

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202491792 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2024.11.11(51) Int. Cl. C07D 413/12 (2006.01)
C07D 267/10 (2006.01)(22) Дата подачи заявки
2023.02.21

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ АЗОТСОДЕРЖАЩЕГО ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКОГО СОЕДИНЕНИЯ

(31) 202210160847.0

(72) Изобретатель:

(32) 2022.02.22

Фань Цзян, Доу Ин, Чжу Фэнфэй, Ван
Чэнтао, Гань Мань (CN)

(33) CN

(86) PCT/CN2023/077408

(74) Представитель:

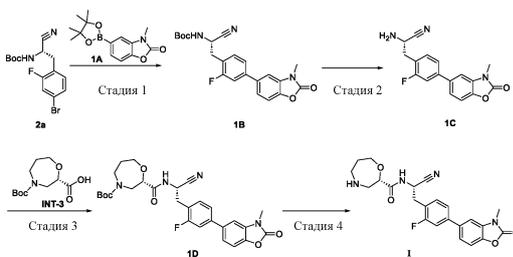
(87) WO 2023/160541 2023.08.31

Билык А.В., Поликарпов А.В.,
Соколова М.В., Путинцев А.И.,
Черкас Д.А., Игнатъев А.В., Дмитриев
А.В., Бельтюкова М.В. (RU)

(71) Заявитель:

ХАЙСКО ФАРМАСЬЮТИКАЛС
ПТЕ. ЛТД. (SG)

(57) Предложен способ получения азотсодержащего гетероциклического соединения, представленного формулой (I). Способ включает: проведение реакции сочетания соединения 1A и соединения 2a и последовательное проведение реакций снятия защиты, амидирования и снятия защиты, которые в общем представляют собой четыре стадии, с получением целевого соединения. Этот способ имеет короткий путь реакции, мягкие условия, простую реализацию, удобен при последующей обработке, имеет высокий выход и высокую чистоту и подходит для крупномасштабного промышленного производства.



A1

202491792

202491792

A1

PCT/CN2023/077408

C07D 413/12; C07D 267/10

Способ получения азотсодержащего гетероциклического соединения

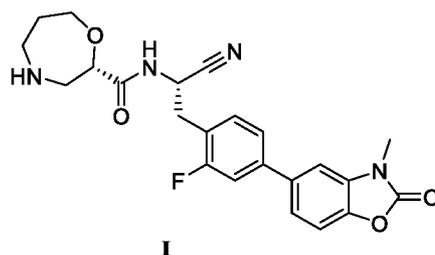
Область техники

Настоящее изобретение относится к способу получения азотсодержащего гетероциклического соединения.

Уровень техники

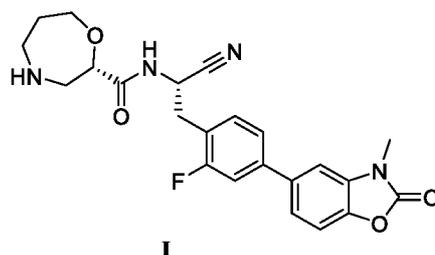
Дипептидилпептидаза 1 (DPP1), также известная как катепсин С, представляет собой цистеиниловую протеазу семейства лизосомального папаина, участвующую во внутриклеточной деградации белков. Во время созревания нейтрофилов DPP1 активирует сериновые протеазы нейтрофилов (NSP), включая эластазу нейтрофилов (NE), протеиназу 3 (Pr3) и катепсин G (CatG), путем расщепления N-концевого дипептида целевого белка. DPP1 участвует в различных воспалительных заболеваниях, включая гранулематоз Вегенера, ревматоидный артрит, воспаление легких и вирусную инфекцию. Исследования показали, что ингибирование DPP1 может иметь хороший терапевтический эффект при воспалительных заболеваниях легких, вызванных нейтрофилами, таких как бронхоэктатическая болезнь, хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) и острое повреждение легких. Следовательно, ингибирование чрезмерной активации NSP путем воздействия на DPP1 может иметь потенциальный терапевтический эффект при бронхоэктазах.

В заявке на патент PCT/CN2020/114500 получен низкомолекулярный ингибитор DPP1 формулы (I). Соединение демонстрирует относительно высокую ингибирующую DPP1 активность, превосходную биодоступность и фармакокинетические характеристики, а также обладает преимуществами низкой токсичности и высокой безопасности. Он предназначен для лечения заболеваний легких, таких как некистозные фиброзные бронхоэктазы, хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ), острое повреждение легких и муковисцидозные бронхоэктазы. Однако в способе получения, описанном в заявке, очистка промежуточных продуктов затруднена и требует многостадийной очистки на колонке, многие условия реакции неблагоприятны для крупномасштабного производства, а также имеются такие недостатки, как низкий выход и высокая стоимость. Поэтому необходимо совершенствовать способ получения для облегчения крупномасштабного промышленного производства.

