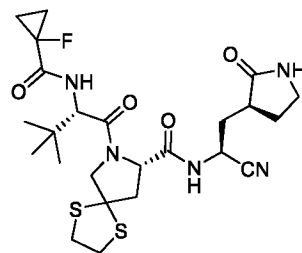
соединение 2,



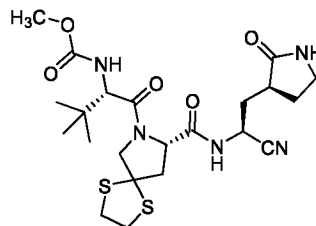
соединение 3,



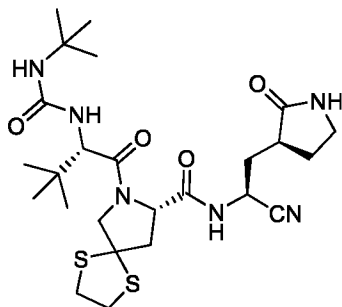
соединение 4,



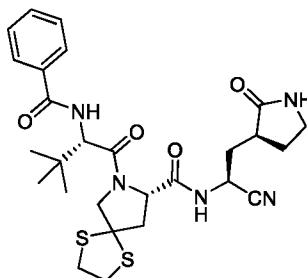
соединение 5,



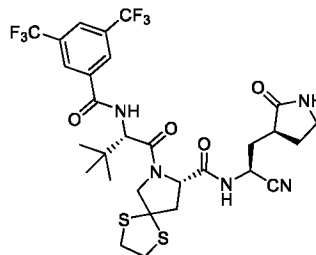
соединение 6,



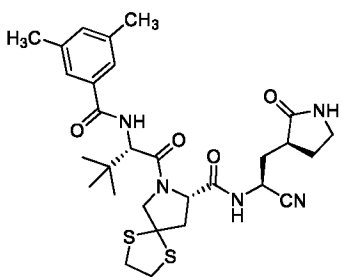
соединение 7,



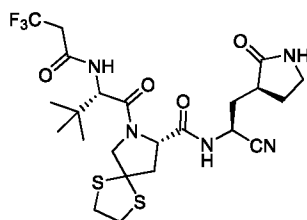
соединение 8,



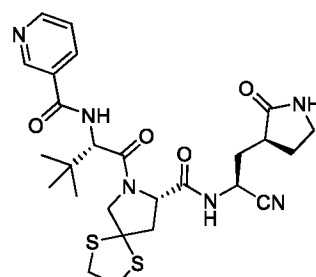
соединение 9,



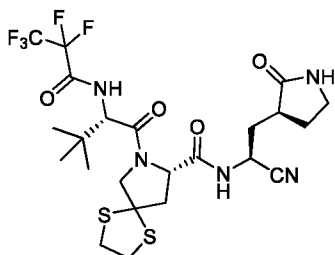
соединение 10,



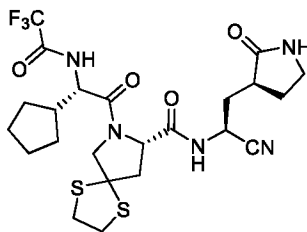
соединение 11,



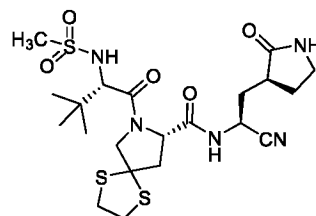
соединение 12,



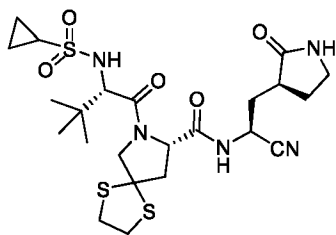
соединение 13,



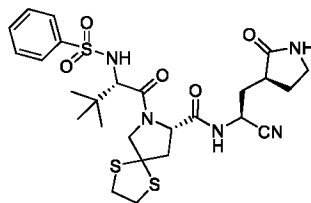
соединение 14,



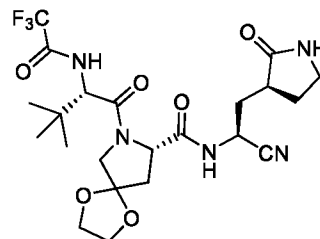
соединение 15,



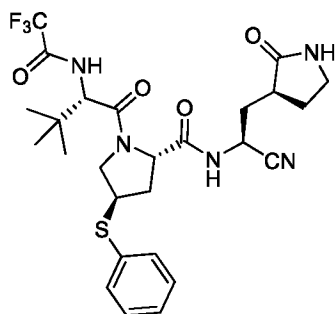
соединение 16,



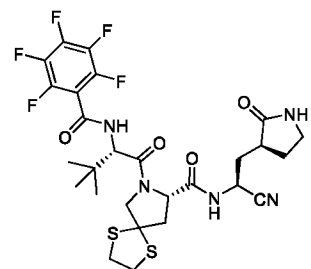
соединение 17,



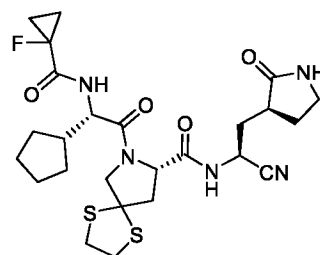
соединение 18,



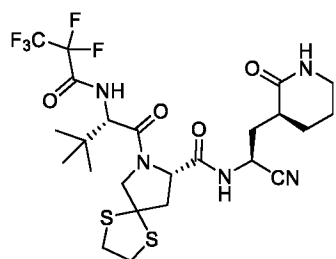
соединение 19,



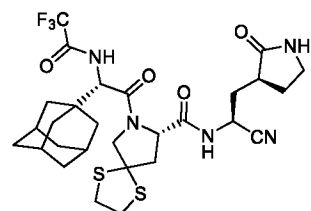
соединение 20,



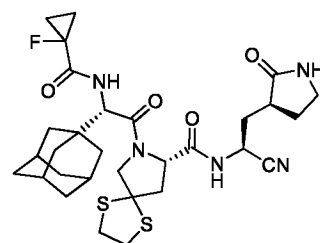
соединение 21,



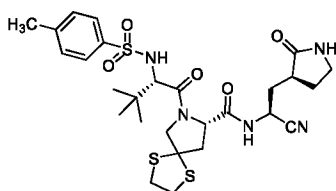
соединение 22,



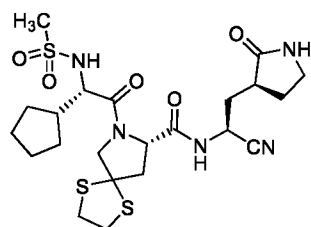
соединение 23,



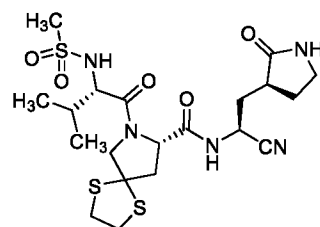
соединение 24,



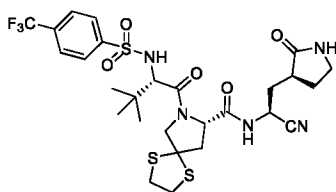
соединение 25,



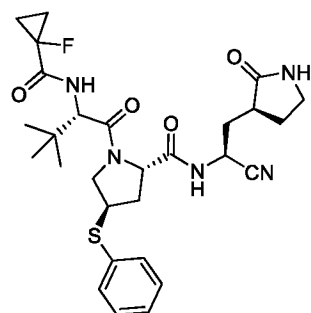
соединение 26,



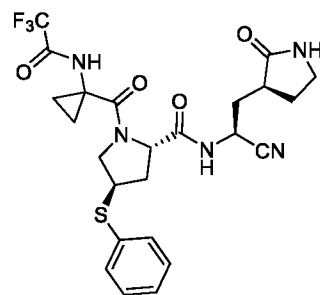
соединение 27,



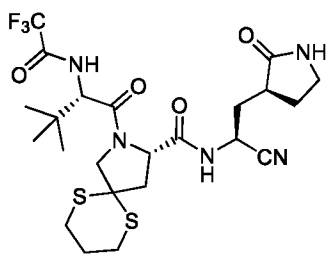
соединение 28,



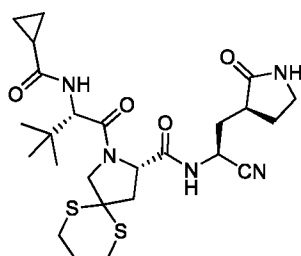
соединение 29,



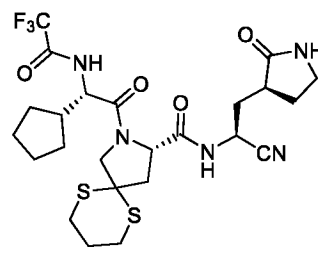
соединение 30,



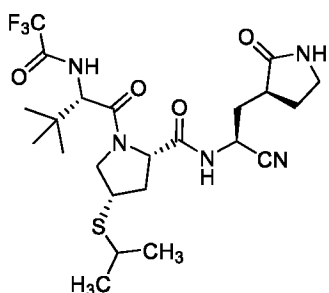
соединение 31,



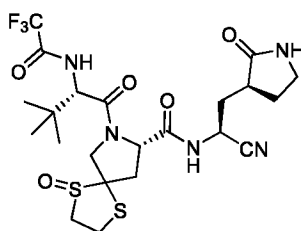
соединение 32,



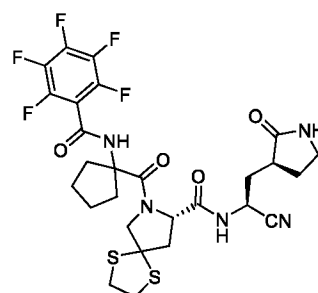
соединение 33,



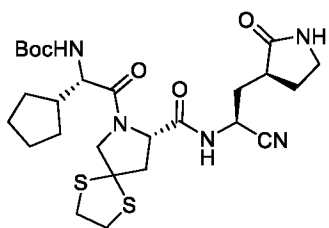
соединение 34,



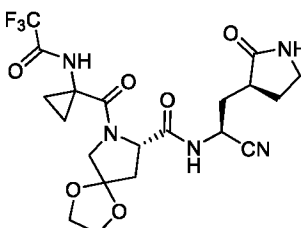
соединение 35,



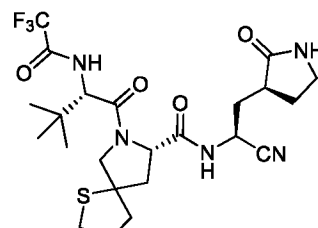
соединение 36,



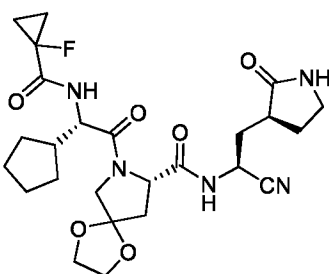
соединение 37,



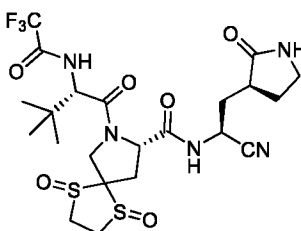
соединение 38,



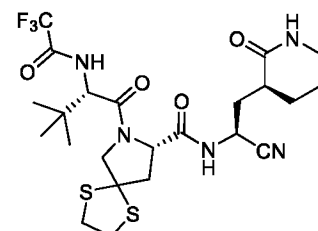
соединение 39,



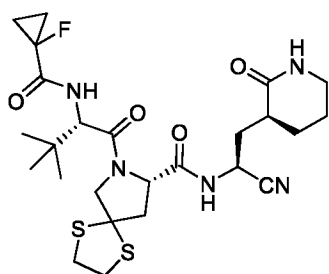
соединение 40,



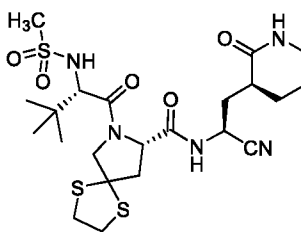
соединение 41,



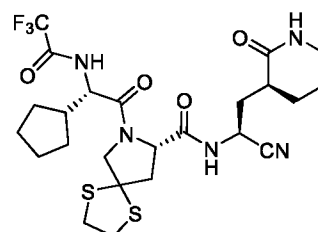
соединение 42,



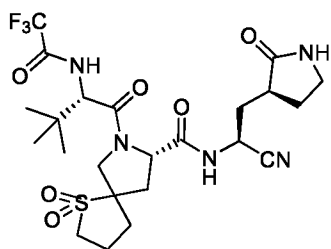
соединение 43,



соединение 44,



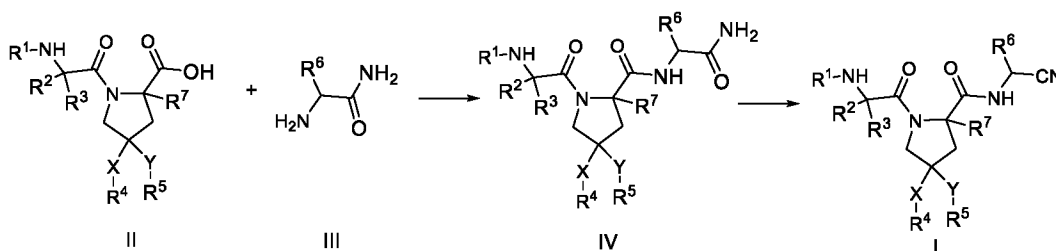
соединение 45,



соединение 46,

В настоящем изобретении предусмотрен способ получения соединения, представленного общей формулой I, и данный способ представляет собой один из приведенных ниже способов.

5 Способ i:



ia) соединение, представленное формулой IV, получают посредством реакции конденсации соединения, представленного формулой II, и соединения, представленного формулой III;

10 предпочтительно стадия ia) заключается в следующем: соединение, представленное формулой II, вводят в реакцию с соединением, представленным формулой III, под действием конденсирующего средства и основания в растворителе при температуре от -20°C до 50°C в течение 0,1-12 ч, с получением таким образом соединения, представленного формулой IV;

15 где растворитель представляет собой одно из или смесь более чем одного из следующего: тетрагидрофуран, дихлорметан, N,N-диметилформаид, N,N-диметилацетамид, этилацетат и 1,4-диоксан;

необязательно конденсирующее средство представляет собой одно из или смесь более чем одного из следующего: 2-(7-азабензотриазол)-N,N,N',N'-тетраметилурония гексафторфосфат, 1-этил-(3-диметиламинопропил)карбодиимида гидрохлорид, 1-гидроксибензотриазол, 2-гидроксипиридин-N-оксид, 1-пропилфосфорный ангидрид, 1H-бензотриазол-1-илокситрипирролидинила гексафторфосфат, N,N'-карбонилдиимидазол и O-бензотриазол-тетраметилурония гексафторфосфат;

необязательно основание представляет собой N,N-диизопропилэтиламин, триэтиламин и N-метилморфолин;

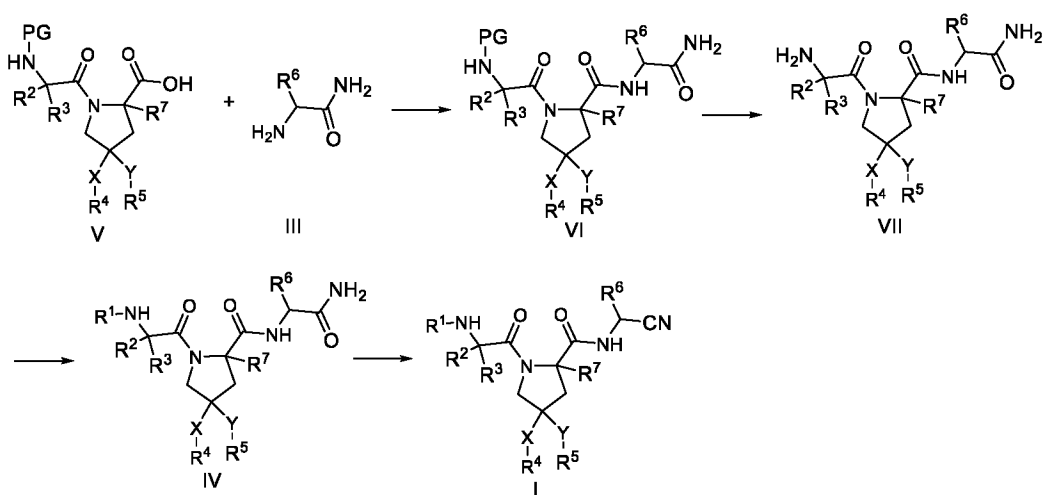
ib) соединение, представленное формулой IV, дегидратируют с получением соединения, представленного общей формулой I;

5 предпочтительно стадия ib) заключается в следующем: соединение, представленное формулой IV, вводят в реакцию с дегидратирующим средством в безводном растворителе при температуре от -20°C до 50°C в течение 1-24 ч с получением соединения, представленного общей формулой I;

10 где безводный растворитель представляет собой одно из или смесь более чем одного из следующего: тетрагидрофуран, дихлорметан, толуол, 1,4-диоксан и пиридин;

дегидратирующее средство представляет собой трифторуксусный ангидрид и метил-N-(триэтиламмонийсульфонил)карбамат. Или

способ ii:



15 iia) соединение, представленное формулой VI, получают посредством реакции конденсации соединения, представленного формулой V, и соединения, представленного формулой III, где PG в соединении, представленном формулой V, представляет собой защитную группу для аминогруппы;

20 предпочтительно стадия iia) заключается в следующем: соединение, представленное формулой V, вводят в реакцию с соединением, представленным формулой III, под действием конденсирующего средства и основания в растворителе при температуре от -20°C до 50°C в течение 0,1-12 ч, с получением таким образом соединения, представленного формулой VI,

25 где растворитель представляет собой одно из или смесь более чем одного из следующего: тетрагидрофуран, дихлорметан, N,N-диметилформаид, N,N-диметилацетамид, этилацетат и 1,4-диоксан,

конденсирующее средство представляет собой одно из или смесь более чем одного из следующего: 2-(7-азабензотриазол)-N,N,N',N'-тетраметилурония гексафторфосфат, 1-этил-(3-диметиламинопропил)карбодиимида гидрохлорид, 1-гидроксибензотриазол, 2-гидроксипиридин-N-оксид, 1-пропилфосфорный ангидрид, 1H-бензотриазол-1-илокситрипирролидина гексафторфосфат, N,N'-карбонилдиимидазол и O-бензотриазол-тетраметилурония гексафторфосфат;

основание представляет собой N,N-диизопропилэтиламин, триэтиламин и N-метилморфолин;

защитная группа PG для аминогруппы представляет собой трет-бутоксикарбонил, бензил и п-метоксибензил;

iiб) с соединения, представленного формулой VI, удаляют защитную группу с получением соединения, представленного формулой VII;

предпочтительно стадия iiб) заключается в следующем: при температуре от -20°C до 50°C соединение, представленное формулой VI, вводят в реакцию с органическим раствором трифторуксусной кислоты, или хлористого водорода, или Pd/C/H<sub>2</sub> с получением соединения, представленного формулой VII;

iiс) соединение, представленное формулой IV, получают посредством реакции аминоацилирования, сульфонилирования или конденсации соединения, представленного формулой VII;

предпочтительно стадия iiс) заключается в следующем:

при температуре от -20°C до 50°C соединение, представленное формулой VII, подвергают реакции аминоацилирования хлорангидридом кислоты или ангидридом кислоты в условиях добавления основания с получением соединения, представленного формулой IV; или

при температуре от -20°C до 50°C соединение, представленное формулой VII, подвергают реакции сульфонилирования с сульфонилхлоридом или сульфоновым ангидридом в условиях добавления основания с получением соединения, представленного формулой IV; или

при температуре от -20°C до 50°C соединение, представленное формулой VII, подвергают реакции конденсации с карбоксильным соединением в условиях присутствия конденсирующего средства и основания с получением соединения, представленного формулой IV;

необязательно основание представляет собой N,N-диизопропилэтиламин, триэтиламин и N-метилморфолин;

необязательно конденсирующее средство представляет собой одно из или смесь более чем одного из следующего: 2-(7-азабензотриазол)-N,N,N',N'-тетраметилурония гексафторфосфат, 1-этил-(3-диметиламинопропил)карбодиимида гидрохлорид, 1-гидроксибензотриазол, 2-гидроксипиридин-N-оксид, 1-пропилфосфорный ангидрид, 1Н-бензотриазол-1-илокситрипирролидинила гексафторфосфат, N,N'-карбонилдиимидазол и О-бензотриазол-тетраметилурония гексафторфосфат,

5 iid) соединение, представленное формулой IV, дегидратируют с получением соединения, представленного общей формулой I;

предпочтительно стадия iid) заключается в следующем: соединение, представленное формулой IV, вводят в реакцию с дегидратирующим средством в безводном растворителе при температуре от -20°C до 50°C в течение 1-24 ч с получением соединения, представленного общей формулой I;

где безводный растворитель представляет собой одно из или смесь более чем одного из следующего: тетрагидрофуран, дихлорметан, толуол, 1,4-диоксан и пиридин;

15 необязательно дегидратирующее средство представляет собой трифторуксусный ангидрид и метил-N-(триэтиламмонийсульфонил)карбамат,

где каждый заместитель определен выше.

В другом аспекте настоящего изобретения дополнительно предусмотрена фармацевтическая композиция, которая содержит одно или несколько веществ, выбранных из цианосоединения общей формулы I, его рацемата, энантиомера и диастереомера и их фармацевтически приемлемых солей. Фармацевтическая композиция может дополнительно включать одно или несколько фармацевтически приемлемых вспомогательных средств, разбавителей, носителей, вспомогательных веществ или вспомогательных средств.

25 Другой аспект настоящего изобретения дополнительно предусматривает фармацевтическую композицию, которая содержит цианосоединение формулы I или его рацемат, энантиомер, диастереоизомер или фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество; необязательно фармацевтическая композиция дополнительно содержит ритонавир или его фармацевтически приемлемую соль.