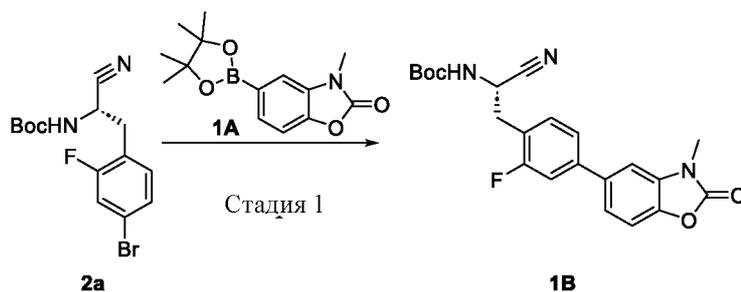


Сущность изобретения

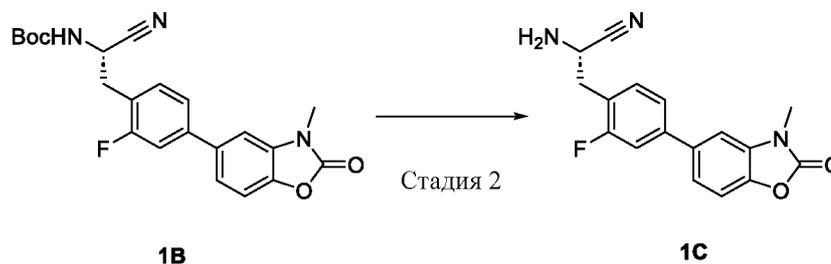
Настоящее изобретение обеспечивает способ получения соединения формулы (I),



включающий: стадию 1: проведение реакции сочетания соединения 2а и соединения 1А с получением промежуточного соединения 1В;



и стадию 2: осуществление удаления защитных групп с получением промежуточного соединения 1С или его соли;



Исходные соединения 2а и 1А могут быть синтезированы с использованием способов, описанных в существующих химических справочниках, литературе, патентах и т.д., или могут быть приобретены. Например, способ получения соединения 1А описан в заявке на патент WO 2015110826 А1 (стр. 50), а способ получения соединения 2а описан в WO 2016139355 А1 (стр. 52).

Реакцию сочетания на стадии 1 обычно можно проводить в щелочных условиях с использованием такого катализатора, как палладий или никель. Палладиевый или никелевый реагент включает, не ограничиваясь перечисленным, один или более из NiCl_2 , NiCl_2 •диглим (комплекс диметилового эфира диэтиленгликоля и хлорида никеля), $\text{Ni}(\text{COD})_2$, $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, PdCl_2 , $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$, $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$, $\text{Pd}(\text{PhCN})_2\text{Cl}_2$, PEPPSI-iPr, $\text{PdCl}_2[\text{P}(\text{Cy})_3]_2$ или комплекс [1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен]дихлорида палладия с дихлорметаном ($\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2\cdot\text{CH}_2\text{Cl}_2$); щелочные реагенты для создания щелочных условий включают, не ограничиваясь перечисленным, K_3PO_4 , K_2HPO_4 , K_2CO_3 , KHCO_3 , Cs_2CO_3 , Na_2CO_3 , NaHCO_3 , KF, ацетат натрия, ацетат калия, пиридин, триэтиламин или N,N-диизопропилэтиламин, или их водный раствор;

в некоторых конкретных воплощениях стадия 1 включает: растворение соединения 2a и соединения 1A в органическом растворителе, причем органический растворитель представляет собой органический растворитель, способный растворять реагенты, и включает, не ограничиваясь перечисленным, один или более из ацетонитрила, толуола, дихлорметана, этилацетата, ацетона, метанола, этанола, изопропанола, 2-метилтетрагидрофурана, тетрагидрофурана и 1,4-диоксана; затем добавление одного или более из K_3PO_4 , K_2HPO_4 , K_2CO_3 , KHCO_3 , Cs_2CO_3 , Na_2CO_3 , NaHCO_3 , KF, ацетата натрия, ацетата калия, пиридина, триэтиламина или N,N-диизопропилэтиламина или их водного раствора; после этого добавления добавление одного или более катализаторов, выбранных из NiCl_2 , NiCl_2 •диглима, $\text{Ni}(\text{COD})_2$, $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, PdCl_2 , $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$, $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$, $\text{Pd}(\text{PhCN})_2\text{Cl}_2$, PEPPSI-iPr, $\text{PdCl}_2[\text{P}(\text{Cy})_3]_2$ и комплекса [1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен]дихлорида палладия с дихлорметаном ($\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2\cdot\text{CH}_2\text{Cl}_2$), под защитой азота, нагревание смеси до $80^\circ\text{C}\pm 5^\circ\text{C}$ для завершения реакции; затем добавление очищенной воды или этанола к реакционной жидкости или непосредственное охлаждение смеси до 5°C - 55°C и проведение фильтрации и сушки с получением промежуточного соединения 1B; возможно после фильтрации добавление фильтровального осадка к спиртовому растворителю, перемешивание смеси в течение от 10 минут до 2 часов, а затем выполнение фильтрации и сушки с получением промежуточного продукта 1B. Если не указано иное, спиртовой растворитель включает, не ограничиваясь перечисленным, метанол, этанол, пропанол, изопропанол, н-бутанол и т.д. В реакционных условиях реакция на этой стадии имеет высокую скорость, высокую конверсию, простую последующую обработку и высокую чистоту продукта.

В некоторых конкретных воплощениях на стадии 1 реакционную систему подвергают замене азота перед добавлением катализатора, а после добавления выполняют

еще одну замену азота с целью существенного удаления кислорода из реакционной системы и чтобы избежать дезактивации катализатора.