30 В другом аспекте настоящего изобретения дополнительно предусмотрена фармацевтическая комбинация, которая содержит цианосоединение общей формулы I, его рацемат, энантиомер, диастереоизомер или фармацевтически приемлемую соль и ритонавир или его фармацевтически приемлемую соль.

Другой аспект настоящего изобретения дополнительно предусматривает фармацевтическую композицию, которая содержит цианосоединение общей формулы I или его фармацевтически приемлемую соль, ритонавир или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

5 Эксперименты доказывают, что соединение по настоящему изобретению характеризуется ингибирующей активностью в отношении протеаз 3CL коронавируса и протеаз 3CL пикорнавируса.

10 Следовательно, в другом аспекте настоящего изобретения предусмотрен ингибитор протеазы 3CL коронавируса и/или ингибитор протеазы 3CL пикорнавируса, который предусматривает одно или несколько веществ, выбранных из цианосоединения общей формулы I, его рацемата, энантиомера и диастереомера и их фармацевтически приемлемых солей, или вышеуказанную фармацевтическую композицию.

15 В настоящем изобретении дополнительно предусмотрено вышеуказанное цианосоединение, его рацемат, энантиомер, диастереомер и фармацевтически приемлемая соль или их смесь или применение фармацевтической композиции при получении лекарственного препарата, выбранного из лекарственного препарата для ингибирования активности протеазы 3CL коронавируса, лекарственного препарата для предупреждения и/или лечения коронавирусной инфекции, лекарственного препарата для ингибирования активности протеазы 3CL пикорнавируса и лекарственного препарата для предупреждения и/или лечения пикорнавирусной инфекции.

20 В настоящем изобретении дополнительно предусмотрен способ ингибирования протеазы 3CL, при этом способ включает введение одного или нескольких веществ, выбранных из цианосоединения общей формулы I, его рацемата, энантиомера и диастереомера и их фармацевтически приемлемых солей по настоящему изобретению или фармацевтической композиции по настоящему изобретению нуждающемуся в этом субъекту.

30 В настоящем изобретении дополнительно предусмотрен способ предупреждения и/или лечения заболевания или состояния, при этом способ включает введение одного или нескольких веществ, выбранных из цианосоединения общей формулы I, его рацемата, энантиомера и диастереомера и их фармацевтически приемлемых солей по настоящему изобретению или фармацевтической композиции по настоящему изобретению нуждающемуся в этом субъекту, при этом заболевание или состояние представляет собой заболевание или состояние, опосредованное протеазой 3CL, в частности заболевание или



состояние, ассоциированное с коронавирусной инфекцией и/или пикорнавирусной инфекцией.

В настоящем изобретении дополнительно предусмотрен один или несколько из цианосоединения общей формулой I, его рацемата, энантиомера и диастереомера и их фармацевтически приемлемых солей, описанных выше, применение фармацевтической композиции на их основе при получении лекарственного препарата для предупреждения или лечения родственного заболевания, вызванного коронавирусной и/или пикорнавирусной инфекцией.

В настоящем изобретении дополнительно предусмотрен способ предупреждения или лечения родственного заболевания, вызванного коронавирусной и/или пикорнавирусной инфекцией. Способ включает введение пациенту терапевтически эффективного количества фармацевтического состава, содержащего один или несколько из цианосоединения общей формулой I, его рацемата, энантиомера и диастереомера и их фармацевтически приемлемых солей по настоящему изобретению.

В некоторых вариантах осуществления коронавирус выбран из SARS-CoV, MERS-CoV, H229E-CoV, HKU1-CoV, NL63-CoV, OC43-CoV или SARS-CoV-2.

В некоторых вариантах осуществления родственное заболевание, вызванное коронавирусной инфекцией, выбрано из инфекции дыхательных путей, пневмонии или их осложнений.

#### 20 Определение и описание терминологии

"C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>алкил" означает насыщенную углеводородную группу с прямой или разветвленной цепью, содержащую 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 атомов углерода. Конкретные примеры алкила включают без ограничения метил, этил, пропил, бутил, пентил, гексил, изопропил, изобутил, втор-бутил, трет-бутил, изопентил, 2-метилбутил, 1-метилбутил, 1-этилпропил, 1,2-диметилпропил, неопентил, 1,1-диметилпропил, 4-метилпентил, 3-метилпентил, 2-метилпентил, 1-метилпентил, 2-этилбутил, 1-этилбутил, 3,3-диметилбутил, 2,2-диметилбутил, 1,1-диметилбутил, 2,3-диметилбутил, 1,3-диметилбутил, 1,2-диметилбутил и т. д.; "C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкил" означает алкил с прямой или разветвленной цепью, содержащий 1-6 атомов углерода, в том числе без ограничения метил, этил, пропил, изопропил, бутил, изобутил, трет-бутил, пентил, изопентил, гексил и т. д.

Под "алкиленом" можно понимать насыщенную двухвалентную углеводородную группу с прямой или разветвленной цепью. Под "C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>алкиленом" можно понимать насыщенную двухвалентную углеводородную группу с прямой или разветвленной цепью,

содержащую 2-6 атомов углерода, в том числе без ограничения  $\text{CH}_2\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$  и т. д.

5 "C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>циклоалкил" означает циклический алкил, содержащий 3-8 атомов углерода в кольце. "C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>циклоалкил" означает циклический алкил, содержащий 3-7 атомов углерода в кольце, циклоалкил в настоящем изобретении включает без ограничения циклопропил, метилциклопропил, этилциклопропил, диметилциклопропил, циклобутил, метилциклобутил, этилциклобутил, циклопентил, циклогексил и т. д.

10 "C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>алкокси" означает алкокси с прямой, разветвленной или циклической цепью, содержащий 1-10 атомов углерода. "C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкокси" означает алкокси с прямой, разветвленной или циклической цепью, содержащий 1-6 атомов углерода. Алкокси в настоящем изобретении включает без ограничения метокси, этокси, пропокси, изопропокси, бутокси, изобутокси, трет-бутокси, пентилокси, изопентилокси, циклопентилокси, гексилокси, циклогексилокси и т. д.

15 "Арил" относится к полностью углеродной моноциклической или сочлененной полициклической ароматической кольцевой группе, содержащей сопряженную систему  $\pi$ -электронов. Арил может содержать 6-20 атомов углерода, 6-14 атомов углерода или 6-12 атомов углерода. Под "C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>арилом" можно понимать арил с 6-20 атомами углерода. Особенно кольцо с 6 атомами углерода ("C<sub>6</sub>арил"), такое как фенил; или кольцо с 9 атомами углерода ("C<sub>9</sub>арил"), такое как инданил или инденил; или кольцо с 10 атомами углерода ("C<sub>10</sub>арил"), такое как тетрагидронафтил, дигидронафтил или нафтил; или кольцо с 13 атомами углерода ("C<sub>13</sub>арил"), такое как флуоренил; или кольцо с 14 атомами углерода ("C<sub>14</sub>арил"), такое как антраценил. Под "C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>арилом" можно понимать арил, содержащий 6-10 атомов углерода. Особенно кольцо с 6 атомами углерода ("C<sub>6</sub>арил"), такое как фенил; или кольцо с 9 атомами углерода ("C<sub>9</sub>арил"), такое как инданил или инденил; или кольцо с 20 10 атомами углерода ("C<sub>10</sub>арил"), такое как тетрагидронафтил, дигидронафтил или нафтил.

"Гетероарил" представляет собой ароматическую кольцевую группу, содержащую 5-20 атомов в кольце, причем один или несколько атомов в кольце представляют собой гетероатом, выбранный из N, O или S, а остальные атомы в кольце представляют собой углерод. Под "5-20-членным гетероарилом" можно понимать гетероарил, содержащий 5-20 30 атомов в кольце, особенно 5, или 6, или 9, или 10, или 13, или 14 атомов в кольце, и содержащий 1-7 гетероатомов, независимо выбранных из N, O и S. Под "5-10-членным гетероарилом" можно понимать гетероарил, содержащий 5-10 атомов в кольце, особенно 5, или 6, или 9, или 10 атомов в кольце, и содержащий 1-5 гетероатомов, независимо выбранных из N, O и S. Под "5-6-членным гетероарилом" можно понимать гетероарил,

содержащий 5 или 6 атомов в кольце и содержащий 1-3 гетероатома, независимо выбранных из N, O и S. Гетероарил, описанный в настоящем изобретении, может быть выбран из тиенила, фурила, пирролила, оксазолила, тиазолила, имидазолила, пиразолила, изоксазолила, изотиазолила, оксадиазолила, триазолила, тиадиазолила и т. п. и их бензопроизводных, таких как бензофурил, бензотиенил, бензотиазолил, бензоксазолил, бензизоксазолил, бензоимидазолил, бензотриазолил, индазолил, индолил, изоиндолил и т. п.; или пиридила, пиридазинила, пиримидинила, пиразинила, триазинила и т. п. и их бензопроизводных, таких как хинолил, хиназолинил, изохинолинил и т. п.; или азоцинила, индолизинила, пуринила и т. п. и их бензопроизводных; или циннолинила, фталазинила, хиназолинила, хиноксалинила, нафтиридиныла, птеридинила, карбазолила, акридинила, феназинила, фенотиазинила или феноксазинила и т. п.

"Галоген" выбран из фтора, хлора, брома и йода.

"Гало" предусматривает моногалоген, полигалоген или пергалоген, то есть один, несколько или все атомы водорода замещены галогеном.

"Замещенный" означает, что один или несколько атомов водорода в группе замещены одним или несколькими заместителями.

Термины "необязательный" или "необязательно" означают, что описанное после них событие или обстоятельство может реализоваться или не реализоваться, и что описание включает случаи, когда событие или обстоятельство реализуется и не реализуется.

"Терапевтически эффективное количество" означает количество соединения по настоящему изобретению, которое (i) обеспечивает лечение конкретного заболевания, состояния или нарушения, (ii) ослабляет, смягчает или устраняет один или несколько симптомов конкретного заболевания, состояния или нарушения или (iii) задерживает наступление одного или нескольких симптомов конкретного заболевания, состояния или нарушения, описанных в данном документе. Количество соединения по настоящему изобретению, которое составляет "терапевтически эффективное количество", будет варьироваться в зависимости от соединения, состояний и их тяжести, способа введения и возраста подлежащего лечению млекопитающего, однако может быть определено в стандартном порядке специалистами в данной области в соответствии с их собственными знаниями и настоящим изобретением.

"Фармацевтически приемлемая соль" относится к солям фармацевтически приемлемых кислот или оснований, в том числе солям, образованным соединениями и неорганическими или органическими кислотами, и солям, образованным соединениями и неорганическими или органическими основаниями.

Термин "фармацевтическая комбинация" относится к комбинации, содержащей два или более активных ингредиента или их фармацевтически приемлемые соли. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения активные ингредиенты в фармацевтической комбинации или их фармацевтически приемлемые соли можно вводить одновременно. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения активные ингредиенты в фармацевтической комбинации или их фармацевтически приемлемые соли также можно вводить отдельно или последовательно.

"Фармацевтическая композиция" относится к смеси одного или нескольких соединений или их солей в соответствии с настоящим изобретением и фармацевтически приемлемого вспомогательного средства. Целью фармацевтической композиции является облегчение введения соединения в соответствии с настоящим изобретением в организм.

"Фармацевтически приемлемое вспомогательное средство" относится к тем вспомогательным средствам, которые не оказывают значительного раздражающего действия на организм и не ослабляют биологическую активность и свойства активного соединения. Подходящие вспомогательные средства широко известны специалистам в данной области и представляют собой, например, углевод, воск, водорастворимый и/или водонабухающий полимер, гидрофильный или гидрофобный материал, желатин, масло, растворитель, воду и т. п.

## 20 **Краткое описание графических материалов**

На фиг. 1 представлен график, на котором показана зависимость степени ингибирования от концентрации соединения 2 в отношении активности *in vitro* штамма WIV04 SARS-CoV-2.

На фиг. 2 представлен график, на котором показана зависимость степени ингибирования от концентрации соединения 2 в отношении активности *in vitro* штамма B.1.351 SARS-CoV-2.

На фиг. 3 представлен график, на котором показан ингибирующий эффект соединения 2 в отношении титра вируса в легких мышей через 2 дня после инфицирования (фиг. А) и через 4 дня после инфицирования (фиг. В) в примере 26.

На фиг. 4 представлен график, на котором показаны изменения веса тела мышей в примере 26.

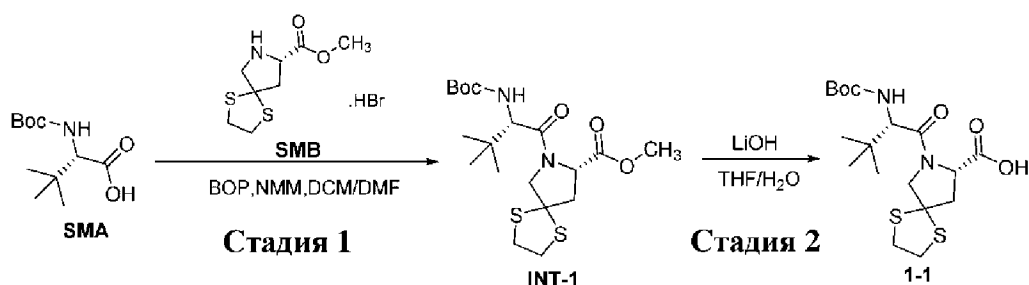
На фиг. 5 представлен график, на котором показан ингибирующий эффект соединения 2 в отношении титра вируса в головном мозге мышей через 4 дня после инфицирования в примере 26.

### Подробное описание вариантов осуществления

Настоящее изобретение дополнительно описано с помощью примеров, приведенных ниже. В следующих примерах исходные материалы коммерчески доступны или могут быть  
5 получены способами, задокументированными в литературе/способами органического синтеза, известными в уровне техники.

#### Пример 1

#### Получение соединения 1-1

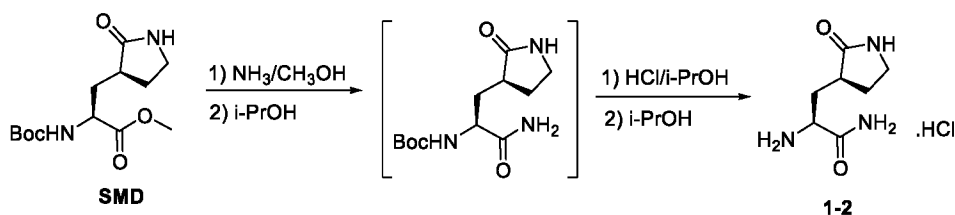


10 Стадия 1. Исходный материал SMA (2,74 г, 11,85 ммоль), 35 мл дихлорметана и 35 мл DMF добавляли в реакционную колбу и охлаждали до 0°C. Добавляли исходный материал SMB (3,56 г, 11,86 ммоль), гексафторфосфат бензотриазол-1-илокситрис(диметиламино)фосфония (BOP, 6,29 г, 14,22 ммоль) и N-метилморфолин (NMM, 3,91 мл, 35,56 ммоль) и реакционную смесь доводили до комнатной температуры в  
15 течение 10 ч. После завершения реакции добавляли подходящее количество дихлорметана и органическую фазу промывали последовательно 1 н. водным раствором хлористоводородной кислоты и насыщенным соевым раствором. После промывания органическую фазу высушивали над безводным сульфатом натрия, и органическую фазу концентрировали до сухого состояния, и получали 3,71 г INT-1 с помощью колоночной  
20 хроматографии; ESI-MS: 433,2 масса/заряд [M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>): δ<sub>H</sub>: 6,75 (d, J = 9,2 Гц, 1H), 4,38 (t, J = 8,2 Гц, 1H), 4,25 (d, J = 10,9 Гц, 1H), 4,11 (d, J = 9,3 Гц, 1H), 3,93 (t, J = 9,3 Гц, 1H), 3,62 (s, 3H), 3,40-3,31 (m, 4H), 2,70 (dd, J = 13,1, 7,9 Гц, 1H), 2,37 (dd, J = 13,2, 8,4 Гц, 1H), 1,37 (s, 9H), 0,94 (s, 9H).

25 Стадия 2. В реакционную колбу добавляли INT-1 (3,71 г, 8,58 ммоль), 37 мл THF, 37 мл очищенной воды и моногидрат гидроксида лития (0,72 г, 17,16 ммоль) и вводили в реакцию при комнатной температуре в течение 2 ч. После завершения реакции pH реакционной жидкости регулировали с помощью концентрированной хлористоводородной кислоты до pH = 4 и фильтровали с получением 3,4 г соединения 1-1; ESI-MS: 419,2 масса/заряд [M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>): δ<sub>H</sub>: 12,68 (s, 1H), 6,71 (d, J = 9,4 Гц, 1H), 4,38-4,19 (m,

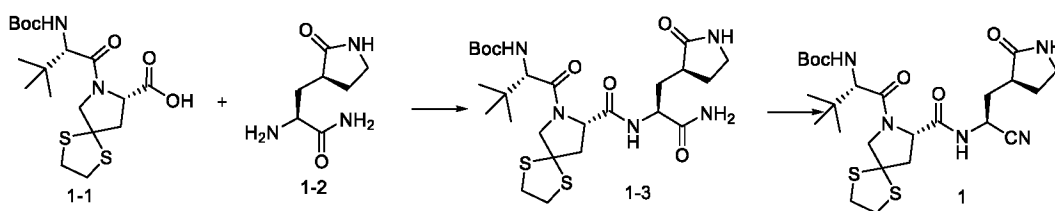
2H), 4,11 (d, J = 9,4 Гц, 1H), 3,88 (d, J = 10,9 Гц, 1H), 3,41-3,29 (m, 4H), 2,69 (dd, J = 13,1, 7,9 Гц, 1H), 2,34 (dd, J = 13,2, 8,9 Гц, 1H), 1,38 (s, 9H), 0,94 (s, 9H).

Получение соединения 1-2



5 Аммиачно-метанольный раствор (700 мл, 7 моль/л) и исходный материал SMD (100 г, 0,349 моль) добавляли в реакционную колбу, перемешивали до растворения и вводили в реакцию в течение 36 ч при постоянной температуре  $25 \pm 5^\circ\text{C}$ . После завершения реакции реакционную жидкость концентрировали до тех пор, пока объем оставшейся реакционной жидкости не составлял приблизительно 250 мл. Добавляли 300 мл изопропанола и  
10 дополнительно концентрировали до тех пор, пока объем оставшейся реакционной жидкости не составлял приблизительно 250 мл (повторяли три раза). Полученную в результате реакционную жидкость подвергали замене азота и охлаждали до  $10 \pm 5^\circ\text{C}$ . В реакционную емкость добавляли 500 мл раствора хлористого водорода в изопропаноле (4 моль/л). После добавления температуру повышали до  $25 \pm 5^\circ\text{C}$  и поддерживали  
15 температуру при  $25 \pm 5^\circ\text{C}$  в течение 9 часов. После завершения реакции реакционную жидкость концентрировали при пониженном давлении до тех пор, пока объем оставшейся реакционной жидкости не составлял приблизительно 250 мл. Добавляли 300 мл изопропанола и дополнительно концентрировали при пониженном давлении до тех пор,  
20 пока объем оставшейся реакционной жидкости не составлял приблизительно 250 мл (повторяли дважды). Добавляли 100 мл изопропанола, перемешивали в течение  $30 \pm 5$  мин и фильтровали и осадок на фильтре ополаскивали 50 мл изопропанола с получением влажного продукта; влажный продукт высушивали под вакуумом при  $45 \pm 5^\circ\text{C}$  с получением 66,7 г соединения 1-2, выход: 92%;  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, DMSO- $d_6$ ):  $\delta_{\text{H}}$ : 8,45 (d, J = 5,1 Гц, 3H), 8,25 - 8,04 (m, 1H), 7,95 (s, 1H), 7,67 - 7,49 (m, 1H), 3,85-3,80 (m, 1H), 3,19-3,13 (m, 2H), 2,59 - 2,51 (m, 1H), 2,32-2,27 (m, 1H), 2,05-1,98 (m, 1H), 1,82 - 1,66 (m, 2H); ESI-MS: 172,1 масса/заряд  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

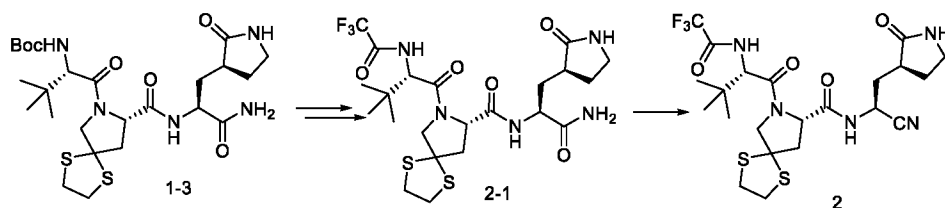
Получение соединения 1



Соединение 1-1 (419 мг, 1 ммоль) помещали в двугорлую колбу и добавляли 5 мл дихлорметана в защитной атмосфере азота, а затем добавляли гексафторфосфат 2-(7-азабензотриазол)-N,N,N',N'-тетраметилурония (400 мг, 1,1 ммоль) и перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Соединение 1-2 (1 ммоль) растворяли в 1 мл дихлорметана и добавляли к указанной выше системе, затем добавляли N,N-диизопропилэтиламин (0,5 мл, 1 ммоль) на ледяной бане и удаляли ледяную баню. Систему перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Проводили обработку, добавляли 50 мл дихлорметана, три раза промывали 1 М водным раствором хлористоводородной кислоты и три раза промывали насыщенным водным раствором бикарбоната натрия. Органическую фазу промывали насыщенным солевым раствором, высушивали над безводным сульфатом натрия и подвергали центробежной сушке фильтрацией с получением соединения 1-3 (белое твердое вещество, 469 мг, выход 82%). ESI-MS: масса/заряд 572,3[M+H]<sup>+</sup>.