В некоторых конкретных воплощениях диапазон соотношения подачи реакции на стадии 1 составляет: 2а:1А:палладиевый реагент=1:1,0-3,0:0,001-0,2, предпочтительно 2а:1А:палладиевый реагент=1:0,95-1,20:0,001-0,03, и карбонат калия добавляют в следующем диапазоне количества: 2а:K₂CO₃=1,0:1,5-8,0, предпочтительно 2а:K₂CO₃=1,0:2,0-3,0.

В некоторых конкретных воплощениях стадия 2 включает: добавление промежуточного соединения 1В и кислоты к органическому растворителю, проведение полной реакции смеси при регулировании температуры на уровне 20°C-55°C; затем ее фильтрование с получением промежуточного продукта 1С или его соли; возможно добавление фильтровального осадка к органическому растворителю, нагревание смеси до 80°C±5°C и перемешивание в течение 1-5 часов, охлаждение до 20°C±5°C, перемешивание и проведение фильтрации и сушки с получением промежуточного соединения 1С или его соли, где кислоту выбирают из одной или более из серной кислоты, фосфорной кислоты, муравьиной кислоты, трифторуксусной кислоты, бензолсульфоновой кислоты, метансульфоновой кислоты и моногидрата п-толуолсульфоновой кислоты, а органический растворитель выбирают из одного или более из метанола, этанола, изопропанола, ацетонитрила, изопропилацетата, этилацетата, толуола, ацетона, метилизобутилкетона, тетрагидрофурана, 2-метилтетрагидрофурана, метил-трет-бутилового эфира и ацетонитрила; и

реакцию снятия Вос-защиты обычно проводят при регулируемой температуре после растворения промежуточного соединения и кислоты в органическом растворителе, где кислота включает, не ограничиваясь перечисленным, серную кислоту, фосфорную кислоту, муравьиную кислоту, трифторуксусную кислоту, бензолсульфоновую кислоту, метансульфоновую кислоту, моногидрат п-толуолсульфоновой кислоты и т.д., органический растворитель включает, не ограничиваясь перечисленным, метанол, этанол, изопропанол, ацетонитрил, изопропилацетат, этилацетат, толуол, ацетон, метилизобутилкетон, тетрагидрофуран, 2-метилтетрагидрофуран, метил-трет-бутиловый эфир, ацетонитрил и т.д., а температура составляет примерно 0°C-80°C.

В некоторых конкретных воплощениях настоящего изобретения стадия 2 включает добавление промежуточного соединения 1В и моногидрата п-толуолсульфоновой кислоты к ацетонитрилу и проведение полной реакции смеси при регулировании температуры на уровне 25°C±5°C; затем фильтрование смеси, добавление фильтровального осадка в

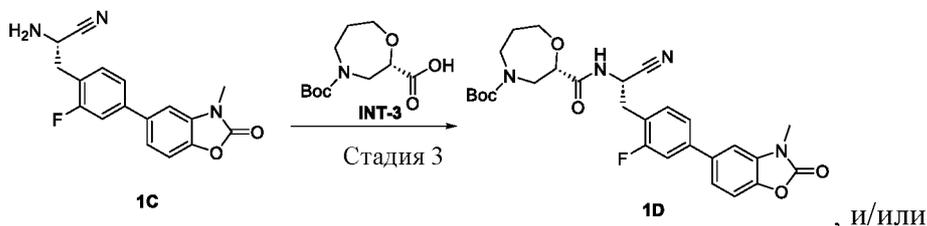
ацетонитрил, нагревание смеси до $80^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ и перемешивание в течение 1-5 часов, охлаждение до $20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$, перемешивание и выполнение фильтрации и сушки с получением промежуточного соединения 1С или его соли.

Реакцию на стадии 2 настоящего изобретения предпочтительно проводят в ацетонитриле, используя моногидрат п-толуолсульфоновой кислоты в качестве кислоты. Преимущества этого заключаются в том, что реакция имеет высокую скорость, продукт напрямую осаждают в конце реакции, и он может быть получен фильтрованием, а реакция проста в проведении. Последующая обработка включает дополнительное перемешивание продукта в ацетонитриле при высокой температуре, что дает преимущества превосходного удаления примесей после суспендирования при нагревании и негигроскопичного продукта.

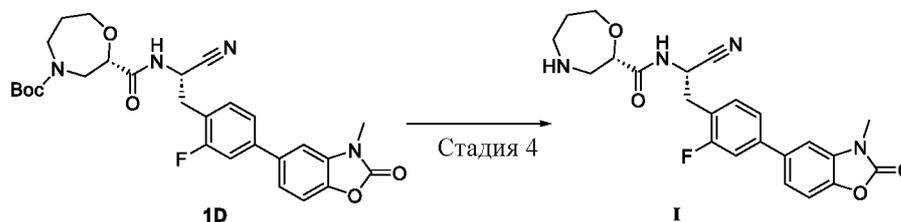
В некоторых конкретных воплощениях молярное отношение подачи реакции на стадии 2 составляет: 1В:кислота=1:1,0-5,0; и в некоторых воплощениях отношение предпочтительно составляет 1В:кислота=1:1,5-3,0.

В некоторых конкретных воплощениях способ получения соединения формулы (I) по настоящему изобретению дополнительно включает

стадию 3: проведение реакции амидирования промежуточного соединения 1С или его соли и соединения INT-3 или его соли с получением промежуточного соединения 1D;



стадию 4: проведение снятия защиты промежуточного соединения 1D в кислотных условиях с получением соединения (I) или его соли;



Реакция амидирования на стадии 3 обычно представляет собой реакцию дегидратации, проводимую в реагенте конденсации в щелочных условиях.

В некоторых конкретных воплощениях стадия 3 включает: добавление промежуточного соединения 1С или его соли и соединения INT-3 или его соли к органическому растворителю, добавление органического амина, затем добавление реагента конденсации кислоты и амина в условиях защиты азота при регулировании температуры на

уровне 5°C - 20°C , а затем проведение полной реакции смеси при поддержании температуры на уровне $25^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$; затем промывку реакционной жидкости раствором хлорида натрия, проведение разделения жидкостей, добавление к органической фазе медицинского угля или активированного угля, перемешивание и фильтрование смеси, сушку органической фазы путем добавления безводного сульфата натрия и выполнение фильтрации и концентрирования с получением промежуточного соединения 1D,

где органический растворитель выбирают из одного или более из тетрагидрофурана, 2-метилтетрагидрофурана, диоксана, N,N-диметилформамида, N,N-диметилацетамида, N-метилпирролидона, диметилсульфоксида, дихлорметана, ацетона, метилизобутилкетона, изопропилацетата и этилацетата;

органический амин выбирают из одного или более из триэтиламина, 2,6-диметилпиридина, пиридина, DBU и N,N-диизопропилэтиламина;

и реагент конденсации кислоты и амина выбирают из одного или более из HATU, COMU, EDCI, BOP и пропилфосфонового ангидрида.

В некоторых конкретных воплощениях диапазон отношения материалов на стадии 3 составляет: 1C:INT-3=1:0,9-3,0, предпочтительно 1C:INT-3=1:1,0-1,5, и реагент конденсации обычно добавляют в следующем диапазоне количества: 1C: реагент конденсации = 1:1,0-5,0, предпочтительно 1C: реагент конденсации = 1:1,2-2,0.

В некоторых конкретных воплощениях стадия 3 включает: последовательную промывку реакционной жидкости щелочным водным раствором и кислым водным раствором перед промывкой ее раствором хлорида натрия, при этом щелочной водный раствор выбирают из одного или более из раствора фосфата калия, раствора карбоната калия, раствора бикарбоната калия, раствора карбоната натрия и раствора бикарбоната натрия. Операция промывки предназначена для удаления непрореагировавшего 1C или INT-3 путем кислотной промывки и щелочной промывки.

Реакцию снятия защиты на стадии 4 обычно проводят в органическом растворителе в кислотных условиях.

В некоторых конкретных воплощениях стадия 4 включает: добавление промежуточного соединения 1D и кислотного реагента к органическому растворителю, затем проведение полной реакции смеси при поддержании температуры на уровне $25^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$, затем добавление по каплям основания при одновременном регулировании температуры реакционной жидкости ниже 25°C , охлаждение полученной смеси до $10^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ для кристаллизации и проведение фильтрации и сушки с получением соединения (I); возможно после фильтрации промывку фильтровального осадка очищенной водой,

затем добавление фильтровального осадка в этанол, перемешивание смеси при $20^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ и выполнение фильтрации и сушки с получением соединения (I) или его соли.

Преимущество использования вышеуказанных условий в реакции стадии 4 заключается в том, что последующая обработка является простой: после завершения снятия защиты продукт напрямую осаждают путем добавления основания и получают фильтрованием.

В некоторых конкретных воплощениях кислотный реагент на стадии 4 выбирают из одной или более из соляной кислоты, серной кислоты, фосфорной кислоты, муравьиной кислоты, трифторуксусной кислоты, бензолсульфоновой кислоты, метансульфоновой кислоты и моногидрата п-толуолсульфоновой кислоты, органический растворитель выбирают из одного или более из ацетонитрила, метанола, этанола, изопропанола, изопрпилацетата, этилацетата, ацетона, метилизобутилкетона, тетрагидрофурана, 2-метилтетрагидрофурана и метил-трет-бутилового эфира, а основание выбирают из одного или более из разбавленного водного раствора аммиака, LiOH, NaOH, KOH, K_3PO_4 , K_2CO_3 , KHCO_3 , Cs_2CO_3 , Na_2CO_3 и NaHCO_3 .

В некоторых конкретных воплощениях диапазон отношения материалов на стадии 4 составляет: 1D:кислота=1,0:1,0-6,0, предпочтительно 1D:кислота=1,0:2,0-4,0, и основание добавляют по каплям в следующем количестве: 1D:основание=1,0:2,0-10,0, предпочтительно 1D:основание=1,0:3,0-6,0.

В некоторых конкретных воплощениях стадия 4 дополнительно включает операцию очистки: проведение перекристаллизации полученного соединения (I), где реагент для перекристаллизации, который можно использовать, включает, не ограничиваясь перечисленным, ацетонитрил, метанол, этанол, изопропанол, изопрпилацетат, этилацетат, ацетон, метилизобутилкетон, тетрагидрофуран, 2-метилтетрагидрофуран, н-гептан, метил-трет-бутиловый эфир, диметилсульфоксид, N-метилпирролидон и смешанный растворитель на их основе.