Соединение 1-3 (114 мг, 0,2 ммоль) и реагент Берджесса (1,5 экв.) добавляли в двугорлую колбу, азот загрузжали и выгрузжали три раза, затем добавляли дихлорметан, высушенный над молекулярными ситами, и перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Тонкослойная хроматография показала, что исходные материалы практически полностью прореагировали. Проводили обработку, проводили колоночную хроматографию с получением соединения 1 (белое твердое вещество, 52 мг, выход 47%), ESI-MS: 554,3 масса/заряд [M+H]<sup>+</sup>.

### Пример 2

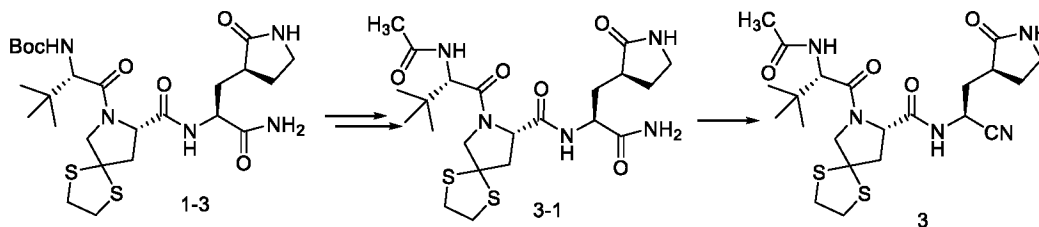


Соединение 1-3 (572 мг, 1 ммоль) растворяли в 3 мл 4 М раствора хлористого водорода/1,4-диоксана или растворяли в 2 мл дихлорметана, затем по каплям добавляли 2 мл трифторуксусной кислоты и перемешивали при температуре окружающей среды. Тонкослойная хроматография показала, что исходные материалы практически полностью прореагировали, а затем растворитель полностью высушивали на центробежной сушилке. Полученный неочищенный продукт растворяли в 2 мл дихлорметана в защитной атмосфере азота и добавляли триэтиламин (3 ммоль), затем систему помещали на ледяную баню и по каплям добавляли трифторуксусный ангидрид (1,2 ммоль). Тонкослойная хроматография показала, что исходные материалы практически полностью прореагировали, а затем

добавляли 50 мл дихлорметана и промывали три раза 1 М водным раствором хлористоводородной кислоты и три раза насыщенным водным раствором бикарбоната натрия. Органическую фазу промывали насыщенным солевым раствором, высушивали над безводным сульфатом натрия и пропускали через колонку с получением соединения 2-1 (белое твердое вещество, 265 мг, выход 46%). ESI-MS: масса/заряд 568,3[M+H]<sup>+</sup>.

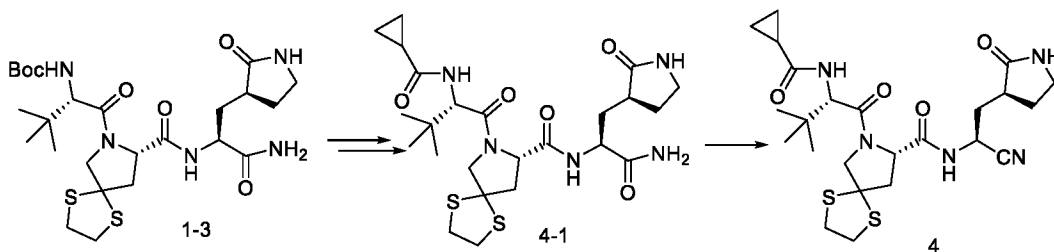
Соединение 2-1 (113 мг, 0,2 ммоль) и реагент Берджесса (1,5 экв.) добавляли в двугорлую колбу, азот загружали и выгружали три раза, затем добавляли дихлорметан, высушенный над молекулярными ситами, и перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Тонкослойная хроматография показала, что исходные материалы практически полностью прореагировали. Проводили обработку, проводили колоночную хроматографию с получением соединения 2 (белое твердое вещество, 41 мг, выход 47%), <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9,46 (d, *J* = 8,7 Гц, 1H), 9,05 (d, *J* = 8,6 Гц, 1H), 7,67 (s, 1H), 4,97 (ddd, *J* = 11,0, 8,5, 5,0 Гц, 1H), 4,53 (d, *J* = 8,7 Гц, 1H), 4,34 (dd, *J* = 9,9, 7,1 Гц, 1H), 4,26-4,14 (m, 1H), 3,92 (d, *J* = 10,9 Гц, 1H), 3,50-3,34 (m, 4H), 3,22-3,11 (m, 1H), 3,06 (td, *J* = 9,3, 7,1 Гц, 1H), 2,68-2,58 (m, 1H), 2,50-2,43 (m, 1H), 2,31 (dd, *J* = 13,0, 10,0 Гц, 1H), 2,23-2,07 (m, 2H), 1,71 (tdd, *J* = 14,9, 10,3, 7,4 Гц, 2H), 0,99 (s, 9H). ESI-MS: 550,3 масса/заряд [M+H]<sup>+</sup>.

### Пример 3



В соответствии с тем же способом в примере 2, отличие заключается в том, что вместо трифторуксусного ангидрида использовали уксусный ангидрид с получением соединения 3 (белое твердое вещество, 45 мг, выход 45%), ESI-MS: 496,3 масса/заряд [M+H]<sup>+</sup>.

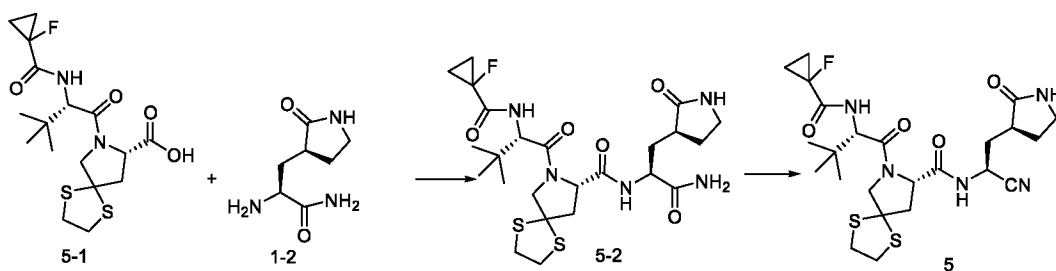
### Пример 4



В соответствии с тем же способом в примере 2, отличие заключается в том, что вместо трифторуксусного ангидрида использовали циклопропановый ангидрид муравьиной кислоты с получением соединения 4 (белое твердое вещество, 32 мг, выход 31%), ESI-MS: 522,3 масса/заряд [M+H]<sup>+</sup>.

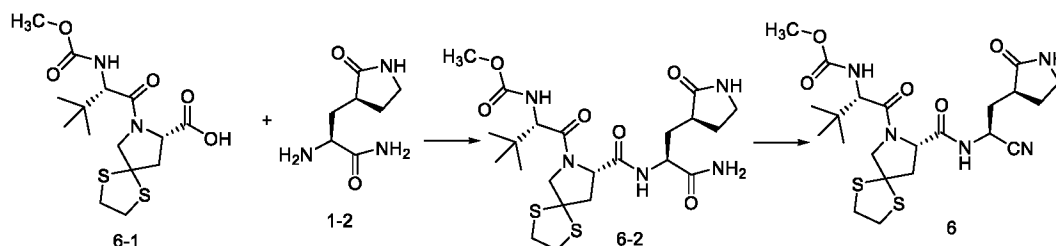


Пример 5



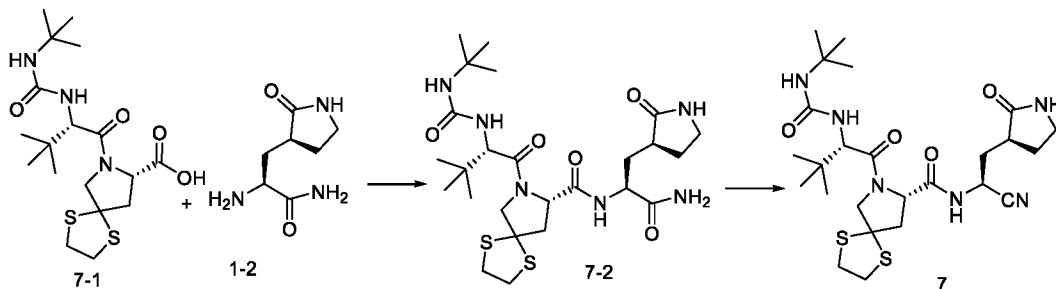
В соответствии с тем же способом в примере 1, отличие заключается в том, что вместо 1-1 использовали 5-1 с получением соединения 5 (белое твердое вещество, 22 мг, выход 20%), <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9,03 (d, *J* = 8,4 Гц, 1H), 7,67 (s, 1H), 7,41 (dd, *J* = 9,1, 2,6 Гц, 1H), 4,96 (ddd, *J* = 10,6, 8,4, 5,4 Гц, 1H), 4,58-4,50 (m, 1H), 4,34 (dd, *J* = 9,8, 7,2 Гц, 1H), 4,26-4,21 (m, 1H), 3,89 (d, *J* = 11,0 Гц, 1H), 3,45-3,33 (m, 4H), 3,22-3,03 (m, 2H), 2,64-2,57 (m, 1H), 2,45 (ddd, *J* = 10,1, 8,5, 4,5 Гц, 1H), 2,31 (dd, *J* = 12,9, 9,8 Гц, 1H), 2,20-2,10 (m, 2H), 1,84-1,67 (m, 2H), 1,39-1,31 (m, 2H), 1,24 (t, *J* = 9,5 Гц, 2H), 0,97 (s, 9H). ESI-MS: 540,2 масса/заряд [M+H]<sup>+</sup>.

Пример 6



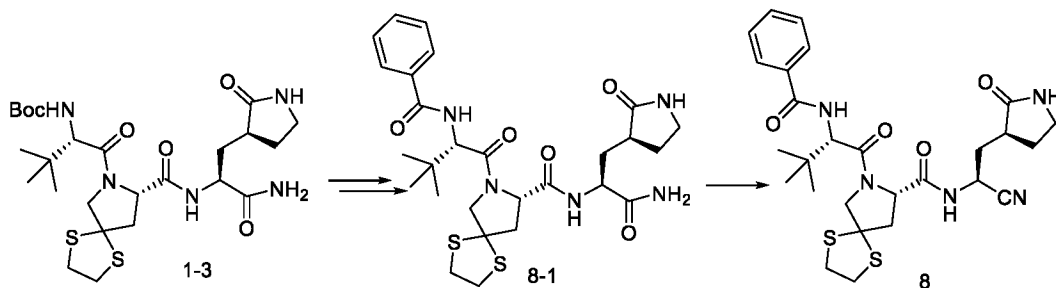
В соответствии с тем же способом в примере 1, отличие заключается в том, что вместо 1-1 использовали 6-1 с получением соединения 6 (белое твердое вещество, 38 мг, выход 37%), ESI-MS: 512,2 масса/заряд [M+H]<sup>+</sup>.

Пример 7



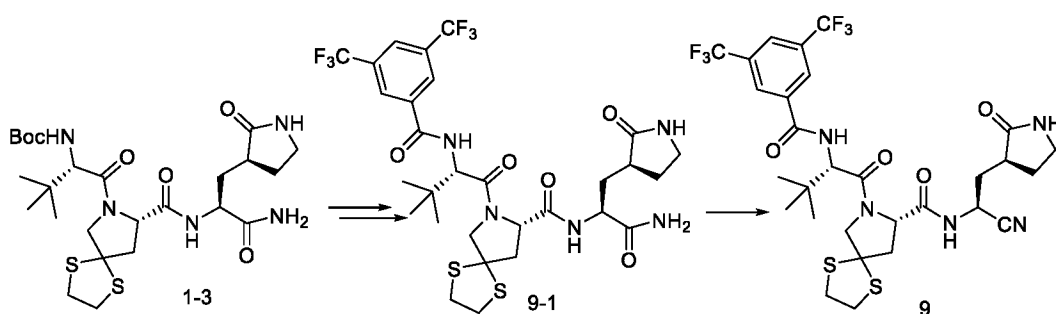
В соответствии с тем же способом в примере 1, отличие заключается в том, что вместо 1-1 использовали 7-1 с получением соединения 7 (белое твердое вещество, 49 мг, выход 44%), ESI-MS: 553,3 масса/заряд [M+H]<sup>+</sup>.

Пример 8



В соответствии с тем же способом в примере 2, отличие заключается в том, что вместо трифторуксусного ангидрида использовали бензойный ангидрид с получением соединения 8 (белое твердое вещество, 44 мг, выход 39%), ESI-MS: 558,3 масса/заряд  $[M+H]^+$ .

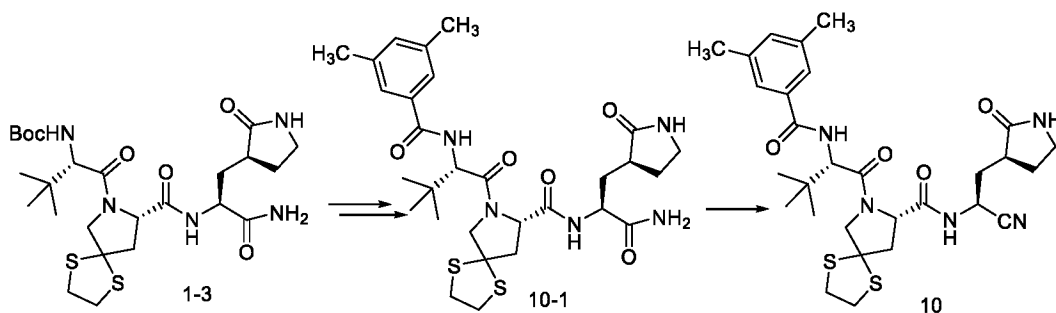
5 Пример 9



В соответствии с тем же способом в примере 2, отличие заключается в том, что вместо трифторуксусного ангидрида использовали 3,5-бис(трифторметил)бензоилхлорид с получением соединения 9 (белое твердое вещество, 39 мг, выход 28%), ESI-MS: 694,2 масса/заряд  $[M+H]^+$ .

10

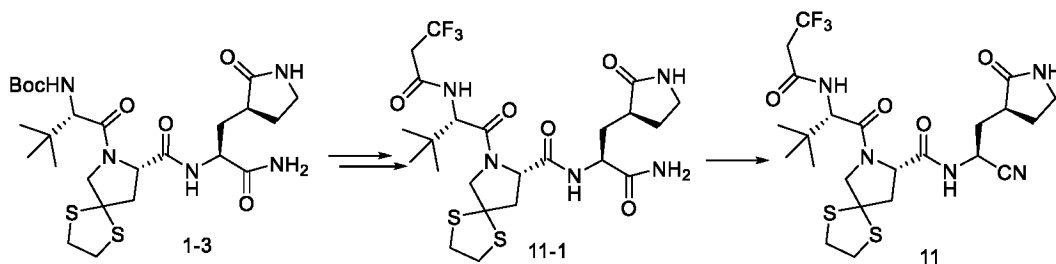
Пример 10



В соответствии с тем же способом в примере 2, отличие заключается в том, что вместо трифторуксусного ангидрида использовали 3,5-диметилбензоилхлорид с получением соединения 10 (белое твердое вещество, 31 мг, выход 26%), ESI-MS: 586,2 масса/заряд  $[M+H]^+$ .

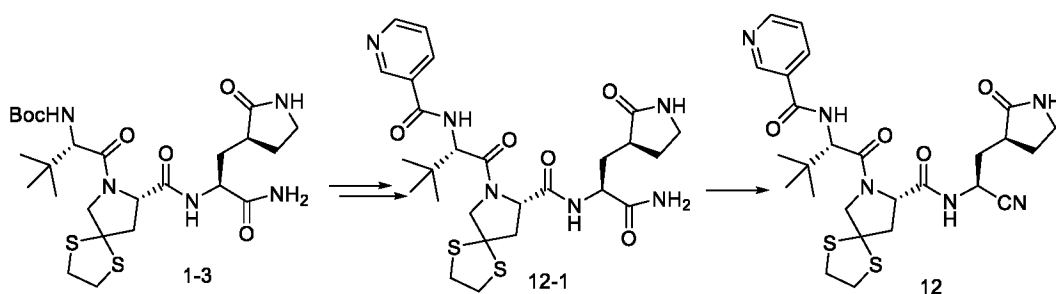
15

Пример 11



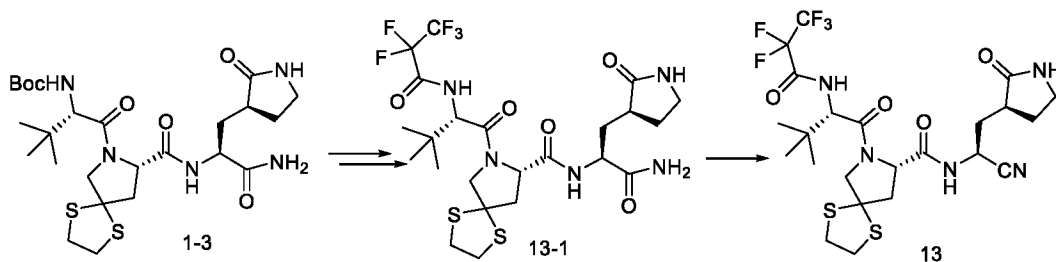
В соответствии с тем же способом в примере 2, отличие заключается в том, что вместо трифторуксусного ангидрида использовали 3,3,3-трифторпропионовый ангидрид с получением соединения 11 (белое твердое вещество, 28 мг, выход 25%), ESI-MS: 564,2  
5 масса/заряд  $[M+H]^+$ .

Пример 12



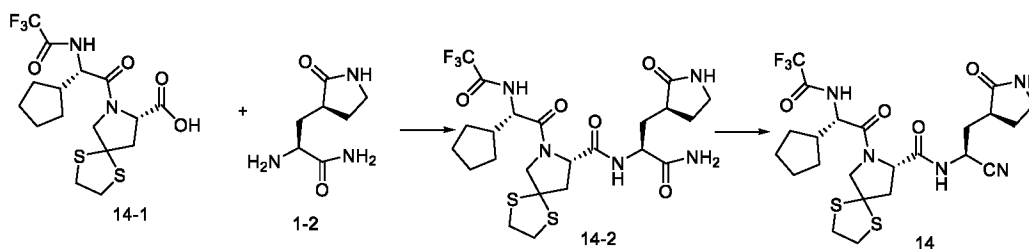
В соответствии с тем же способом в примере 2, отличие заключается в том, что вместо трифторуксусного ангидрида использовали 3-пиридинформилхлорид с получением  
10 соединения 12 (белое твердое вещество, 39 мг, выход 35%), ESI-MS: 559,2 масса/заряд  $[M+H]^+$ .

Пример 13



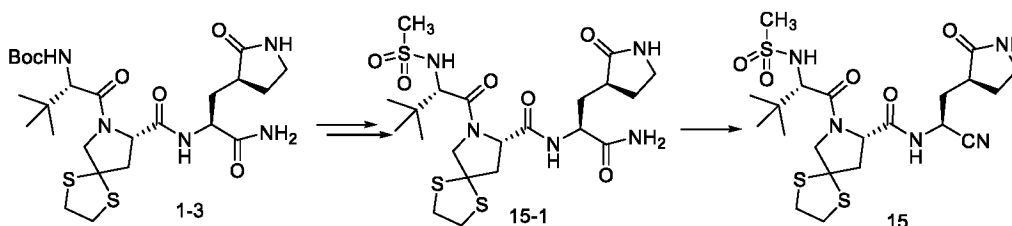
В соответствии с тем же способом в примере 2, отличие заключается в том, что вместо трифторуксусного ангидрида использовали пентафторпропионилхлорид с получением  
15 соединения 13 (белое твердое вещество, 41 мг, выход 34%), ESI-MS: 600,2 масса/заряд  $[M+H]^+$ .

Пример 14



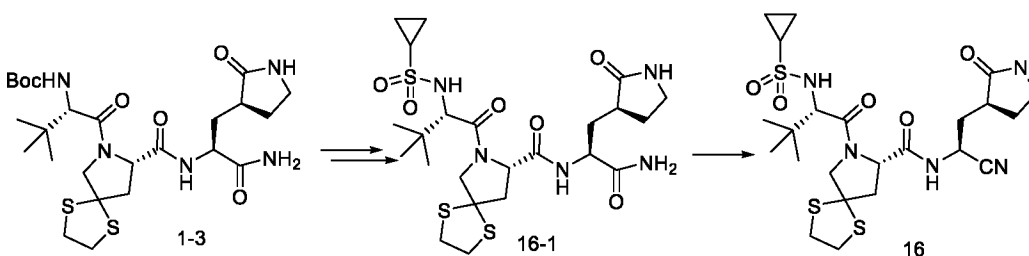
В соответствии с тем же способом в примере 1, отличие заключается в том, что вместо 1-1 использовали 14-1 с получением соединения 14 (белое твердое вещество, 32 мг, выход 29%), ESI-MS: 550,2 масса/заряд  $[M+H]^+$ .