В некоторых конкретных воплощениях операция очистки на стадии 4 включает: добавление полученного соединения (I) к смешанному раствору безводного этанола и воды, ацетонитрила и воды, ацетонитрила и метанола, ацетонитрила и изопропанола, ацетонитрила и трет-бутанола, ацетонитрила и н-бутанола или ацетонитрила и безводного этанола, нагревание смеси до $75^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$, перемешивание до растворения и осветления, возможно проведение горячей фильтрации, охлаждение фильтрата при перемешивании для кристаллизации и проведение фильтрации и сушки с получением очищенного соединения (I).

В некоторых конкретных воплощениях отношение материала к жидкости, неочищенного продукта и растворителя, (по объему) на стадии очистки находится в диапазоне 1,0:10,0-40,0, предпочтительно 1,0:12,0-20,0.

В некоторых конкретных воплощениях охлаждение фильтрата при перемешивании для кристаллизации на стадии 4 осуществляют в две ступени: сначала охлаждение фильтрата до $35^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ и проведение кристаллизации при поддержании постоянной температуры в течение от 20 минут до 1,5 часов, а затем охлаждение фильтрата до $5^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ и проведение кристаллизации при поддержании постоянной температуры в течение 1-3 часов. Преимущества ступенчатой кристаллизации заключаются в превосходном удалении примесей и высоком выходе.

Фразы «проведение полной реакции» и «полная реакция» в настоящем изобретении относятся к состоянию реакции, в котором содержание основного исходного материала составляет $\leq 1,0\%$ при отборе проб для анализа ВЭЖХ.

Соль по настоящему изобретению относится к соли, образованной кислотным соединением и органическим основанием или неорганическим основанием, или соли, образованной основным соединением и органической кислотой или неорганической кислотой, например, соль триэтаноламина, соль диэтаноламина, соль моноэтаноламина, карбонат, бикарбонат, гидробромид, гидрохлорид, сульфат, малат, фумарат, тартрат, оксалат, цитрат, бензолсульфонат, п-толуолсульфонат и т. д.

Получение солей хорошо известно в данной области техники. Например, соединение сначала подвергают взаимодействию с кислотой или основанием в растворителе, после чего следует разделение осаждением, фильтрованием и т.д. с получением соответствующей соли. Аналогичным образом, в данной области техники также хорошо известно использование соли в качестве заместителя свободной кислоты или свободного основания в химических реакциях. Когда в настоящем изобретении описывают соединение, которое подвергается определенному типу реакции с получением другого вещества, это включает обстоятельства, при которых его солевую форму используют для участия в реакции и продукт получают в форме соли. Если продукт представляет собой соль, соль можно растворить в растворителе и подвергнуть реакции нейтрализации путем добавления соответствующей кислоты или основания для высвобождения соединения, а затем свободное соединение можно получить с помощью обычных процедур последующей обработки.

В способе получения по настоящему изобретению весь технологический маршрут очень прост в эксплуатации, и каждая промежуточная стадия синтеза имеет высокий выход,

что значительно повышает общий выход и, таким образом, снижает производственные расходы. Промежуточные продукты всего процесса синтеза могут быть кристаллизованы и очищены, имеют высокую чистоту и выход и подходят для крупномасштабного промышленного производства.

Если не указано иное, операции настоящего изобретения осуществляют в соответствии с обычными операциями в данной области техники. Ссылки и монографии в данной области техники подробно описывают синтез реагентов, которые можно использовать для получения соединений, описанных в этом документе, или предоставляют статьи, описывающие способ получения, для справки. Список литературы и монографии включают: "Synthetic Organic Chemistry", John Wiley & Sons, Inc., New York; S. R. Sandler et al., "Organic Functional Group Preparations," 2nd Ed., Academic Press, New York, 1983; H. O. House, "Modern Synthetic Reactions", 2nd Ed., W. A. Benjamin, Inc. Menlo Park, Calif. 1972; T. L. Gilchrist, "Heterocyclic Chemistry", 2nd Ed., John Wiley & Sons, New York, 1992; J. March, "Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms and Structure", 4th Ed., Wiley-Interscience, New York, 1992; Fuhrhop, J. and Penzlin G. "Organic Synthesis: Concepts, Methods, Starting Materials", Second, Revised and Enlarged Edition (1994) John Wiley & Sons ISBN: 3-527-29074-5; Hoffman, R. V. "Organic Chemistry, An Intermediate Text" (1996) Oxford University Press, ISBN 0-19-509618-5; Larock, R. C. "Comprehensive Organic Transformations: A Guide to Functional Group Preparations" 2nd Edition (1999) Wiley-VCH, ISBN: 0-471-19031-4; March, J. "Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure" 4th Edition (1992) John Wiley & Sons, ISBN: 0-471-60180-2; Otera, J. (editor) "Modern Carbonyl Chemistry" (2000) Wiley-VCH, ISBN: 3-527-29871-1; Patai, S. "Patai's 1992 Guide to the Chemistry of Functional Groups" (1992) Interscience ISBN: 0-471-93022-9; Solomons, T. W. G. "Organic Chemistry" 7th Edition (2000) John Wiley & Sons, ISBN: 0-471-19095-0; Stowell, J.C., "Intermediate Organic Chemistry" 2nd Edition (1993) Wiley-Interscience, ISBN: 0-471-57456-2; "Industrial Organic Chemicals: Starting Materials and Intermediates: An Ullmann's Encyclopedia" (1999) John Wiley & Sons, ISBN: 3-527-29645-X, в 8 томах; "Organic Reactions" (1942-2000) John Wiley & Sons, в более 55 томов и "Chemistry of Functional Groups" John Wiley & Sons в 73 томах.