5 Пример 15



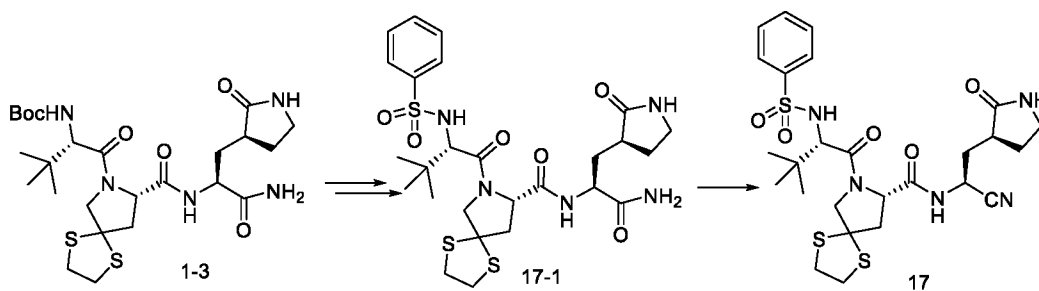
В соответствии с тем же способом в примере 2, отличие заключается в том, что вместо трифторуксусного ангидрида использовали метансульфоновый ангидрид с получением соединения 15 (белое твердое вещество, 38 мг, выход 36%),  $^1H$  ЯМР (400 МГц, Метанол- $d_4$ )  $\delta$  5,06 (dd,  $J = 11,5, 4,5$  Гц, 1H), 4,46 (dd,  $J = 10,3, 7,1$  Гц, 1H), 4,27 (dd,  $J = 11,0, 1,6$  Гц, 1H), 4,02-3,89 (m, 2H), 3,45 (qt,  $J = 8,6, 4,7$  Гц, 4H), 3,30-3,23 (m, 1H), 2,92 (s, 3H), 2,78 (tdd,  $J = 10,3, 8,5, 4,0$  Гц, 1H), 2,68 (ddd,  $J = 13,0, 7,2, 1,6$  Гц, 1H), 2,51 (dd,  $J = 13,0, 10,3$  Гц, 1H), 2,45-2,27 (m, 2H), 1,94-1,77 (m, 2H), 1,05 (s, 9H). ESI-MS: 532,2 масса/заряд  $[M+H]^+$ .

Пример 16



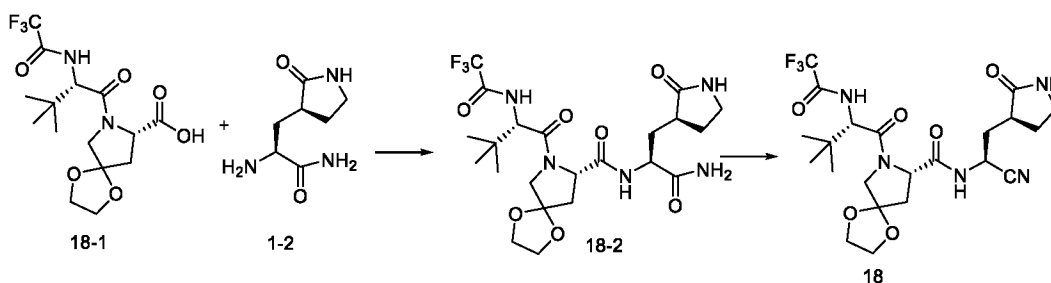
15 В соответствии с тем же способом в примере 2, отличие заключается в том, что вместо трифторуксусного ангидрида использовали циклопропансульфонилхлорид с получением соединения 16 (белое твердое вещество, 29 мг, выход 26%),  $^1H$  ЯМР (400 МГц, Метанол- $d_4$ )  $\delta$  5,06 (dd,  $J = 11,5, 4,5$  Гц, 1H), 4,44 (dd,  $J = 10,3, 7,0$  Гц, 1H), 4,28 (dd,  $J = 11,0, 1,6$  Гц, 1H), 4,00-3,94 (m, 2H), 3,52-3,38 (m, 4H), 3,31-3,21 (m, 1H), 2,79 (tdd,  $J = 10,4, 8,5, 4,1$  Гц, 1H), 2,72-2,65 (m, 1H), 2,57 (ddd,  $J = 7,9, 6,2, 3,9$  Гц, 1H), 2,51 (dd,  $J = 13,0, 10,4$  Гц, 1H), 2,43-2,29 (m, 2H), 1,92-1,74 (m, 2H), 1,34-1,29 (m, 1H), 1,14 (qt,  $J = 6,4, 3,8$  Гц, 1H), 1,06 (s, 9H), 1,01 (ddt,  $J = 7,9, 5,8, 2,7$  Гц, 2H), 0,97-0,87 (m, 1H). ESI-MS: 558,2 масса/заряд  $[M+H]^+$ .

Пример 17



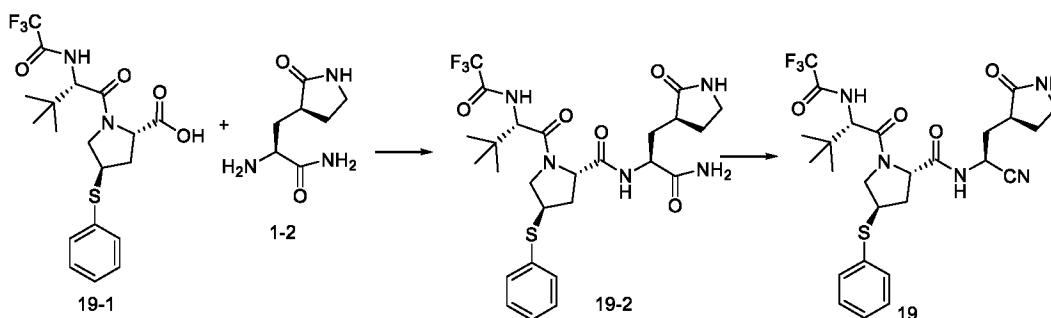
В соответствии с тем же способом в примере 2, отличие заключается в том, что вместо трифторуксусного ангидрида использовали бензолсульфонилхлорид с получением соединения 17 (белое твердое вещество, 35 мг, выход 29%), ESI-MS: 594,2 масса/заряд  $[M+H]^+$ .

Пример 18



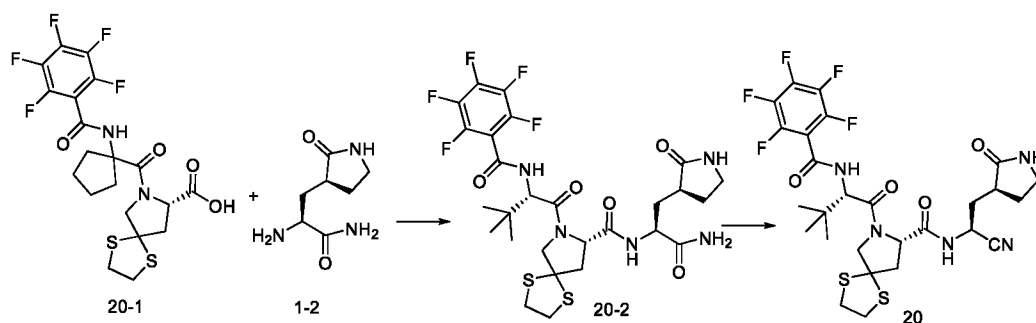
В соответствии с тем же способом в примере 1, отличие заключается в том, что вместо 1-1 использовали 18-1 с получением соединения 18 (белое твердое вещество, 44 мг, выход 42%), ESI-MS: 518,2 масса/заряд  $[M+H]^+$ .

Пример 19



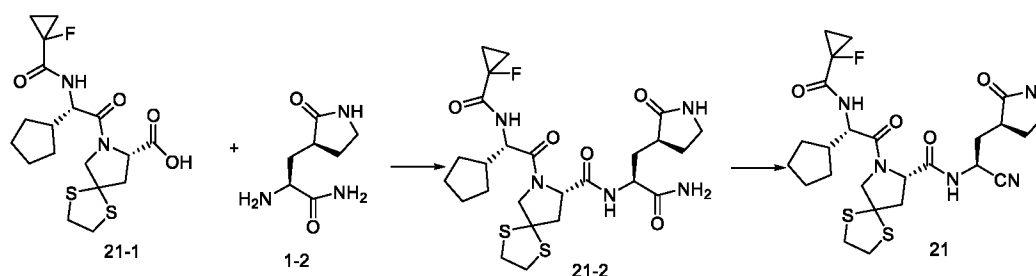
В соответствии с тем же способом в примере 1, отличие заключается в том, что вместо 1-1 использовали 19-1 с получением соединения 19 (белое твердое вещество, 41 мг, выход 36%), ESI-MS: 568,2 масса/заряд  $[M+H]^+$ .

Пример 20



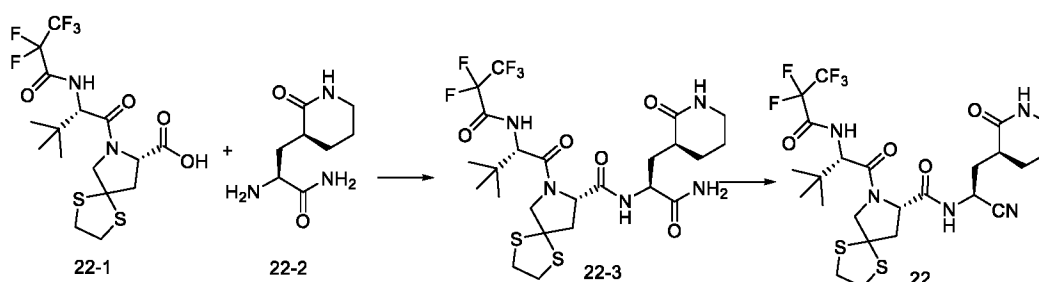
В соответствии с тем же способом в примере 1, отличие заключается в том, что вместо 1-1 использовали 20-1 с получением соединения 20 (белое твердое вещество, 45 мг, выход 35%), ESI-MS: 648,2 масса/заряд  $[M+H]^+$ .

5 Пример 21



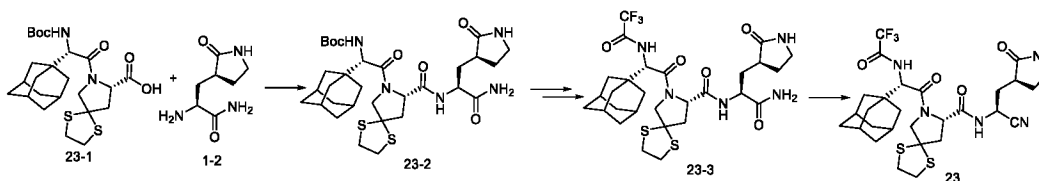
В соответствии с тем же способом в примере 1, отличие заключается в том, что вместо 1-1 использовали 21-1 с получением соединения 21 (белое твердое вещество, 34 мг, выход 31%), ESI-MS: 640,2 масса/заряд  $[M+H]^+$ .

10 Пример 22



В соответствии с тем же способом в примере 1, отличие заключается в том, что вместо 1-1 использовали 22-1 и вместо 1-2 использовали 22-1 с получением соединения 22 (белое твердое вещество, 22 мг, выход 18%), ESI-MS: 614,2 масса/заряд  $[M+H]^+$ .

15 Пример 23



Соединение 23-1 (497 мг, 1 ммоль) помещали в двугорлую колбу и добавляли 5 мл дихлорметана в защитной атмосфере азота, а затем добавляли гексафторфосфат 2-(7-

азабензотриазол)-N,N,N',N'-тетраметилурония (400 мг, 1,1 ммоль) и перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Соединение 1-2 (или его соответствующую соль, 1 ммоль) растворяли в 1 мл дихлорметана и добавляли к указанной выше системе, затем добавляли N,N-диизопропилэтиламин (0,5 мл, 1 ммоль) на ледяной бане и удаляли ледяную баню. Систему перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Проводили обработку, добавляли 50 мл дихлорметана, три раза промывали 1 М водным раствором хлористоводородной кислоты и три раза промывали насыщенным водным раствором бикарбоната натрия. Органическую фазу промывали насыщенным солевым раствором, высушивали над безводным сульфатом натрия и подвергали центробежной сушке фильтрацией с получением соединения 23-2 (белое твердое вещество, 421 мг, выход 65%). ESI-MS: масса/заряд 650,3 [M+H]<sup>+</sup>.

Соединение 23-2 (325 мг, 0,5 ммоль) растворяли в 1,5 мл 4 М раствора хлористого водорода/1,4-диоксана или растворяли в 1 мл дихлорметана, затем по каплям добавляли 1 мл трифторуксусной кислоты и перемешивали при температуре окружающей среды. Тонкослойная хроматография показала, что исходные материалы практически полностью прореагировали, а затем растворитель полностью высушивали на центробежной сушилке. Полученный неочищенный продукт растворяли в 2 мл дихлорметана в защитной атмосфере азота и добавляли триэтиламин (1,5 ммоль), затем систему помещали на ледяную баню и по каплям добавляли трифторуксусный ангидрид (0,6 ммоль). Тонкослойная хроматография показала, что исходные материалы практически полностью прореагировали, а затем добавляли 25 мл дихлорметана и промывали три раза 1 М водным раствором хлористоводородной кислоты и три раза насыщенным водным раствором бикарбоната натрия. Органическую фазу промывали насыщенным солевым раствором, высушивали над безводным сульфатом натрия и пропускали через колонку с получением соединения 23-3 (белое твердое вещество, 167 мг, выход 52%). ESI-MS: масса/заряд 646,3 [M+H]<sup>+</sup>.

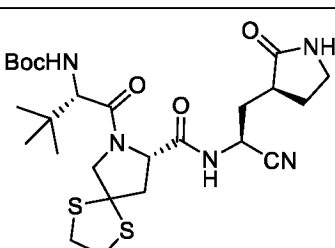
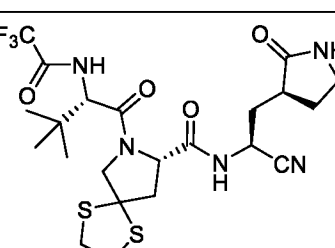
Соединение 23-3 (130 мг, 0,2 ммоль) и реагент Берджесса (1,5 экв.) добавляли в двугорлую колбу, азот загрузжали и выгружали три раза, затем добавляли дихлорметан, высушенный над молекулярными ситами, и перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Тонкослойная хроматография показала, что исходные материалы практически полностью прореагировали. Проводили обработку, проводили колоночную хроматографию с получением соединения 23 (белое твердое вещество, 37 мг, выход 29%), ESI-MS: 628,2 масса/заряд [M+H]<sup>+</sup>.

Пример 24. Тест в отношении ингибирующей активности соединений в отношении 3CL<sup>pro</sup> SARS-CoV-2

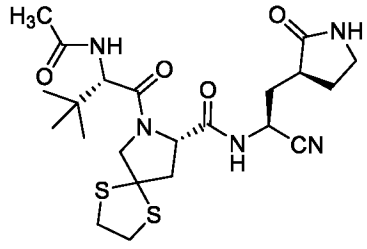
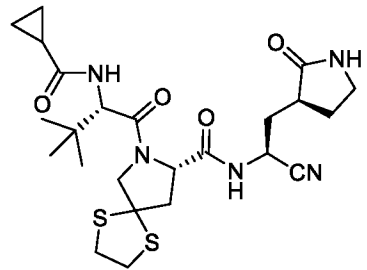
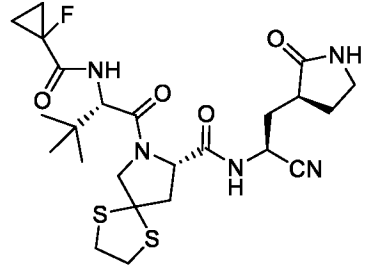
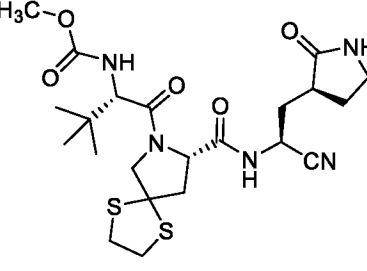
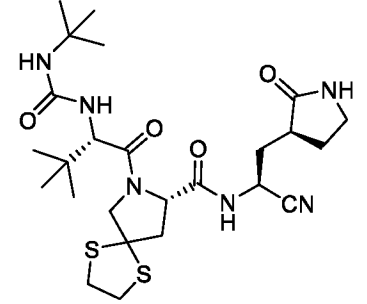
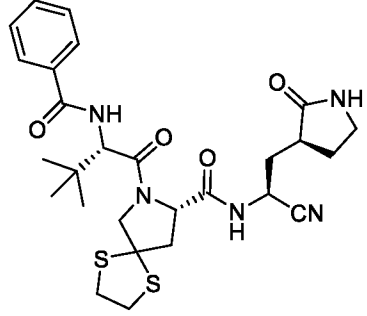
Ингибирующую активность тестируемых соединений в отношении ферментативной активности 3CL<sup>pro</sup> SARS-CoV-2 оценивали способом резонансного переноса энергии флуоресценции. Объем полноценной ферментативной реакционной системы составляет 120 мкл, конечная концентрация протеазы составляет 30 нМ, и конечная концентрация субстрата составляет 20 мкМ. Буфер реакционной системы включает 50 мМ Tris, pH 7,3, 1 мМ EDTA. Протеазу 3CL<sup>pro</sup> SARS-CoV-2 и различные концентрации соединений добавляли в 96-луночный планшет, инкубировали при 30°C в течение 10 мин, а затем добавляли субстрат и планшет быстро помещали в микропланшет-ридер для считывания. Длины волн возбуждения и излучения составляли 320 нМ и 405 нМ соответственно. Время тестирования составляло 3,5 мин, а значение флуоресценции считывали каждые 35 сек. В конечном результате показания первых 2 мин использовали для подгонки с получением скорости реакции и после сравнения с контрольной группой (DMSO) рассчитывали степень ингибирования. Значение IC<sub>50</sub> и кривую степени ингибирования получали путем подгонки с применением программного обеспечения GraphPad Prism 8.

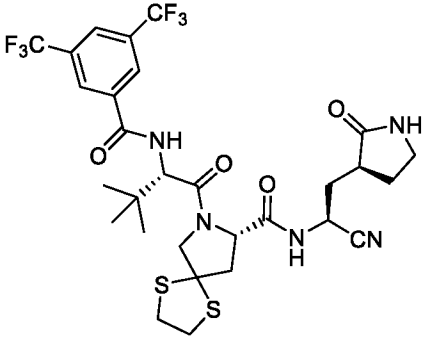
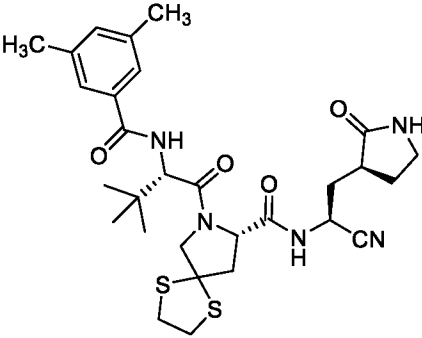
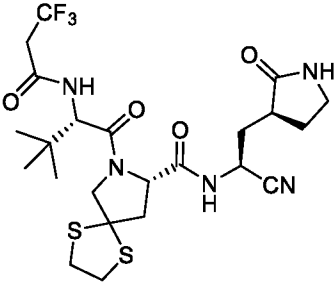
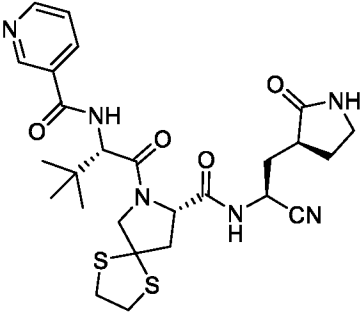
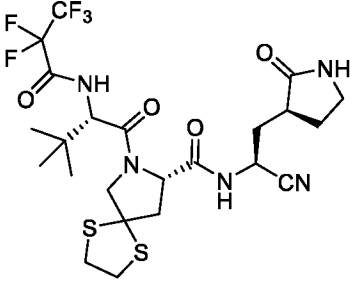
Результаты эксперимента показаны в таблице 1. Результаты показывают, что соединения по настоящему изобретению характеризуются сильными ингибирующими эффектами в отношении 3CL<sup>pro</sup> SARS-CoV-2. Диапазон значения IC<sub>50</sub> таков: А означает < 0,1 мкМ, В означает 0,1-1 мкМ, С означает 1-10 мкМ.

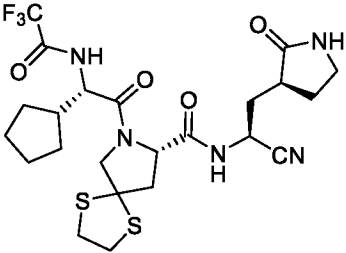
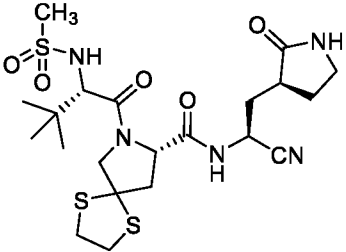
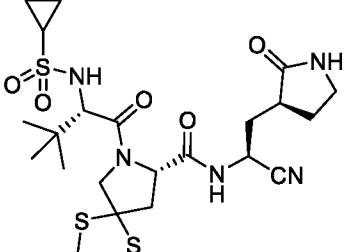
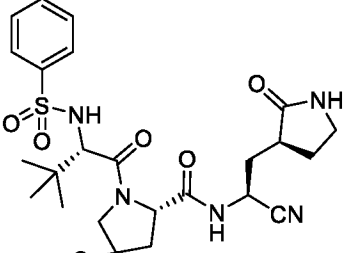
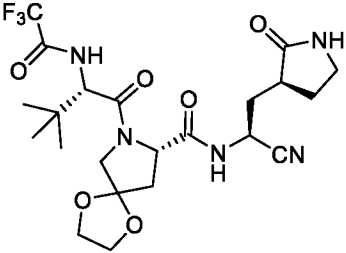
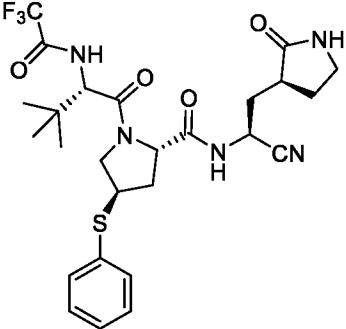
Таблица 1. Ингибирующий эффект соединений **1-23** в отношении 3CL<sup>pro</sup> SARS-CoV-2

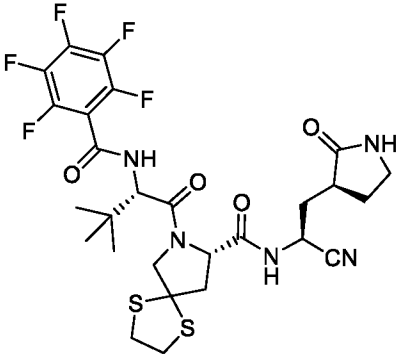
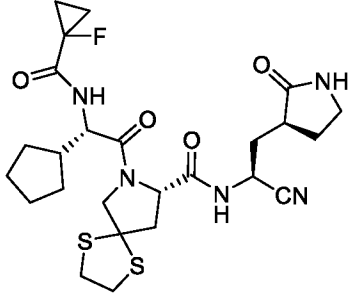
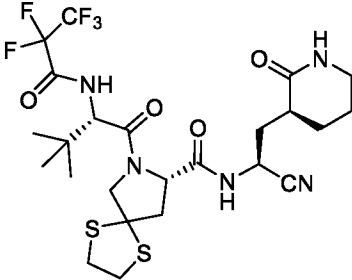
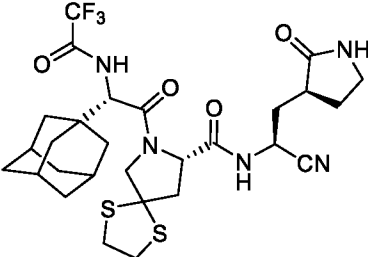
Номер соединения	Структурная формула соединения	IC <sub>50</sub> (мкМ)
1		A
2		A



3		A
4		A
5		A
6		B
7		A
8		C

9		C
10		C
11		B
12		C
13		A

14		A
15		A
16		A
17		C
18		A
19		C

20		B
21		A
22		A
23		A

Пример 24-2. Тест в отношении ингибирующей активности соединения 2 в отношении мутантной протеазы 3CL штамма Omicron SARS-CoV-2

5 Принцип эксперимента. Ингибирующие эффекты соединений по настоящему изобретению в отношении активности мутантной протеазы 3CL (P132H) штамма Omicron изучали с применением способа генерации резонансного переноса энергии флуоресценции (FRET) посредством реакции между ферментом и субстратом.

Материалы для эксперимента показаны в таблице ниже.

Реагентный материал	Торговая марка	Номер по каталогу
---------------------	----------------	-------------------

Мутантная протеаза 3CL-P132H	Shanghai Profession and Creation Co., Ltd.	/
Dabcyl-KTSAVLQSGFRKME-Edans (флуоресцентный субстрат основной протеазы коронавируса)	Beyotime	P9733
DTT (дителиотреитол)	Invitrogen	P2325
BSA (бычий сывороточный альбумин)	Sigma	V900933
EDTA (этилендиаминтетрауксусная кислота)	Invitrogen	AM9260G
Tris-HCl (трисгидроксиметиламинометан)	Sangon Biotech	B548127

#### Прибор и оборудование для эксперимента

Название оборудования	Торговая марка	Модель
Система звукового смещения нанолитрового масштаба Echo	Labcyte	Echo 650
Микропланшет-ридер Flexstation 3	MolecMar Devices	FLEX3
Центрифуга	Eppendorf	5810

#### Стадии эксперимента

- 5 Получали реакционный буфер, содержащий 20 мМ Tris-HCl, 1 мМ EDTA, 0,01% BSA, 1 мМ DTT и 100 мМ NaCl. Соединения, подлежащие тестированию, разбавляли до различных концентраций в диметилсульфоксиде (DMSO) с помощью системы пипетирования Echo и переносили в 384-луночный планшет. Мутантную протеазу 3CL разбавляли реакционным буфером и добавляли в 384-луночный планшет по 10 мкл/лунка, центрифугировали при 1000 об/мин в течение 1 мин, а затем инкубировали при комнатной
- 10 температуре в течение 30 минут. Затем добавляли субстрат по 10 мкл/лунка и центрифугировали при 1000 об/мин в течение 30 с для начала ферментативной реакции. В реакционной системе конечная концентрация фермента составляла 50 нМ, конечная концентрация субстрата составляла 20 мкМ, а диапазон значений концентрации соединения составлял от 10000 нМ до 0,51 нМ. Затем выбирали режим кинетического
- 15 сокращения  $V_{max}$  на микропланшет-ридере Flexstation 3, значение флуоресценции при

длине волны 490 нм непрерывно считывали каждые 75 секунд, в общем 35 раз, с получением значения скорости реакции (V), а также рассчитывали степень ингибирования и применяли программное обеспечение XLfit для выполнения четырехпараметрической подгонки с получением концентрации полумаксимального ингибирования (IC<sub>50</sub>). Способ расчета степени ингибирования представлен ниже.

$$\text{Степень ингибирования} = (V_{\max} - V_{\text{соединение}}) / (V_{\max} - V_{\min}) * 100\%,$$

где V<sub>max</sub> представляет собой значение скорости реакции для лунки, содержащей только фермент и субстрат, V<sub>min</sub> представляет собой значение скорости реакции для лунки, содержащей только субстрат, а V<sub>соединение</sub> представляет собой значение скорости реакции для лунки, содержащей соединение, подлежащее тестированию, фермент и субстрат.

Результаты эксперимента. В отношении протеазы 3CL с мутацией P132H в штамме Omicron SARS-CoV-2 соединение 2 по-прежнему сохраняло значительную ингибирующую активность (значение IC<sub>50</sub> в трех независимых тестах составляла 0,022 ± 0,00090 мкМ).

**Таблица 2. Ингибирующий эффект соединения 2 в отношении активности протеазы 3CL штамма Omicron SARS-CoV-2**

Протеаза 3CL	Соединение 2, IC <sub>50</sub> (мкМ) (n = 3*)
SARS-CoV-2 (штамм Omicron)	0,022 ± 0,00090

\* относится к трем независимым повторным экспериментам.

Пример 24-3. Тест в отношении ингибирующей активности соединения 2 в отношении протеазы 3CL коронавируса из разных источников

Цель эксперимента. Исследовать ингибирующий эффект соединения 2 в отношении активности протеазы 3CL, полученной из шести других коронавирусов, способных инфицировать людей. Данные шесть вирусов представляют собой: SARS-CoV, MERS-CoV, OC43-CoV, H229E-CoV, NL63-CoV и HKU1-CoV.

Материалы для эксперимента

Протеаза 3CL: рекомбинантную полноразмерную протеазу 3CL коронавируса изготавливали в собственной лаборатории в соответствии с последовательностью генома коронавируса, используемые в GenBank геномные номера для SARS-CoV, MERS-CoV, H229E-CoV, HKU1-CoV, NL63-CoV и OC43-CoV представляют собой AAP13442.1, MT387202.1, AF304460.1, AY597011.2, AY567487.2 и AY903459.1 соответственно, а последовательности ДНК, необходимые для экспрессии белков протеазы 3CL шести коронавирусов, приобретали у Nanjing GenScript Biotechnology Co., Ltd.

Субстрат для протеазы 3CL приобретали у Nanjing GenScript Biotechnology Co., Ltd.

Субстрат для химотрипсина приобретали у GL Biochemical Co., Ltd.

Другие реагенты перечислены в таблице ниже.

Реагентный материал	Торговая марка	Номер по каталогу
Химотрипсин, полученный из бычьей поджелудочной железы	Sigma	C4129
Tris	Sigma	BCBX383 7
EDTA	Sigma	00014347 76

#### Стадии эксперимента

Составляли реакционный буфер (содержащий 50 мМ Tris и 1 мМ EDTA). Соединение, подлежащее тестированию, растворяли в DMSO с получением 100 мМ исходного раствора и дополнительно серийно разбавляли в 2 раза реакционным буфером с получением в целом 11 концентраций. Протеазу 3CL и различные концентрации соединений добавляли в 96-луночный планшет, инкубировали при комнатной температуре в течение 10 минут, а затем добавляли субстрат и планшет быстро помещали в микропланшет-ридер для считывания. Объем полноценной ферментативной реакционной системы составлял 120 мкл, а конечные концентрации протеаз SARS-CoV, MERS-CoV, H229E-CoV, HKU1-CoV, NL63-CoV и OC43-CoV составляли 30 нМ, 80 нМ, 30 нМ, 20 нМ, 30 нМ и 10 нМ соответственно, и конечные концентрации субстрата составляли 10 мкМ. Длины волн возбуждения и излучения при считывании составляли 340 нм и 490 нм соответственно. Время тестирования составляло 10 минут, а значение флуоресценции считывали каждую 1 минуту. В конечном результате показания считываний первых 5 мин. использовали для подгонки с получением скорости реакции, рассчитывали степень ингибирования, причем формула расчета представляет собой: степень ингибирования = 1 - (скорость реакции тестовой группы/скорость реакции контрольной группы).

Результаты эксперимента. Результаты показаны в таблице 3. Соединение 2 демонстрировало хороший ингибирующий эффект в отношении протеаз 3CL, полученных из других шести коронавирусов, что позволяет предположить, что соединение 2 может характеризоваться широким спектром противокоронавирусной активности.

**Таблица 3. Ингибирующий эффект соединения 2 в отношении протеаз 3CL из других коронавирусов**

Источник протеазы 3CL	Соединение 2, IC <sub>50</sub> (мкМ)
-----------------------	--------------------------------------

HKU1-CoV	0,0049
OC43-CoV	0,010
SARS-CoV-1	0,024
MERS-CoV	0,060
H229E-CoV	0,13
NL63-CoV	0,85

Пример 25-1. Ингибирующий эффект соединения 2 в отношении штаммов WIV04 и B.1.351 SARS-CoV-2 на клеточном уровне

В тесте использовали клетки Vero E6 и клетки Vero E6 (50000 клеток/лунка) добавляли в 48-луночный планшет, добавляли среду, содержащую градиентные концентрации соединений по 100 мкл/лунка, и через час добавляли SARS-CoV-2, множественность заражения (MOI) составляла 0,01. После совместного инкубирования в течение 1 часа удаляли супернатант, остаток промывали и снова добавляли среду, содержащую градиентные концентрации соединений по 200 мкл/лунка и инкубировали при 37°C в течение 24 часов. После 24 часов собирали клеточный супернатант, экстрагировали вирусную РНК из супернатанта и определяли количество копий вируса в супернатанте с помощью количественной флуоресцентной ПЦР в реальном времени. Степень ингибирования соединения рассчитывали по количеству копий вируса, а значение EC<sub>50</sub> соединения рассчитывали с помощью Prism 6.0.

Результаты теста показали, что соединение 2 ингибировало штамм WIV04 SARS-CoV-2 со значением полумаксимальной эффективной концентрации EC<sub>50</sub>, составляющим 0,57 +/- 0,04 мкМ, и ингибировало штамм B.1.351 SARS-CoV-2 со значением EC<sub>50</sub>, составляющим 0,73 +/- 0,06 мкМ, и кривые EC<sub>50</sub> показаны на фиг. 1 и 2.

Пример 25-2. Ингибирующий эффект соединения 2 в отношении исходного штамма Vero E6 SARS-CoV-2 (WIV04), штамма дельта (B.1.617.2) и штамма Omicron (B.1.1.529) на клеточном уровне

Цель эксперимента. В данном эксперименте способ определения количества копий вируса в культуральном супернатанте с помощью количественной флуоресцентной ПЦР в реальном времени в клетках Vero E6 применяли для исследования ингибирующего эффекта соединения 2 в отношении исходного штамма SARS-CoV-2 (штамм WIV04), штамма дельта (B.1.617.2) и штамма Omicron (B.1.1.529) при репликации клеток. Поскольку клетки Vero E6 в высокой степени экспрессировали эффлюксный переносчик P-gp, добавляли 0,5 мкМ ингибитора P-gp CP-100356 и инкубировали с соединением.



#### Материалы для эксперимента

Vero E6 приобретали у ATCC (номер по каталогу: CRL-1586), исходный штамм SARS-CoV-2 (штамм SARS-CoV-2-WIV04), штамм дельта (B.1.617.2), штамм Omicron (B.1.1.529) получали из Центра сбора видов микробных бактерий (вирусов) Уханьского института вирусологии Китайской академии наук.

Другие реагенты перечислены в таблице ниже.

Название реагента	Торговая марка	Номер по каталогу
Набор для экстракции вирусной РНК/ДНК TaKaRa MiniBEST, версия 5.0	Takara	9766
Набор реагентов TaKaRa PrimeScript™ RT с реагентом для удаления gDNA	Takara	RR047A
Премикс Ex Taq™ II TaKaRa SYBR®	Takara	RR820A
Фетальная бычья сыворотка	Gibco	R2768
Среда DMEM	Gibco	C11995500BT
ССК8	Beyotime	C0039
Хлорохина фосфат	SIGMA	C6628-50G
Трипсин	BIOSHARP	BL512A

#### Инструменты для эксперимента

Шкаф биобезопасности (AC2-3S1, ESCO, Сингапур).

10 Углекислотный инкубатор (Thermo Scientific HERAcell 150i, Thermo Scientific, США).  
Оборудование для очистки воды (машина для сверхчистой воды ShenYuan SYS, Чэнду).

Система ПЦР в реальном времени StepOne Plus (4376600, ABI, США).

Автоматический счетчик клеток TC20™ (1450102, BIO-RAD, США).

15 Термоциклер T100™ (1861096, BIO-RAD, США).

Центрифуга (Micro21/21R Thermo, Thermo Scientific, США).

#### Стадии эксперимента

Клетки Vero E6 расщепляли трипсином и помещали в культуральную среду (90% DMEM, 10% фетальной телячьей сыворотки), инокулировали в 48-луночный планшет по 50000 клеток на лунку и культивировали в течение ночи. Соединение, подлежащее тестированию, растворяли в DMSO с получением 40 мМ исходного раствора и

дополнительно серийно разбавляли средой, содержащей 0,5 мкМ ингибиторов Pgp с получением необходимой концентрации. Конечная концентрация соединения, подлежащего тестированию, в эксперименте находилась в диапазоне от 1 мкМ до 0,004 мкМ. Клеточный супернатант удаляли, в каждую лунку добавляли разбавленное соединение (содержащее 0,5 мкМ ингибитора Pgp), инкубировали в течение 1 ч. Различные штаммы SARS-CoV-2 вводили в лабораторию 3 уровня биологической безопасности (BSL-3), а множественность заражения (MOI) составляла 0,01 или 0,001. После инкубации в течение 1 ч. удаляли супернатант, остаток промывали с помощью PBS, добавляли разбавленное соединение (содержащее 0,5 мкМ ингибитора Pgp) по 200 мкл/лунка и супернатант собирали через 24 или 72 часа после инфицирования. Вирусную РНК экстрагировали из супернатанта и использовали количественную флуоресцентную ПЦР в реальном времени для определения количества копий вируса в супернатанте, степень ингибирования соединения рассчитывали в соответствии с количеством копий вируса и применяли GraphPad Prism 8 для расчета  $IC_{50}$  соединения.

В тесте в отношении цитотоксичности клетки Vero E6 расщепляли и помещали в культуральную среду (90% DMEM, 10% фетальной бычьей сыворотки), инокулировали в 96-луночный планшет по 20000 клеток на лунку и культивировали в течение ночи. Соединение, подлежащее тестированию, растворяли в DMSO с получением 40 мМ исходного раствора и дополнительно серийно разбавляли культуральной средой или культуральной средой, содержащей 0,5 мкМ ингибитора Pgp, с получением концентрации, необходимой для теста. Конечная концентрация соединения, подлежащего тестированию, в эксперименте находилась в диапазоне от 500 мкМ до 1,95 мкМ. Клеточный супернатант удаляли из 96-луночного планшета, среду для соединения, подлежащего тестированию (в виде монотерапии или содержащее 0,5 мкМ ингибитора Pgp), добавляли по 100 мкл/лунка и инкубировали в течение 24 ч; набор для выявления ССК8 применяли для определения жизнеспособности клеток и рассчитывали степень ингибирования и медианное значение цитотоксической концентрации ( $CC_{50}$ ).

Результаты теста. Как показано в таблице 4, в комбинации с ингибитором P-gr CP-100356 соединение 2 может дозозависимо ингибировать репликацию дельта-штамма в клетках Vero E6 с  $IC_{50}$ , составляющей 0,040 мкМ. В исходном штамме соединение 2 в комбинации с ингибитором P-gr также оказывало сильный ингибирующий эффект с  $IC_{50}$ , составляющей 0,027 мкМ. Кроме того, соединение 2 в комбинации с ингибитором P-gr может в значительной степени ингибировать репликацию штамма Omicron в клетках Vero E6 с  $IC_{50}$ , составляющей 0,12 мкМ. Соединение 2 отдельно или в комбинации с

ингибитором P-гр не характеризовалось очевидной цитотоксичностью в отношении пролиферации клеток Vero E6, значение  $CC_{50}$  больше 500 мкМ.

**Таблица 4. Ингибирующий эффект соединения 2 в комбинации с ингибитором P-гр в отношении репликации SARS-CoV-2 в клетках Vero E6**

Оборудование	Соединение 2 + 0,5 мкМ CP-100356	
	IC <sub>50</sub> (мкМ)	Индекс селективности, SI SI = (CC <sub>50</sub> /IC <sub>50</sub> )
Исходный штамм, Vero E6 (WIV04)	0,027 (среднее значение, n = 2)	> 18519
Штамм дельта, Vero E6 (B.1.617.2)	0,040 (среднее значение, n = 2)	> 12500
Штамм Omicron, Vero E6 (B.1.1.529)	0,12	> 4167
Vero E6, монотерапия соединением, CC <sub>50</sub>	> 500 мкМ	
Vero E6, соединение в комбинации с ингибитором P-гр, CC <sub>50</sub>	> 500 мкМ	

5

Пример 26. Противовирусный эффект соединения 2 *in vivo* в отношении штамма дельта SARS-CoV-2 у трансгенных мышей hACE2-K18

Цель эксперимента. В данном исследовании оценивали противовирусную активность соединения 2 в отношении штамма дельта SARS-CoV-2 у трансгенных мышей K18, стабильно экспрессирующих человеческий ангиотензинпревращающий фермент 2 (ACE2) (K18-hACE2).

10

Материалы для эксперимента

Трансгенных мышей K18-hACE2 в возрасте 7-8 недель приобретали у Jiangsu Jicui Gempharmatech Co., Ltd. Штамм дельта вируса SARS-CoV-2 получали из Центра сбора видов микробных бактерий (вирусов) Уханьского института вирусологии Китайской академии наук.

15

Ритонавир приобретали у Shanghai Desano Inc.

Клетки Vero E6 приобретали у ATCC (номер по каталогу: CRL-1586).

Другие реагенты перечислены в таблице ниже.

Название реагента	Торговая марка	Номер по каталогу
Мини-набор Qiagen 74106 RNeasy	Qiagen	74106
Набор реагентов TaKaRa PrimeScript™ RT с реагентом для удаления gDNA	Takara	RR047A
Премикс Ex Taq™ II TaKaRa SYBR®	Takara	RR820A
Фетальная бычья сыворотка	Gibco	10099-141C
Среда DMEM	Gibco	C11995500BT
Фиксатор тканей	BOSTER	AR1068
Аквацид II (метилцеллюлоза натрия)	Millipore	17851
Среда DMEM (порошок, высокое содержание сахара)	Gibco	12100046
Кристаллический фиолетовый	Sinopharm Group	71012314

Инструменты для эксперимента

- 5 Шкаф биобезопасности (AC2-3S1, ESCO, Сингапур).  
 Углекислотный инкубатор (Thermo Scientific HERAccl 150i, Thermo Scientific, США).  
 Оборудование для очистки воды (машина для сверхчистой воды ShenYuan SYS, Чэнду).  
 Система ПЦР в реальном времени StepOne Plus (4376600, ABI, США).  
 10 Автоматический счетчик клеток TC20™ (1450102, BIO-RAD, США).  
 Термоциклер T100™ (1861096, BIO-RAD, США).  
 Центрифуга (Micro21/21R Thermo, Thermo Scientific, США).  
 Измельчитель тканей (JXFSTPRP-CL, Shanghai Jingxin Industrial Development Co., Ltd.)  
 Стадии эксперимента. Трансгенных мышей K18-hACE2 инфицировали штаммом  
 15 дельта SARS-CoV-2 посредством интраназальных капель в день 0. Через 2 часа после  
 инфицирования среду-носитель и соединение 2 в дозе 50 мг/кг или 200 мг/кг (в комбинации  
 с ингибитором цитохрома P450 ритонавиром в дозе 50 мг/кг) вводили с помощью  
 желудочного зонда VID в течение 2 дней (где 1 дозу вводили в день 0, 2 дозы вводили в  
 20 день 1, 1 дозу вводили в день 2) или 4 дней (где 1 дозу вводили в день 0, а 2 дозы вводили  
 в день 1, день 2 и день 3 соответственно). Регистрировали изменения веса тела мышей и в

конечной точке собирали ткани легких и головного мозга. Среди них левое легкое фиксировали в формальдегиде, а затем использовали для гистопатологического исследования после заливки, секционирования и окрашивания гематоксилином и эозином. Ткань правого легкого и головного мозга разделяли на две части. Одну часть измельчали и отбирали гомогенат для экстракции РНК, которую затем подвергали обратной транскрипции, а количество копий вируса определяли с помощью количественной флуоресцентной ПЦР в реальном времени. Другую часть измельчали и отбирали гомогенат для определения титра вируса с помощью теста на образование бляшек. Способ теста на образование бляшек является следующим: клетки Vero E6 инокулировали в 24-луночный планшет по 12000 клеток на лунку и культивировали в течение ночи. Исходный гомогенат тканей серийно разбавляли в 10 раз в среде DMEM для последующего применения. Клеточный супернатант удаляли, добавляли разбавленный гомогенат тканей и инкубировали в течение 1 ч, затем супернатант удаляли, добавляли среду, содержащую 1% метилцеллюлозы натрия и 2% FBS, и культивировали в течение 4 дней. Затем среду удаляли, для фиксации использовали параформальдегид, для окраски использовали 1% (вес/об) кристаллический фиолетовый и подсчитывали количество бляшек в каждой лунке.