Подробное описание изобретения

Содержание настоящего изобретения подробно описано с помощью приведенных ниже примеров. Если в примерах не указано конкретное условие, в экспериментальном методе используют обычное условие. Перечисленные примеры предназначены для лучшей

иллюстрации содержания настоящего изобретения, но не должны рассматриваться как ограничивающие содержание настоящего изобретения. Согласно вышеуказанному содержанию изобретения специалисты в данной области техники могут вносить незначительные модификации и корректировки в воплощения, которые все же попадают в объем защиты настоящего изобретения.

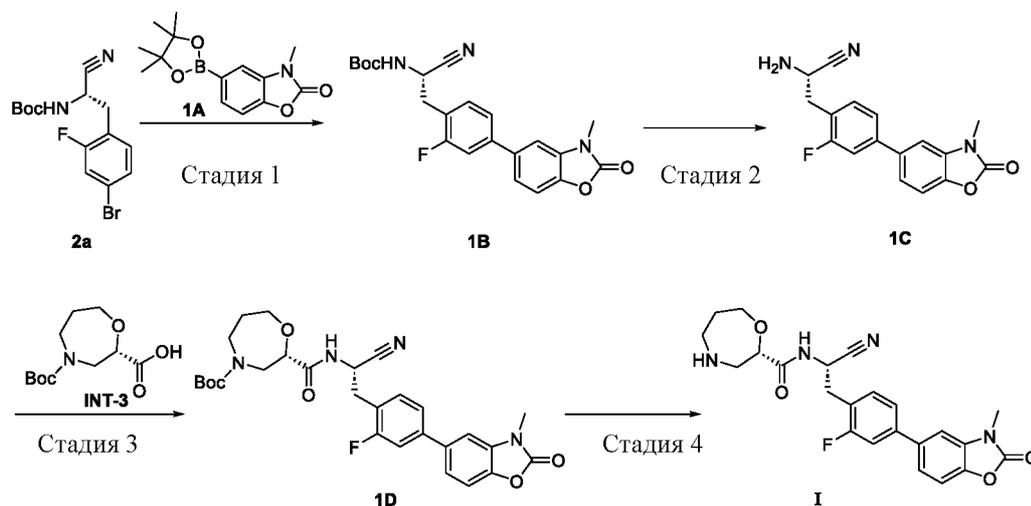
Метод определения

Структуру соединения определяют методом ядерного магнитного резонанса (ЯМР) или (и) масс-спектрометрии (МС). Сдвиг (δ) ЯМР приведен в единицах 10^{-6} (м.д. (миллионные доли)). ЯМР определяют на приборе ЯМР (Bruker Avance III 400 и Bruker Avance 300), растворителем для определения является дейтерированный диметилсульфоксид (DMSO- d_6), дейтерированный хлороформ ($CDCl_3$), дейтерированный метанол (CD_3OD), а внутренним стандартом является тетраметилсилан (TMS);

МС определяют с помощью Agilent 6120B (ESI) и Agilent 6120B (APCI), и

ВЭЖХ (высокоэффективная жидкостная хроматография) определяют с помощью жидкостного хроматографа высокого давления Agilent 1260DAD (Zorbax SB-C18 $100 \times 4,6$ мм, 3,5 мкм).

Получение соединений

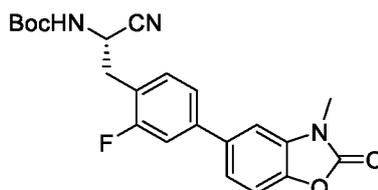


В настоящем изобретении целевое соединение получают в четыре стадии: реакция сочетания между соединением 1A и соединением 2a с последующими реакциями снятия защиты, амидирования и снятия защиты. Этот способ имеет короткий маршрут, мягкие условия, простоту реализации, удобную последующую обработку, высокий выход и чистоту и подходит для производства в промышленных масштабах. Целевое соединение I

обладает хорошей активностью, высокой биодоступностью, низкой токсичностью и побочными эффектами, а также обладает потенциалом лекарственного действия.

Пример 1

Трет-бутил(S)-(1-циано-2-(2-фтор-4-(3-метил-2-оксо-2,3-дигидробензо[d]оксазол-5-ил)фенил)этил)карбамат (1B)



Способ I

В реакционный котел емкостью 50 л добавляли при перемешивании 1,4-диоксан (10,005 кг), соединение 1A (1,600 кг, со ссылкой на способ в заявке на патент WO 2015110826 A1) и соединение 2a (2,000 кг, со ссылкой на способ в заявке на патент WO 2016139355 A1), а затем водный раствор карбоната калия (6,605 кг, который получали растворением карбоната калия (1,600 кг) в очищенной воде (5,005 кг)). После добавления смесь трижды подвергали замене азота. Добавляли комплекс [1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен]дихлорида палладия с дихлорметаном (100,0 г) и смесь подвергали однократной замене азота. Под защитой азота реакционную жидкость нагревали до $80^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ и проводили реакцию в течение примерно 2 часов. Затем отбирали пробу и анализировали ее с помощью ВЭЖХ, и когда целевое значение текущего технологического контроля, т.е. содержание соединения 2a, составляло $\leq 1,0\%$, реакцию прекращали.