Результаты теста. Как показано в таблице 5, через 2 дня после инфицирования по сравнению с модельной группой (среднее значение количества копий вируса составляло  $9,19 \pm 0,30 \log_{10}$  копий/г) в случае комбинирования с ритонавиром соединение 2 в дозе 50 мг/кг и 200 мг /кг в значительной степени снижало вирусную нагрузку в легких со средним значением количества копий  $7,66 \pm 0,27 \log_{10}$  копий/г и  $6,79 \pm 0,30 \log_{10}$  копий/г соответственно, где количество копий вируса снижалось на  $2,4 \log_{10}$  копий/г при дозе 200 мг/кг. Через 4 дня после инфицирования наблюдали ингибирующий эффект соединения 2 в отношении количества копий вируса. Применительно к титру вируса, как показано на фиг. 3, наблюдали значительный ингибирующий эффект соединения 2. Через 2 дня после инфицирования репликация вируса полностью ингибировалась при дозе 200 мг/кг, и титра не выявляли. По сравнению с модельной группой при дозе 50 мг/кг титр вируса снижался более чем на  $3 \log_{10}$  БОЕ/г, и соединение 2 демонстрировало устойчивый ингибирующий эффект в отношении титра вируса через 4 дня после инфицирования. Применительно к весу тела, как показано на фиг. 4, через 4 дня после инфицирования вес тела мышей в модельной группе снижался приблизительно на 10%, в то время как вес тела в группе введения соединения 2 не снижался в значительной степени, что указывает на то, что соединение 2 не демонстрировало очевидной токсичности при непрерывном введении. Авторы настоящего изобретения дополнительно определяли вирусную нагрузку в головном мозге

мышей, и через 2 дня после инфицирования в каждой группе не произошло явного инфицирования. Через 4 дня после инфицирования по сравнению с модельной группой соединение 2 могло в значительной степени снижать количество копий вируса в головном мозге мышей в дозах, составляющих 50 мг/кг и 200 мг/кг, особенно в дозе, составляющей 200 мг/кг, количество копий вируса было сопоставимо с таковым в неинфицированной нормальной группе. Авторы настоящего изобретения дополнительно определяли титр вируса в головном мозге через 4 дня после инфицирования, и результаты показаны на фиг. 5. По сравнению с модельной группой после введения двух доз соединения 2 титр вируса не определяли, что свидетельствует о сильном ингибирующем эффекте соединения 2. Кроме того, гистопатологический анализ легких показал, что по сравнению с модельной группой соединение 2 в дозе, составляющей 200 мг/кг, в значительной степени облегчало повреждения в легких, в том числе снижая степень альвеолярной атрофии или дилатации и степень утолщения альвеолярной мембраны.

**Таблица 5. Значения вирусной нагрузки в легких и головном мозге мышей через 2 и 4 дня после инфицирования (среднее значение  $\pm$  SD)**

Группа	Ткань легкого (log <sub>10</sub> копий/г)		Ткань головного мозга (log <sub>10</sub> копий/мг)	
	2 день	4 день	2 день	4 день
Модельная группа	9,19 $\pm$ 0,30	9,35 $\pm$ 0,30	1,34 $\pm$ 0,78	7,17 $\pm$ 0,27
Соединение 2, 200 мг/кг + Ритонавир, 50 мг/кг	6,79 $\pm$ 0,30	7,48 $\pm$ 0,63	1,04 $\pm$ 0,24	0,99 $\pm$ 0,42
Соединение 2, 50 мг/кг + Ритонавир, 50 мг/кг	7,66 $\pm$ 0,27	7,88 $\pm$ 0,74	0,77 $\pm$ 0,20	2,88 $\pm$ 1,26
Нормальная группа	5,76 $\pm$ 0,32	6,27 $\pm$ 0,18	1,08 $\pm$ 0,06	1,08 $\pm$ 0,06

Пример 27. Селективность соединения 2 в отношении киназ

Цель эксперимента. Ингибирующую активность соединения 2 в отношении 413 киназ определяли на экспериментальной платформе KinaseProfiler для исследования селективности соединения 2 в отношении киназ.

Материалы для эксперимента

5 KinaseProfiler полноценной панели человека [10 мкМ АТФ] представляет собой тестовый продукт, предоставленный Eurofins, номер по каталогу: 50-005KP10, данный продукт включает 413 киназ.

Стадии эксперимента.

10 Каждую выбранную киназу тестировали с соединением с применением стандартного способа анализа KinaseProfiler Eurofins и следуя соответствующим стандартным рабочим процедурам. Протеинкиназы выявляли радиоактивным способом, в то время как липидкиназы выявляли способом HTRF. Концентрация АТФ в эксперименте составляла 10 мкМ. Подробная информация о каждой киназе доступна на веб-сайте Eurofins по адресу:  
15 <https://www.eurofinsdiscoveryservices.com/catalogmanagement/viewItem/Full-Human-Panel-10-uM-ATP-KinaseProfiler/50-005KP10>.

Результаты эксперимента. Для 413 киназ степень ингибирования соединения 2 составляла менее 30% при концентрации 10 мкМ, не демонстрируя значительного ингибирующего эффекта, что позволяет предположить, что соединение 2 характеризуется превосходной селективностью.

20 Пример 28. Селективность соединения 2 в отношении целей безопасности

Цель эксперимента. Эффект соединения 2 в отношении 47 целей, связанных с безопасностью, определяли на экспериментальной платформе SafetyScan.

Материалы для эксперимента

25 Панель Safety47 "доза-ответ" SAFETYscan представляет собой тестовый продукт, предоставленный Eurofins, номер по каталогу: 87-1003DR. Данный продукт содержит 78 тестов, связанных с 47 целями безопасности.

Стадии эксперимента.

30 Для 78 тестов, связанных с 47 целями безопасности, используемые экспериментальные способы включают: анализ cAMP, анализ потока кальция, анализ ядерных гормональных рецепторов, анализ связывания киназы, анализ ферментативной активности, анализ переносчиков нейротрансмиттеров, анализ ионных каналов и анализ переносчиков. Конкретные способы для каждого эксперимента доступны на веб-сайте Eurofins по следующему URL-адресу:

<https://www.eurofindiscoveryservices.com/catalogmanagement/viewItem/Safety47-Panel-Dose-Response-SAFETYscan-DiscoverX/87-1003DR>.

Результаты эксперимента. Для 47 целей, связанных с безопасностью, соединение 2 не характеризовалось значительным ингибирующим или активирующим эффектом при концентрации 100 мкМ (все значения EC<sub>50</sub> составляли более 100 мкМ), что позволяет предположить, что соединение 2 характеризовалось превосходной селективностью.

Пример 29. Анализ связывания соединения 2 с белками плазмы крови человека

#### **Материалы для эксперимента**

Плазму крови человека приобретали у BioIVT, подвергали антикоагуляции с помощью EDTA K2 и хранили при -80°C. 96-Луночные планшеты для равновесного диализа приобретали у HTDialysis LLC. Мембраны для равновесного диализа приобретали у Gales Ferry.

#### **Экспериментальная процедура**

Щелочной раствор с 14,2 г/л динатрия гидрофосфата и 8,77 г/л хлорида натрия составляли со сверхчистой водой, при этом щелочной раствор можно хранить при 4°C в течение 7 дней. Кислотный раствор с 12,0 г/л дигидрофосфата натрия и 8,77 г/л хлорида натрия составляли со сверхчистой водой, при этом кислотный раствор можно хранить при 4°C в течение 7 дней. Щелочной раствор титровали кислотным раствором до pH 7,4, при этом буфер можно хранить при 4°C в течение 7 дней. Значение pH буфера измеряли в день эксперимента и значение pH регулировали, если оно превышало диапазон 7,4 ± 0,1.

Мембрану для диализа замачивали в сверхчистой воде в течение 60 минут, чтобы разделить мембрану на две части, затем замачивали в 20% этанола на 20 минут и, наконец, замачивали в буфере, используемом для диализа, на 20 минут.

Замороженную плазму крови быстро размораживали при комнатной температуре.

Плазму крови центрифугировали при 3220 g в течение 10 мин. при 4°C для удаления сгустков и собирали супернатант в новую центрифужную пробирку. pH плазмы крови измеряли и регистрировали.

10 мМ исходного раствора аналита составляли в DMSO. 2 мкл исходного раствора (10 мМ) разбавляли с помощью 98 мкл DMSO с получением рабочего раствора (200 мкМ). Отбирали 3 мкл рабочего раствора и добавляли 597 мкл плазмы крови человека с получением конечной концентрации, составляющей 1 мкМ (0,5% DMSO). Смесь полностью перемешивали на вортексе.

К одной стороне диализной мембраны добавляли 120 мкл образца плазмы крови, содержащего лекарственное средство, а к другой стороне диализной мембраны добавляли



равный объем диализата (фосфатного буфера). Эксперимент проводили в параллельном дублировании. Диализный планшет герметично закрывали, помещали в инкубационное устройство и инкубировали при 37°C, 5% CO<sub>2</sub> и приблизительно 100 об/мин в течение 6 часов. После завершения инкубации герметизирующую пленку удаляли и пипеткой переносили по 50 мкл со стороны буфера и стороны плазмы крови в каждую лунку соответственно в отдельные лунки нового планшета.

К образцу фосфатного буфера добавляли 50 мкл холостого раствора плазмы крови, а к образцу плазмы крови добавляли равный объем холостого раствора фосфатного буфера. Для осаждения белков добавляли 300 мкл гасителя комнатной температуры (содержащего внутренний стандарт ацетонитрил (IS, 500 нМ лабеталола, 100 нМ алпрозолама и 2 мкМ кетопрофена)). Полученную смесь перемешивали на вортексе в течение 5 минут и центрифугировали при 3220 g в течение 30 мин при 4°C и 100 мкл супернатанта переносили на новый планшет. В соответствии с сигналом отклика LC/MS и формой пика аналита супернатант разбавляли 100 мкл или 200 мкл воды и равномерно перемешивали и анализировали образец с применением LC/MS.

Все расчеты проводили с помощью Microsoft Excel. Определяли площадь пика аналита на стороне буфера и на стороне плазмы крови. Формула для расчета степени связывания с белками плазмы крови для аналита и контрольного лекарственного средства является следующей: степень несвязывания = (соотношение площади пика образца и площади пика внутреннего стандарта на стороне буфера/соотношение площади пика образца и площади пика внутреннего стандарта на стороне плазмы крови) \* 100%, степень связывания = 1 - степень несвязывания, и степень высвобождения = (соотношение площади пика образца и площади пика внутреннего стандарта на стороне буфера + соотношение площади пика образца и площади пика внутреннего стандарта на стороне плазмы крови)/(соотношение площади пика образца и площади пика внутреннего стандарта исходного образца плазмы крови) \* 100%. Соотношение площади пика образца и площади пика внутреннего стандарта на стороне буфера представляет собой концентрацию свободного соединения. Соотношение площади пика образца и площади пика внутреннего стандарта со стороны плазмы крови представляет собой сумму концентрации свободного соединения и концентрации связанного соединения. Соотношение площади пика образца и площади пика внутреннего стандарта исходного образца плазмы крови представляет собой общую концентрацию соединения в начале инкубирования образца.

### **Результаты теста**

См. таблицу 6. Когда 1 мкМ соединения 2 инкубировали при 37°C в течение 6 часов, среднее значение степени несвязывания составляло 46,63%, значение степени связывания составляло 53,37%, а значение степени высвобождения составляло 88,02%.

**Таблица 6. Результаты анализа связывания соединения 2 с белками плазмы человека**

5

Соединение	Степень несвязывания (F%)			Степень связывания (%)	Степень высвобождения (%)
	Повтор 1	Повтор 2	Среднее значение		
Соединение 2	48,71	44,55	46,63	53,37	88,02

Пример 30. Тест в отношении распределения соединения 2 в тканях с помощью одного желудочного зонда

Материалы для эксперимента

10 Всего использовали 60 мышей Balb/c (приобретенных у Shanghai Minchang Biotechnology Co., Ltd.), половина из которых представлена самцами, а другая половина представлена самцами, весом 18-25 г.

Стадии эксперимента.

15 Мышам Balb/c вводили соединение 2 с помощью одного желудочного зонда в дозе, составляющей 100 мг/кг, и объеме, составляющем 10 мл/кг.

До введения и через 5 мин, 0,25, 1,0, 2,0, 3,0, 5,0, 7,0 и 10 ч после введения (по 6 мышей в каждый момент времени, половина самцов и половина самок); в указанные выше моменты времени через ретроокулярное венозное сплетение собирали 0,2 мл крови, помещали в тестовую пробирку с EDTA-K2, центрифугировали при 11000 об/мин в течение 20 5 мин и выделяли плазму крови и замораживали в холодильнике при -70°C; после забора цельной крови в моменты времени 0,25, 1,0, 3,0 и 7,0 ч ткань легкого немедленно иссекали и собирали. Остаточную кровь и содержимое на поверхности ткани ополаскивали холодным солевым раствором, сушили промоканием, помечали и хранили при -70°C для тестирования. Содержание соединения 2 в плазме крови и ткани легкого определяли с 25 помощью LC/MS-MS и рассчитывали соотношение содержания в легких и содержания в крови.

Результаты теста.

30 После введения соединения 2 с помощью желудочного зонда мышам Balb/c соотношение воздействия на ткань легкого к воздействию на плазму крови составляло 0,62, при этом воздействие соединения 2 на ткань легкого было высоким.

Пример 31. Фармакологический тест в отношении безопасности эффекта соединения 2 в отношении сердечно-сосудистой системы яванских макаков при введении с помощью желудочного зонда

5 В исследовании токсичности при повторном введении дозы на яванских макаках в течение 2 недель одновременно исследовали влияние соединения 2 на сердечно-сосудистую систему.

Материалы для эксперимента

32 яванских макака, половина из которых представлена самцами, а другая половина представлена самцами, в возрасте 2,5-5 лет на момент введения.

10 Источник животных: Yunnan Yingmao Biotechnology Co., Ltd.; Guangxi Xionsen Primate Experimental Animal Breeding and Development Co., Ltd.; Zhongke Lingrui (Чжаньцзян) Biotechnology Co., Ltd.

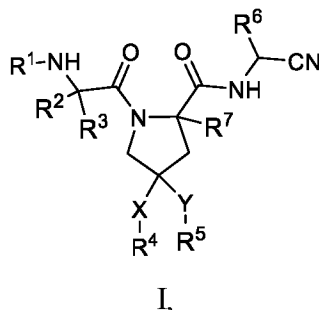
15 Систолическое артериальное давление (SBP), диастолическое артериальное давление (DBP) и среднее артериальное кровяное давление (МВР) у всех животных, находящихся в сознании, измеряли с помощью интеллектуального неинвазивного сфигмоманометра ВР-98Е, оснащенного электронной системой сбора данных Provantis/v10.2.3.1 (PV-02).

20 Стадии эксперимента. 32 яванских макака (для групп 1 и 4, 5 животных/пол/группа, для групп 2 и 3, 3 животных/пол/группа, всего 4 группы) рандомизировали и вводили им соединение 2 через назальную трубку (40, 160 и 600 мг/кг/день) или контрольный состав (98,9% состава среды-носителя + 1,1% МТВЕ, 0 мг/кг/день) два раза в день в общей сложности в течение 14 дней, и животные восстанавливались в течение 14 дней после введения. Всех животных включали в данное исследование для оценки эффекта введения на параметры ECG, включая частоту сердечных сокращений, PR-интервал, продолжительность QRS, интервал QT и QTcF, а также на артериальное давление в период 25 перед введением дозы, период дозирования и период восстановления.

30 Результаты теста. В условиях данного теста яванским макакам вводили соединение 2 (40, 160 и 600 мг/кг/день) через назальный зонд в течение 14 дней дважды в день, при этом не наблюдали изменений в сердечно-сосудистой системе, связанных с тестируемым продуктом; не наблюдали аритмии, связанной с тестируемым продуктом; и не наблюдали изменений в параметрах ECG или артериальном давлении, связанных с тестируемым продуктом, на протяжении всего теста.

### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Цианосоединение, представленное общей формулой I, или его рацемат, энантиомер, диастереоизомер или фармацевтически приемлемая соль,



где

R<sup>1</sup> выбран из -COR<sup>8</sup> и -SO<sub>2</sub>R<sup>9</sup>;

каждый из R<sup>2</sup> и R<sup>3</sup> независимо выбран из H, D, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>алкила, адамантила и C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>циклоалкила, или R<sup>2</sup> и R<sup>3</sup> и присоединенный к ним атом углерода вместе образуют 3-8-членное карбоциклическое кольцо;

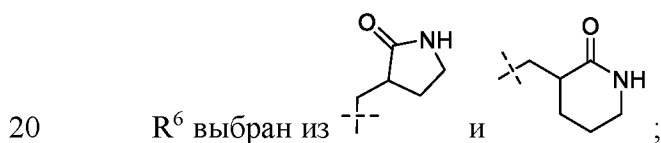
X выбран из O, S, S(=O)<sub>2</sub> и S=O;

Y отсутствует или выбран из O, S, S(=O)<sub>2</sub> и S=O;

R<sup>4</sup> выбран из H, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>алкила, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>циклоалкила, C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>арила, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>алкилзамещенного C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>арила, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>алкоксизамещенного C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>арила и галогенированного C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>арила;

R<sup>5</sup> выбран из H, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>алкила и C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>циклоалкила;

или R<sup>4</sup> и R<sup>5</sup> соединены друг с другом с образованием C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>алкилена, с соединением таким образом X и Y;



R<sup>7</sup> выбран из H и D;

R<sup>8</sup> выбран из H, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>алкила, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>алкокси, C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>циклоалкила, галогенированного C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>алкила, галогенированного C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>циклоалкила, -NR<sup>13</sup>R<sup>14</sup>, C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>арила, галогенированного C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>арила, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>алкилзамещенного C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>арила, галогенированного C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>алкилзамещенного C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>арила, 5-20-членного гетероарила и галогенированного 5-20-членного гетероарила;

R<sup>9</sup> выбран из C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>алкила, C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>циклоалкила, галогенированного C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>алкила, галогенированного C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>циклоалкила, -NR<sup>15</sup>R<sup>16</sup>, C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>арила, галогенированного C<sub>6</sub>-

$C_{20}$ арила,  $C_1$ - $C_{10}$ алкилзамещенного  $C_6$ - $C_{20}$ арила, галогенированного  $C_1$ - $C_{10}$ алкилзамещенного  $C_6$ - $C_{20}$ арила, 5-20-членного гетероарила и галогенированного 5-20-членного гетероарила;

каждый из  $R^{13}$  и  $R^{14}$  независимо выбран из H и  $C_1$ - $C_{10}$ алкила;

5 каждый из  $R^{15}$  и  $R^{16}$  независимо выбран из H и  $C_1$ - $C_{10}$ алкила.

2. Цианосоединение или его рацемат, энантиомер, диастереоизомер или фармацевтически приемлемая соль по п. 1, где

10 каждый из  $R^2$  и  $R^3$  независимо выбран из H, D,  $C_1$ - $C_6$ алкила, адамантила и  $C_3$ - $C_7$ циклоалкила, или  $R^2$  и  $R^3$  и присоединенный к ним атом углерода вместе образуют 3-8-членное карбоциклическое кольцо; или

каждый из  $R^2$  и  $R^3$  независимо выбран из H, изопропила, трет-бутила, циклопентила и адамантила, или  $R^2$  и  $R^3$  и присоединенный к ним атом углерода вместе образуют циклопропил и циклопентил; или

15 один из  $R^2$  и  $R^3$  выбран из H, а другой выбран из изопропила, трет-бутила, циклопентила и адамантила, или  $R^2$  и  $R^3$  и присоединенный к ним атом углерода вместе образуют циклопропил и циклопентил.

3. Цианосоединение или его рацемат, энантиомер, диастереоизомер или фармацевтически приемлемая соль по п. 1 или п. 2, где

$R^4$  выбран из H,  $C_1$ - $C_6$ алкила,  $C_3$ - $C_8$ циклоалкила,  $C_6$ - $C_{10}$ арила,  $C_1$ - $C_6$ алкилзамещенного  $C_6$ - $C_{10}$ арила,  $C_1$ - $C_6$ алкоксизамещенного  $C_6$ - $C_{10}$ арила и галогенированного  $C_6$ - $C_{10}$ арила;

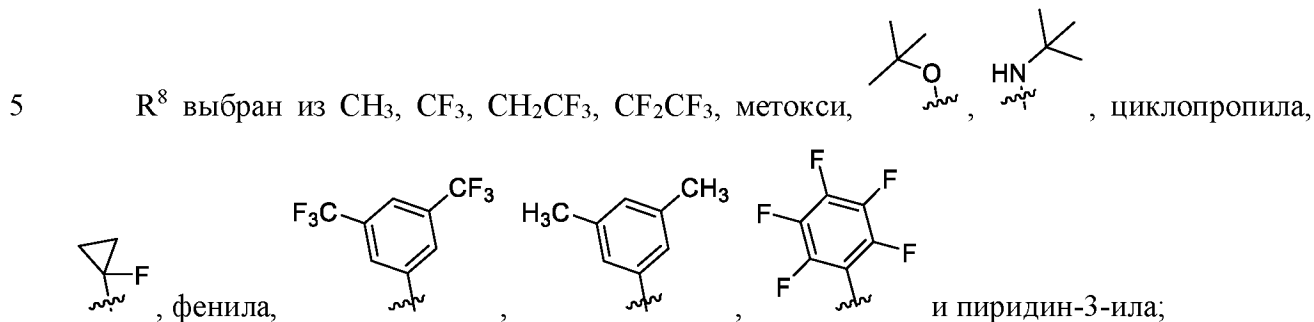
$R^5$  выбран из H,  $C_1$ - $C_6$ алкила и  $C_3$ - $C_7$ циклоалкила;

25 или  $R^4$  и  $R^5$  соединены друг с другом с образованием  $C_2$ - $C_6$ алкилена, с соединением таким образом X и Y; или  $R^4$  и  $R^5$  соединены друг с другом с образованием  $CH_2CH_2$  и  $CH_2CH_2CH_2$ , с соединением таким образом X и Y.