К реакционной жидкости добавляли очищенную воду (5,000 кг) и смесь охлаждали до $10^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$. Добавляли очищенную воду (10,005 кг), полученную смесь перемешивали и кристаллизовали в течение примерно 1 часа при $10^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ и фильтровали. Фильтровальный осадок дважды промывали очищенной водой (2,500 кг x 2) и собирали. Безводный этанол (12,605 кг) и фильтровальный осадок добавляли в реакционный котел емкостью 50 л, смесь перемешивали при $20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ в течение примерно 0,5 часов, фильтровали и фильтровальный осадок дважды промывали безводным этанолом (1,000 кг x 2) и собирали.

Сушка: фильтровальный осадок сушили при $55^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ в вакууме $\leq -0,07$ МПа в течение примерно 16 часов и собирали с получением промежуточного соединения 1В (2,143 кг, выход: 89,4%, ВЭЖХ: 95,91%).

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 7,90 (s, 1H), 7,72–7,30 (m, 6H), 4,72 (s, 1H), 3,41 (d, 3H), 3,09–3,21 (m, 2H), 1,37 (s, 9H).

ЖХ-МС $m/z = 356,1[\text{M}-56+\text{H}]^+$.

Способ II

В реакционную колбу объемом 1 л при перемешивании добавляли ацетонитрил (100 г), соединение 1А (20,15 г) и соединение 2а (16,02 г), а затем водный раствор карбоната калия (16,57 г, который получали растворением карбоната калия (16,53 г) в очищенной воде (40 г)). После добавления смесь трижды подвергали замене азота. Добавляли комплекс [1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен]дихлорида палладия с дихлорметаном (0,83 г). Под защитой азота реакционную жидкость нагревали до $80^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ и проводили реакцию в течение примерно 2 часов, а затем реакцию прекращали.

Реакционную жидкость охлаждали до $50^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ и добавляли безводный этанол (80 г) для кристаллизации в течение примерно 1 часа. Смесь фильтровали, фильтровальный осадок промывали безводным этанолом (20 г) и собирали.

Сушка: фильтровальный осадок сушили при $55^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ в вакууме $\leq -0,07$ МПа в течение примерно 16 часов и собирали с получением промежуточного соединения 1В (24,41 г, выход: 83,0%).

Способ III

В реакционный котел емкостью 20 л при перемешивании добавляли 1,4-диоксан (5,5 кг), соединение 1А (0,551 кг) и соединение 2а (0,434 кг), после чего добавляли водный раствор карбоната калия (1,744 кг, который был получен растворением карбоната калия (0,444 кг) в очищенной воде (1,30 кг)). После добавления смесь трижды подвергали замене азота. Добавляли комплекс [1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен]дихлорида палладия с дихлорметаном (208 г). Под защитой азота реакционную жидкость нагревали до $80^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ и проводили реакцию в течение примерно 3 часов, а затем реакцию прекращали.

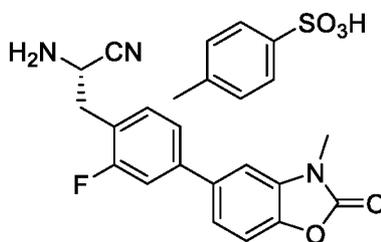
Реакционную жидкость охлаждали до $20^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ и перемешивали для кристаллизации в течение примерно 1 часа, и фильтровали. Фильтровальный осадок дважды промывали очищенной водой (1,0 кг x 2) и собирали. Безводный этанол (3,2 кг) и фильтровальный осадок добавляли в реакционный котел емкостью 20 л, смесь нагревали до

70°C±5°C, перемешивали в течение примерно 1,5 часов, охлаждали до комнатной температуры и фильтровали, и фильтровальный осадок промывали безводным этанолом (1,20 кг) и собирали.

Сушка: фильтровальный осадок сушили при 55°C±5°C в вакууме ≤-0,07 МПа в течение примерно 18 часов и собирали с получением промежуточного продукта 1В (0,435 кг, выход: 74,0%).

Пример 2

(S)-2-амино-3-(2-фтор-4-(3-метил-2-оксо-2,3-дигидробензо[d]оксазол-5-ил)фенил)пропаннитрил 4-метилбензолсульфоновая кислота (1С 4-метилбензолсульфоновая кислота)



Способ I

В стеклянный реакционный котел емкостью 50 л при перемешивании добавляли ацетонитрил (16,785 кг), промежуточное соединение 1В (2,1381 кг) и моногидрат п-толуолсульфоновой кислоты (2,950 кг). После добавления температуру регулировали на уровне 25°C±5°C, и проводили реакцию смеси в течение примерно 2 часов. Затем отбирали образец и анализировали его с помощью ВЭЖХ, и когда целевое значение текущего технологического контроля, т.е. содержание промежуточного соединения 1В, составляло ≤1,0%, реакцию прекращали.