4. Цианосоединение или его рацемат, энантиомер, диастереоизомер или фармацевтически приемлемая соль по любому из пп. 1-3, где

30  $R^8$  выбран из H,  $C_1$ - $C_6$ алкила,  $C_1$ - $C_6$ алкокси,  $C_3$ - $C_7$ циклоалкила, галогенированного  $C_1$ - $C_6$ алкила, галогенированного  $C_3$ - $C_7$ циклоалкила,  $-NR^{13}R^{14}$ ,  $C_6$ - $C_{10}$ арила, галогенированного  $C_6$ - $C_{10}$ арила,  $C_1$ - $C_6$ алкилзамещенного  $C_6$ - $C_{10}$ арила, галогенированного  $C_1$ - $C_6$ алкилзамещенного  $C_6$ - $C_{10}$ арила, 5-10-членного гетероарила и галогенированного 5-10-членного гетероарила, каждый из  $R^{13}$  и  $R^{14}$  независимо выбран из H и  $C_1$ - $C_6$ алкила; или

$R^8$  выбран из  $C_1$ - $C_6$ алкила, галогенированного  $C_1$ - $C_6$ алкила,  $C_1$ - $C_6$ алкокси,  $-NR^{13}R^{14}$ ,  $C_3$ - $C_7$ циклоалкила, галогенированного  $C_3$ - $C_7$ циклоалкила, фенила, галогенфенила,  $C_1$ - $C_6$ алкилзамещенного фенила, галогенированного  $C_1$ - $C_6$ алкилзамещенного фенила и 5-6-членного гетероарила, каждый из  $R^{13}$  и  $R^{14}$  независимо выбран из H и  $C_1$ - $C_6$ алкила; или



$R^9$  выбран из  $C_1$ - $C_6$ алкила,  $C_3$ - $C_7$ циклоалкила, галогенированного  $C_1$ - $C_6$ алкила, галогенированного  $C_3$ - $C_7$ циклоалкила,  $-NR^{15}R^{16}$ ,  $C_6$ - $C_{10}$ арила, галогенированного  $C_6$ - $C_{10}$ арила,  $C_1$ - $C_6$ алкилзамещенного  $C_6$ - $C_{10}$ арила, галогенированного  $C_1$ - $C_6$ алкилзамещенного  $C_6$ - $C_{10}$ арила, 5-10-членного гетероарила и галогенированного 5-10-членного гетероарила, каждый из  $R^{15}$  и  $R^{16}$  независимо выбран из H и  $C_1$ - $C_6$ алкила; или

$R^9$  выбран из  $C_1$ - $C_6$ алкила,  $C_3$ - $C_7$ циклоалкила, фенила,  $C_1$ - $C_6$ алкилзамещенного фенила и галогенированного  $C_1$ - $C_6$ алкилзамещенного фенила или

$R^9$  выбран из  $CH_3$ , циклопропила, фенила, *p*-метилфенила и *p*-трифторметилфенила.

15 5. Цианосоединение или его рацемат, энантиомер, диастереоизомер или фармацевтически приемлемая соль по любому из пп. 1-4, где

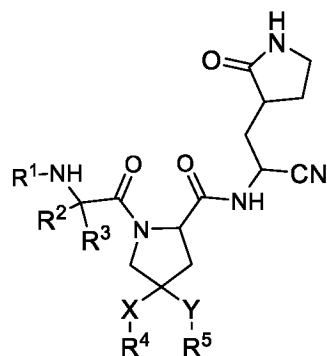
$X$  выбран из O, S,  $S(=O)_2$  и  $S=O$ ;  $Y$  отсутствует или выбран из O, S и  $S=O$ ;  $R^4$  выбран из  $C_1$ - $C_6$ алкила и  $C_6$ - $C_{10}$ арила,  $R^5$  выбран из H; или  $R^4$  и  $R^5$  соединены друг с другом с образованием  $C_2$ - $C_6$ алкилена, с соединением таким образом X и Y; или

каждый из X и Y независимо выбран из O, S и  $S=O$ , а  $R^4$  и  $R^5$  соединены друг с другом с образованием  $CH_2CH_2$  и  $CH_2CH_2CH_2$ , с соединением таким образом X и Y; или

каждый из X и Y независимо выбран из O и S, а  $R^4$  и  $R^5$  соединены друг с другом с образованием  $CH_2CH_2$ , с соединением таким образом X и Y.

25 6. Цианосоединение или его рацемат, энантиомер, диастереоизомер или фармацевтически приемлемая соль по любому из пп. 1-5, где

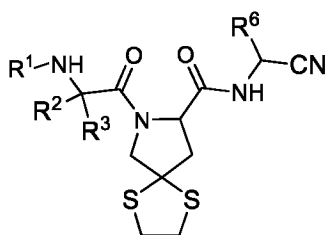
цианосоединение, представленное общей формулой I, выбрано из цианосоединения, представленного общей формулой IA:



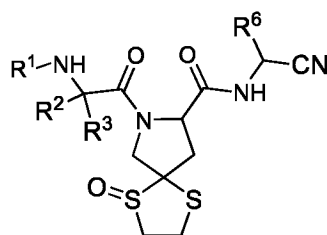
IA,

где  $R^1, R^2, R^3, R^4, R^5, X$  и  $Y$  определены, как описано в любом из пп. 1-5.

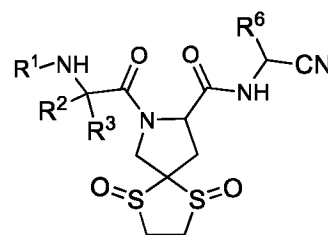
- 5 7. Цианосоединение или его рацемат, энантиомер, диастереоизомер или фармацевтически приемлемая соль по любому из пп. 1-5, где цианосоединение, представленное общей формулой I, выбрано из цианосоединения, представленного следующей общей формулой:



I-1

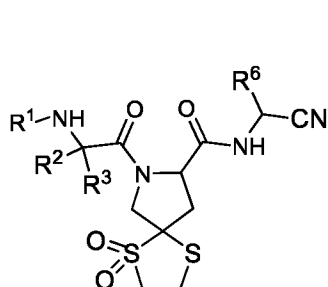


I-2

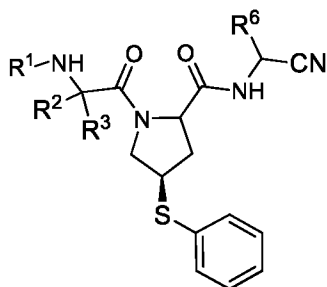


I-3

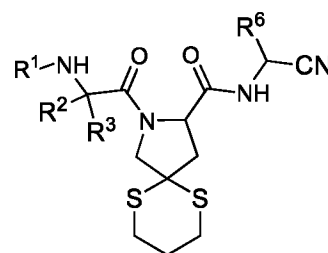
10



I-4

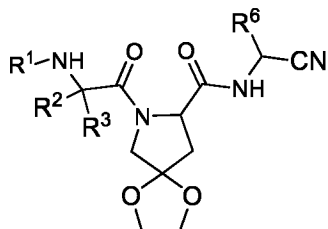


I-5



I-6

ИЛИ



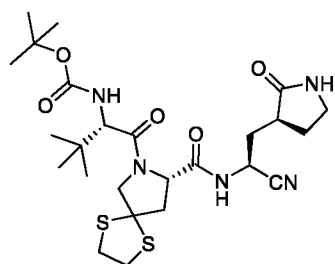
I-7,

15

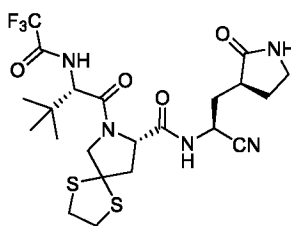
где  $R^1, R^2, R^3$  и  $R^6$  определены, как описано в любом из пп. 1-5.

8. Цианосоединение или его рацемат, энантиомер, диастереоизомер или фармацевтически приемлемая соль по п. 1, где

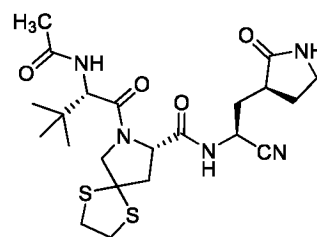
соединение, представленное общей формулой I, выбрано из следующих соединений:



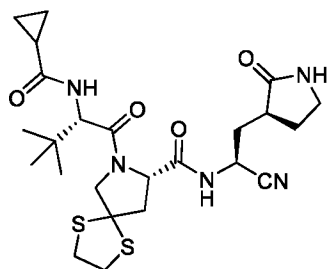
соединение 1,



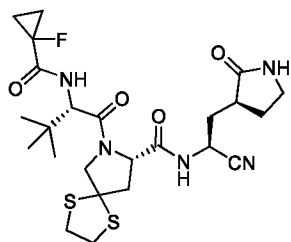
соединение 2,



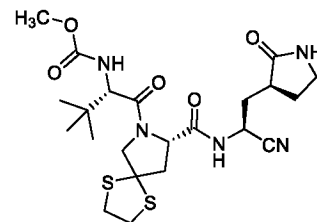
соединение 3,



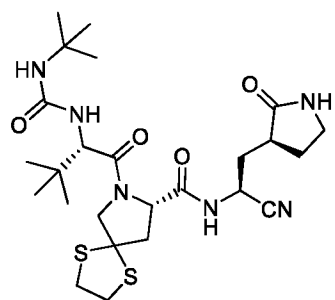
соединение 4,



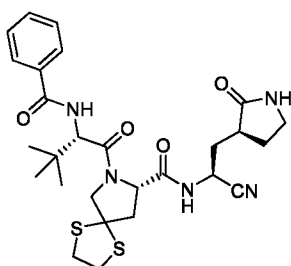
соединение 5,



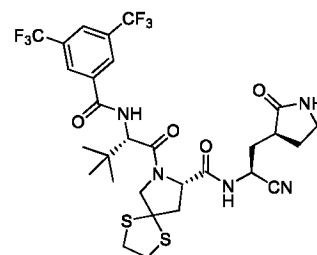
соединение 6,



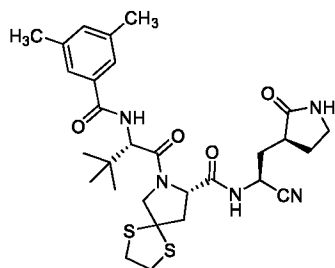
соединение 7,



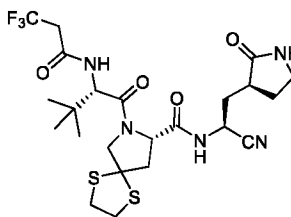
соединение 8,



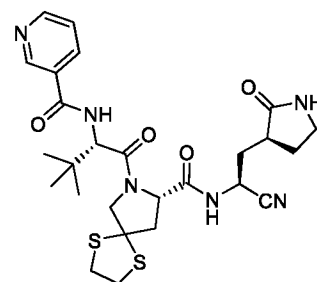
соединение 9,



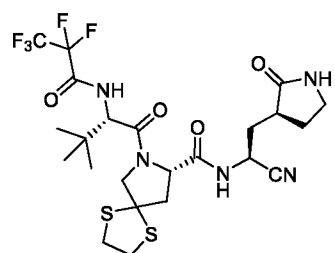
соединение 10,



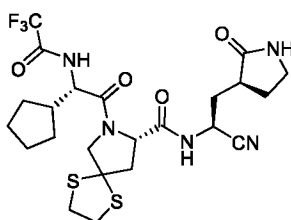
соединение 11,



соединение 12,



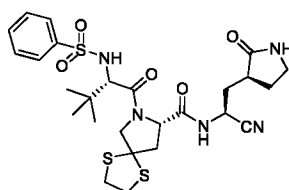
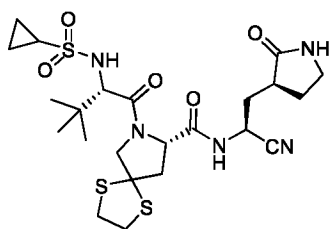
соединение 14,



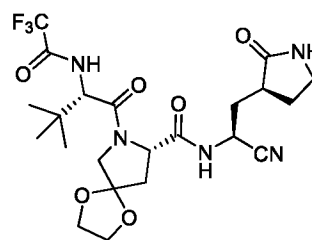
соединение 15,



соединение 13,

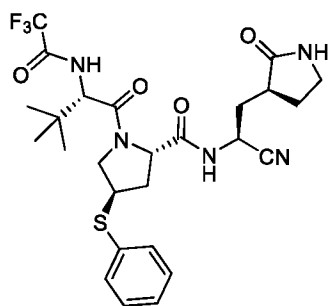


соединение 17,

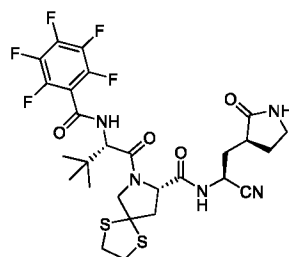


соединение 18,

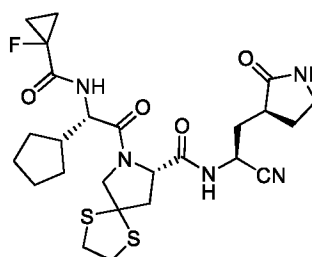
соединение 16,



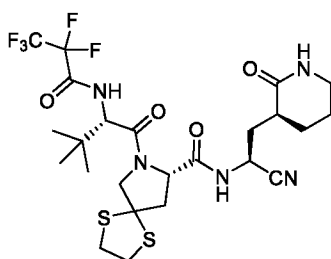
соединение 19,



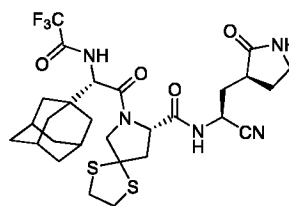
соединение 20,



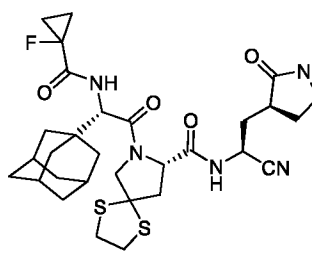
соединение 21,



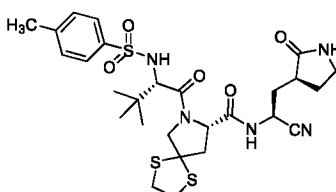
соединение 22,



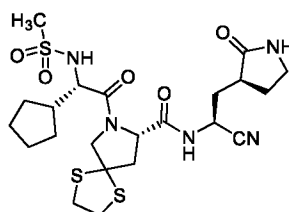
соединение 23,



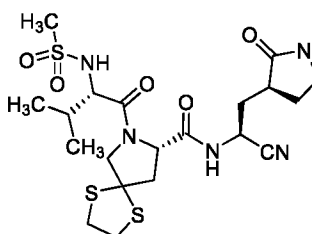
соединение 24,



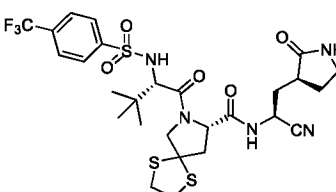
соединение 25,



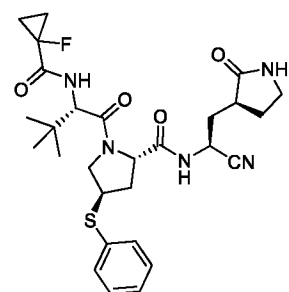
соединение 26,



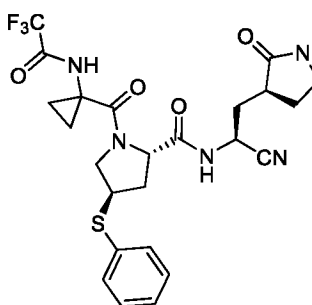
соединение 27,



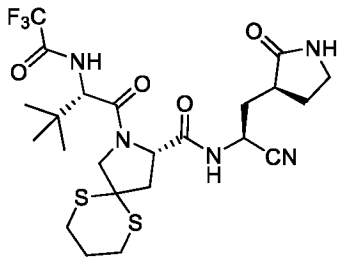
соединение 28,



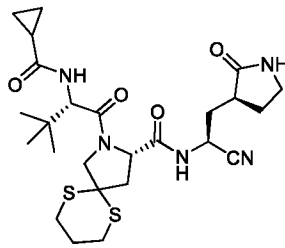
соединение 29,



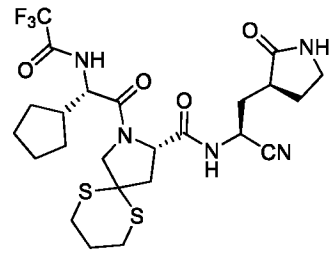
соединение 30,



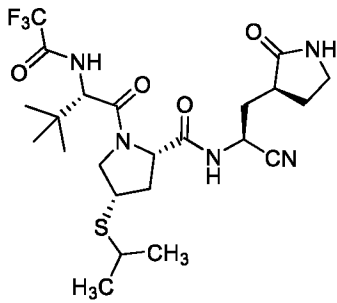
соединение 31,



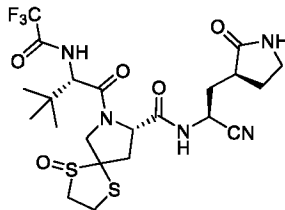
соединение 32,



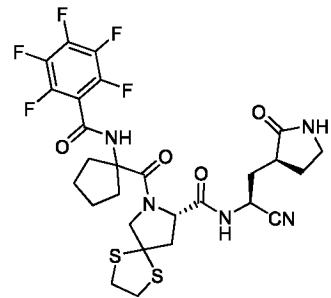
соединение 33,



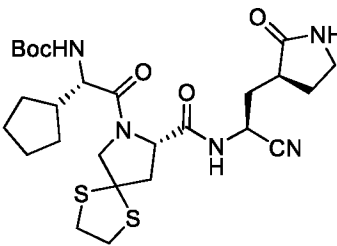
соединение 34,



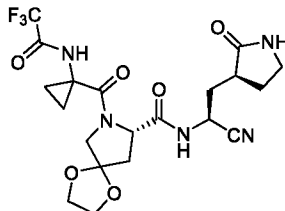
соединение 35,



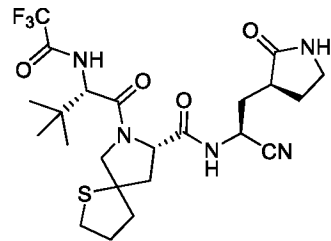
соединение 36,



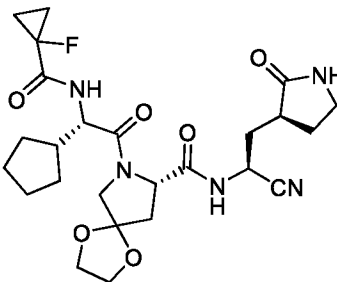
соединение 37,



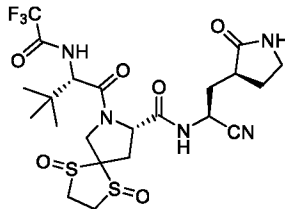
соединение 38,



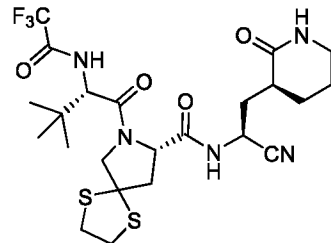
соединение 39,



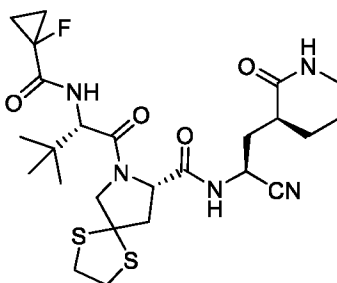
соединение 40,



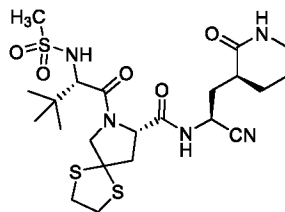
соединение 41,



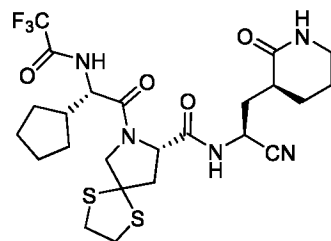
соединение 42,



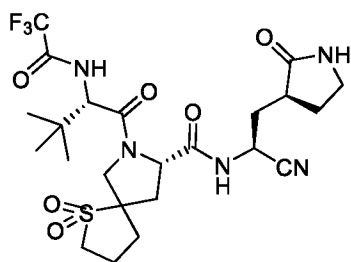
соединение 43,



соединение 44



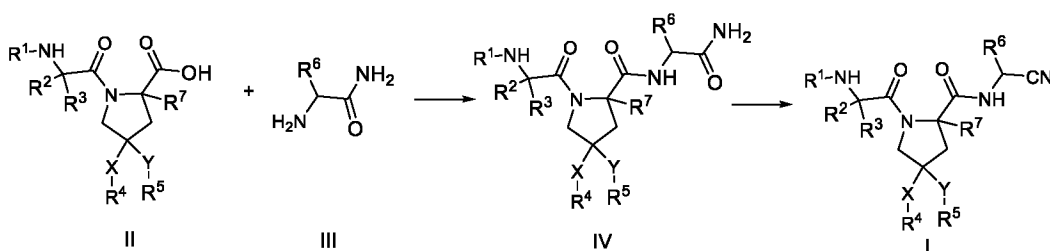
или  
соединение 45,



соединение 46

9. Способ получения соединения, представленного общей формулой I, отличающийся тем, что способ представляет собой один из следующих способов:

способ i:



5

ia) соединение, представленное формулой IV, получают посредством реакции конденсации соединения, представленного формулой II, и соединения, представленного формулой III;

предпочтительно стадия ia) заключается в следующем: соединение, представленное формулой II, вводят в реакцию с соединением, представленным формулой III, под действием конденсирующего средства и основания в растворителе при температуре от -20°C до 50°C в течение 0,1-12 ч, с получением таким образом соединения, представленного формулой IV,

необязательно растворитель представляет собой одно из или смесь более чем одного из следующего: тетрагидрофуран, дихлорметан, N,N-диметилформамид, N,N-диметилацетамид, этилацетат и 1,4-диоксан,

необязательно конденсирующее средство представляет собой одно из или смесь более чем одного из следующего: 2-(7-азабензотриазол)-N,N,N',N'-тетраметилурония гексафторфосфат, 1-этил-(3-диметиламинопропил)карбодиимида гидрохлорид, 1-гидроксibenзотриазол, 2-гидроксипиридин-N-оксид, 1-пропилфосфорный ангидрид, 1H-бензотриазол-1-илокситрипирролидинила гексафторфосфат, N,N'-карбонилдидиазол и O-бензотриазол-тетраметилурония гексафторфосфат;

необязательно основание представляет собой N,N-диизопропилэтиламин, триэтиламин и N-метилморфолин;

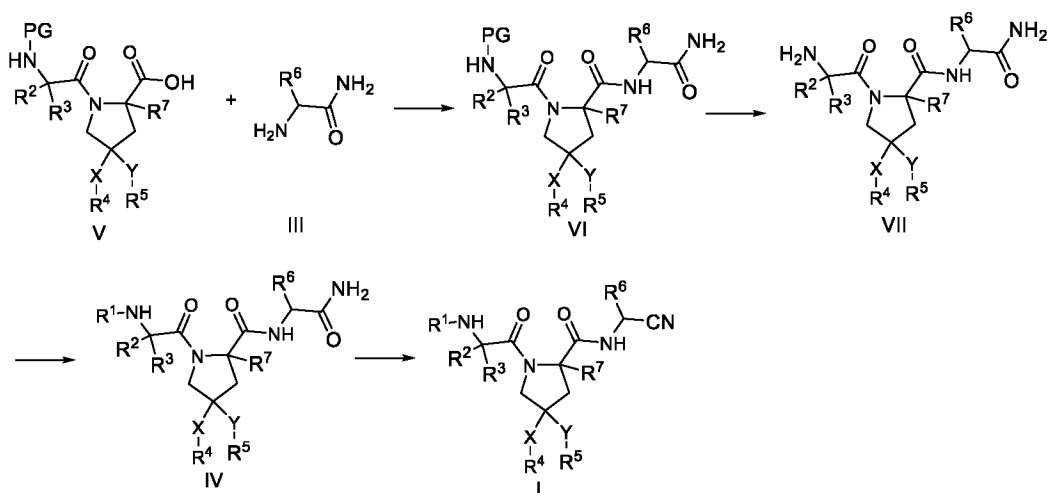
20

ib) соединение, представленное формулой IV, дегидратируют с получением соединения, представленного общей формулой I;

предпочтительно стадия ib) заключается в следующем: соединение, представленное формулой IV, вводят в реакцию с дегидратирующим средством в безводном растворителе при температуре от -20°C до 50°C в течение 1-24 ч с получением соединения, представленного общей формулой I;

необязательно безводный растворитель представляет собой одно из или смесь более чем одного из следующего: тетрагидрофуран, дихлорметан, толуол, 1,4-диоксан и пиридин;

необязательно дегидратирующее средство представляет собой трифторуксусный ангидрид или метил-N-(триэтиламмонийсульфонил)карбамат; или способ ii:



ii) соединение, представленное формулой VI, получают посредством реакции конденсации соединения, представленного формулой V, и соединения, представленного формулой III, где PG в соединении, представленном формулой V, представляет собой защитную группу для аминогруппы;

предпочтительно стадия ii) заключается в следующем: соединение, представленное формулой V, вводят в реакцию с соединением, представленным формулой III, под действием конденсирующего средства и основания в растворителе при температуре от -20°C до 50°C в течение 0,1-12 ч, с получением таким образом соединения, представленного формулой VI;

необязательно растворитель представляет собой одно из или смесь более чем одного из следующего: тетрагидрофуран, дихлорметан, N,N-диметилформамид, N,N-диметилацетамид, этилацетат и 1,4-диоксан,

необязательно конденсирующее средство представляет собой одно из или смесь более чем одного из следующего: 2-(7-азабензотриазол)-N,N,N',N'-тетраметилурия

гексафторфосфат, 1-этил-(3-диметиламинопропил)карбодиимида гидрохлорид, 1-гидроксibenзотриазол, 2-гидроксипиридин-N-оксид, 1-пропилфосфорный ангидрид, 1H-бензотриазол-1-илокситрипирролидинила гексафторфосфат, N,N'-карбонилдимидазол и O-бензотриазол-тетраметилурония гексафторфосфат;

5           необязательно основание представляет собой N,N-диизопропилэтиламин, триэтиламин и N-метилморфолин;

          необязательно защитная группа PG для аминогруппы представляет собой трет-бутоксикарбонил, бензил и п-метоксибензил;

10           iiб) с соединения, представленного формулой VI, удаляют защитную группу с получением соединения, представленного формулой VII;

          предпочтительно стадия iiб) заключается в следующем: при температуре от -20°C до 50°C соединение, представленное формулой VI, вводят в реакцию с органическим раствором трифторуксусной кислоты, или хлористого водорода, или Pd/C/H<sub>2</sub> с получением соединения, представленного формулой VII;

15           iiс) соединение, представленное формулой IV, получают посредством реакции аминоацилирования, сульфонилирования или конденсации соединения, представленного формулой VII;

          предпочтительно стадия iiс) заключается в следующем:

20           при температуре от -20°C до 50°C соединение, представленное формулой VII, подвергают реакции аминоацилирования хлорангидридом кислоты или ангидридом кислоты в условиях добавления основания с получением соединения, представленного формулой IV;

          при температуре от -20°C до 50°C соединение, представленное формулой VII, подвергают реакции сульфонилирования с сульфонилхлоридом или сульфоновым ангидридом в условиях добавления основания с получением соединения, представленного формулой IV;

30           при температуре от -20°C до 50°C соединение, представленное формулой VII, подвергают реакции конденсации с карбоксильным соединением в условиях присутствия конденсирующего средства и основания с получением соединения, представленного формулой IV;

          необязательно основание представляет собой N,N-диизопропилэтиламин, триэтиламин и N-метилморфолин;

          необязательно конденсирующее средство представляет собой одно из или смесь более чем одного из следующего: 2-(7-азабензотриазол)-N,N,N',N'-тетраметилурония

гексафторфосфат, 1-этил-(3-диметиламинопропил)карбодиимида гидрохлорид, 1-гидроксibenзотриазол, 2-гидроксипиридин-N-оксид, 1-пропилфосфорный ангидрид, 1H-бензотриазол-1-илокситрипирролидинила гексафторфосфат, N,N'-карбонилдимидазол и O-бензотриазол-тетраметилурония гексафторфосфат;

5        iid) соединение, представленное формулой IV, дегидратируют с получением соединения, представленного общей формулой I;

          предпочтительно стадия iid) заключается в следующем: соединение, представленное формулой IV, вводят в реакцию с дегидратирующим средством в безводном растворителе при температуре от -20°C до 50°C в течение 1-24 ч с получением соединения, 10        представленного общей формулой I;

          необязательно безводный растворитель представляет собой одно из или смесь более чем одного из следующего: тетрагидрофуран, дихлорметан, толуол, 1,4-диоксан и пиридин;

          необязательно дегидратирующее средство представляет собой трифторуксусный ангидрид или метил-N-(триэтиламмонийсульфонил)карбамат;

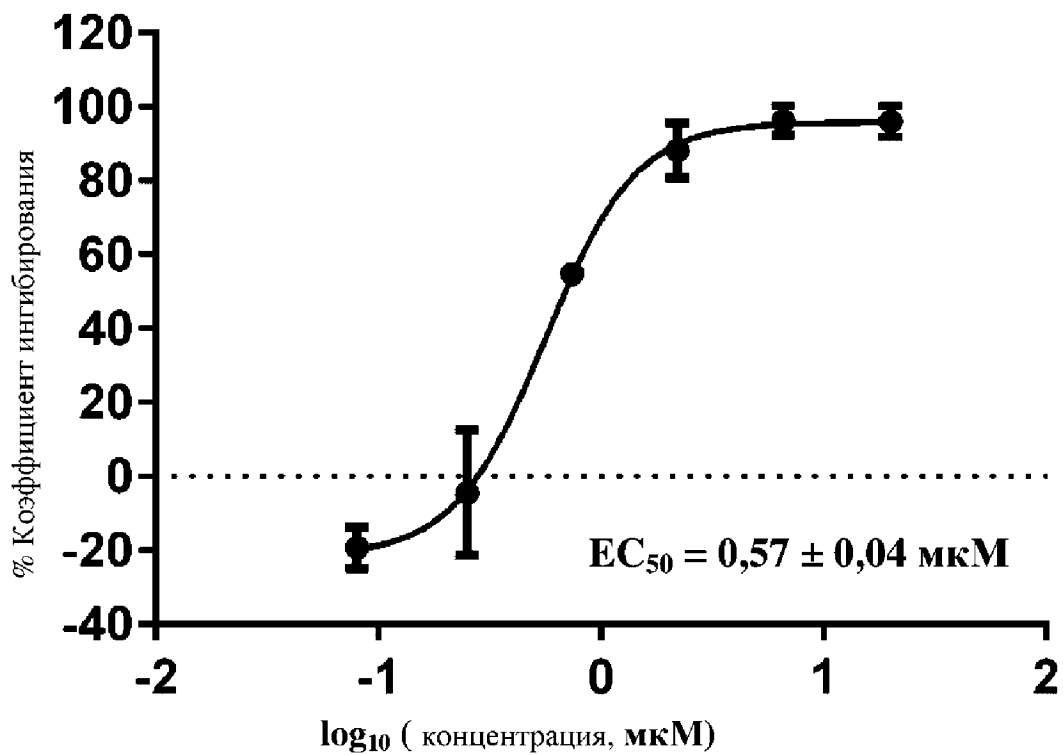
15        где R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup>, X и Y определены, как описано в любом из пп. 1-8.

10.        Фармацевтическая композиция, отличающаяся тем, что фармацевтическая композиция содержит цианосоединение или его рацемат, энантиомер, диастереоизомер или фармацевтически приемлемую соль по любому из пп. 1-8 и фармацевтически приемлемое 20        вспомогательное вещество; необязательно фармацевтическая композиция дополнительно содержит ритонавир или его фармацевтически приемлемую соль.

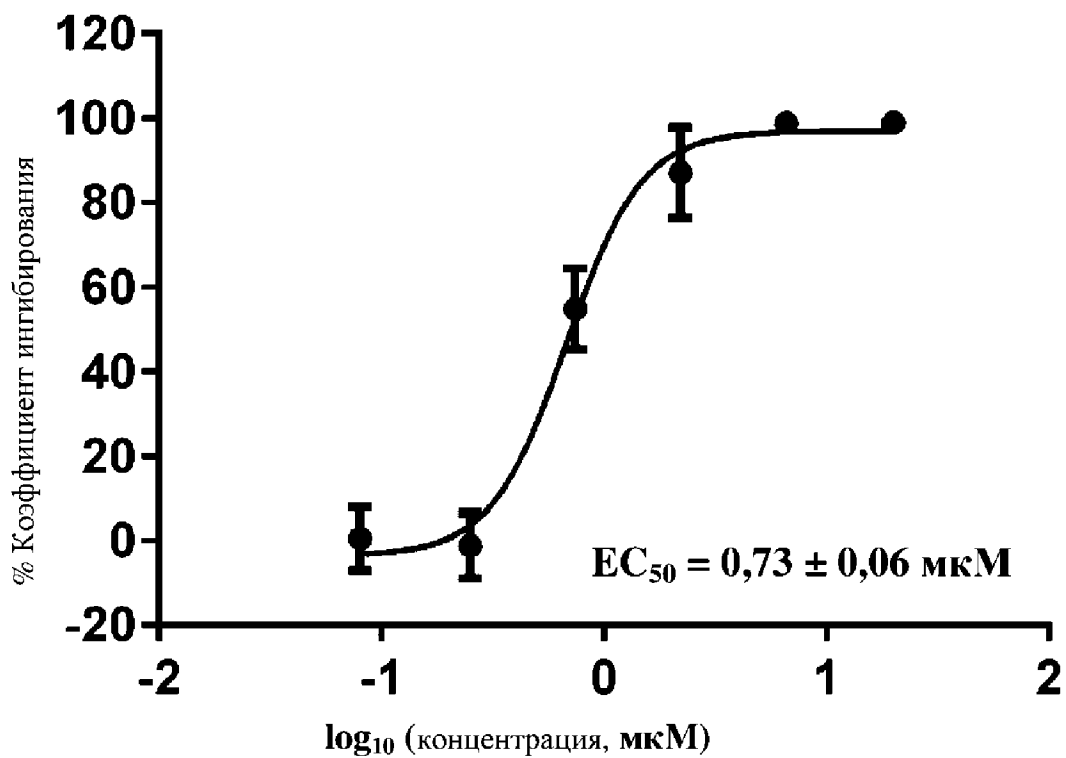
11.        Фармацевтическая комбинация, отличающаяся тем, что фармацевтическая композиция содержит цианосоединение или его рацемат, энантиомер, диастереоизомер или 25        фармацевтически приемлемую соль по любому из пп. 1-8 и ритонавир или его фармацевтически приемлемую соль.

12.        Применение цианосоединения или его рацемата, энантиомера, диастереоизомера или фармацевтически приемлемой соли по любому из пп. 1-8, 30        фармацевтической композиции по п. 10 или фармацевтической комбинации по п. 11 при получении лекарственного препарата, выбранного из лекарственного препарата для ингибирования активности протеазы 3CL коронавируса, лекарственного препарата для предупреждения и/или лечения коронавирусной инфекции, лекарственного препарата для ингибирования активности протеазы 3CL пикорнавируса и лекарственного препарата для

предупреждения и/или лечения пикорнавирусной инфекции; необязательно коронавирус выбран из SARS-CoV, MERS-CoV, H229E-CoV, HKU1-CoV, NL63-CoV, OC43-CoV и SARS-CoV-2.

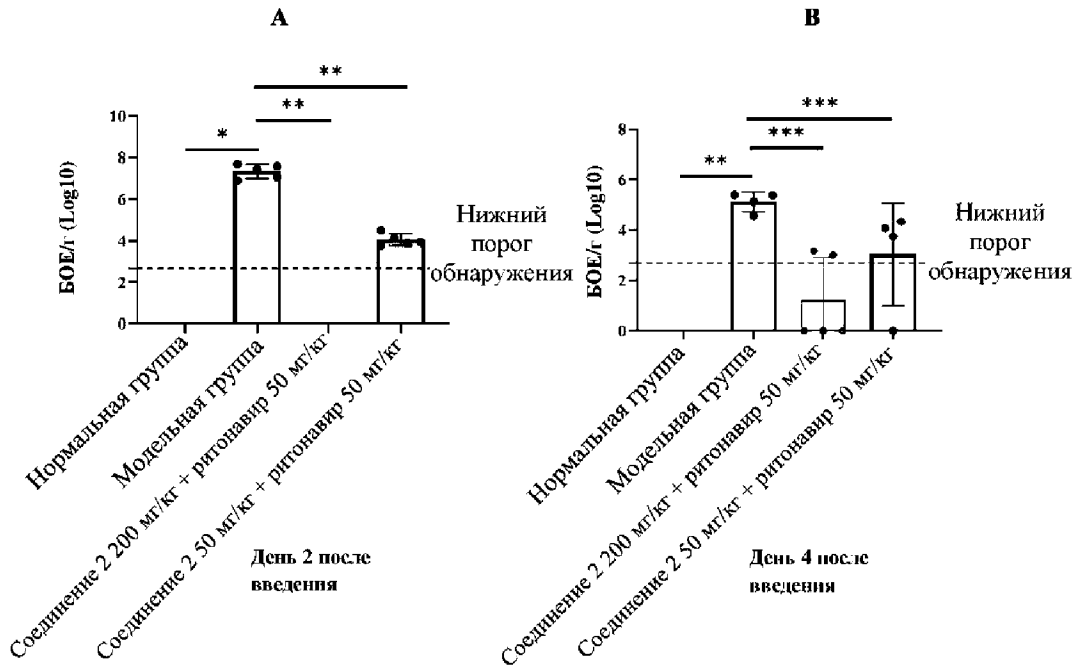


ФИГ. 1

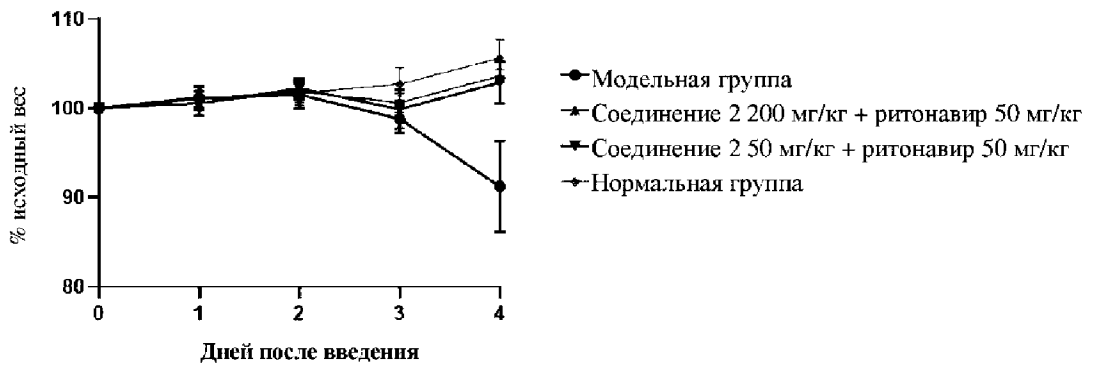


ФИГ. 2

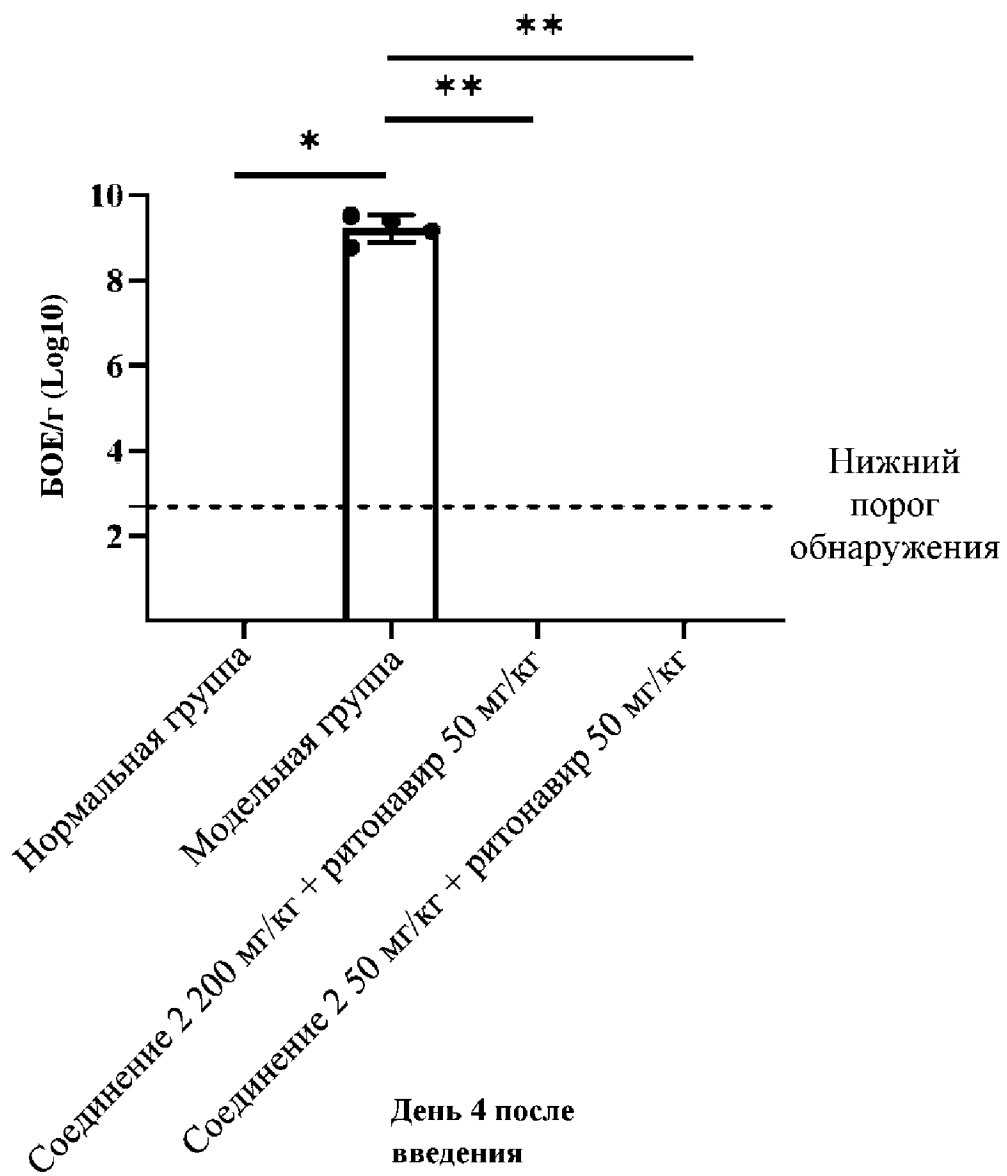




ФИГ. 3



ФИГ. 4



ФИГ. 5