Реакционную смесь фильтровали, фильтровальный осадок промывали ацетонитрилом (1,670 кг) и собирали. Ацетонитрил (2,1381 кг) и фильтровальный осадок добавляли в реакционный котел, смесь нагревали до 80°C±5°C и перемешивали в течение 3 часов. Полученную смесь охлаждали до 20°C±5°C и перемешивали в течение 1 часа. Реакционную смесь фильтровали, фильтровальный осадок промывали ацетонитрилом (1,670 кг) и собирали.

Сушка: фильтровальный осадок сушили при 55°C±5°C в вакууме ≤-0,07 МПа в течение примерно 16 часов и собирали с получением промежуточного соединения 1С 4-метилбензолсульфоновой кислоты (2,141 кг, выход: 85,5%, ВЭЖХ: 99,43%).

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 9,04 (s, 3H), 7,70-7,37 (m, 8H), 7,13 (d, 2H), 4,90 (dd, 1H), 3,41 (s, 3H), 3,29 (t, 2H), 2,29 (s, 3H).

ЖХ-МС $m/z = 312,2$ [M-172+H] $^+$.

Способ II

В реакционную колбу объемом 1 л при перемешивании добавляли ацетонитрил (400 г), промежуточное соединение 1B (50,30 г) и моногидрат п-толуолсульфоновой кислоты (69,30 г). После добавления температуру регулировали на уровне $50^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$ и смесь реагировала в течение примерно 1 часа. Затем отбирали образец и анализировали его с помощью ВЭЖХ, и когда содержание промежуточного соединения 1B текущего технологического контроля составляло $\leq 1,0\%$, реакцию прекращали. Реакционную смесь фильтровали, фильтровальный осадок промывали ацетонитрилом (10 г) и собирали.

Сушка: фильтровальный осадок сушили при $55^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$ в вакууме $\leq -0,07$ МПа в течение примерно 24 часов и собирали с получением промежуточного соединения 1C 4-метилбензолсульфоновой кислоты (55,70 г, выход: 95,0%).

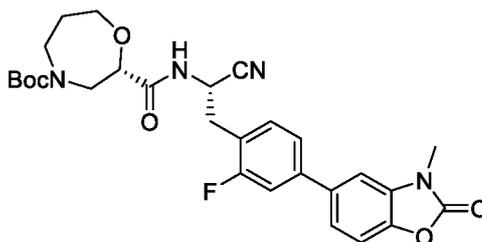
Способ III

В реакционную колбу объемом 0,5 л при перемешивании добавляли ацетонитрил (160 г), промежуточное соединение 1B (20,3 г) и концентрированную соляную кислоту (17,8 г). После добавления температуру регулировали на уровне $25^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$, и смесь подвергали реакции в течение примерно 2 часов. Затем отбирали образец и анализировали его с помощью ВЭЖХ, и когда содержание промежуточного соединения 1B текущего технологического контроля составляло $\leq 1,0\%$, реакцию прекращали. Реакционную смесь фильтровали, фильтровальный осадок промывали ацетонитрилом (10 г) и собирали.

Сушка: фильтровальный осадок сушили при $55^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$ в вакууме $\leq -0,07$ МПа в течение примерно 18 часов и собирали с получением гидрохлорида промежуточного соединения 1C (14,4 г, выход: 85,0%, гигроскопичный).

Пример 3

Трет-бутил(S)-2-(((S)-1-циано-2-(2-фтор-4-(3-метил-2-оксо-2,3-дигидробензо[d]оксазол-5-ил)фенил)этил)карбамоил)-1,4-оксазепан-4-карбоксилат (1D)



Способ I

В реакционный котел емкостью 50 л при перемешивании добавляли этилацетат (19,060 кг), промежуточное соединение 1C (2,1413 кг) и INT-3 (1,1300 кг, приобретенное у Pharmablock Sciences (Nanjing), Inc.), затем N,N-диизопропилэтиламин (1,725 кг). После добавления под защитой азота реакционную жидкость охлаждали до $5^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$, по каплям добавляли пропилфосфоновый ангидрид (4,240 кг), при этом температуру регулировали на уровне $10^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$. После добавления температуру поддерживали на уровне $25^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ и смесь реагировала в течение примерно 2 часов. Затем отбирали пробу и анализировали ее с помощью ВЭЖХ, и когда целевое значение текущего технологического контроля, т.е. содержание промежуточного соединения 1C, составляло $\leq 1,0\%$, реакцию прекращали.

Реакционную жидкость последовательно промывали раствором бикарбоната натрия (который получали растворением 1,070 кг бикарбоната натрия в 20,350 кг воды), раствором лимонной кислоты (который получали растворением 2,150 кг моногидрата лимонной кислоты в 19,275 кг воды) и хлоридом натрия (который получали растворением 4,300 кг хлорида натрия в 17,135 кг воды). К органической фазе добавляли медицинский уголь (0,210 кг) и смесь перемешивали примерно 0,5 часа. Полученную смесь фильтровали через слой целита (0,540 кг) и фильтровальный осадок промывали этилацетатом (1,905 кг). Органическую фазу сушили примерно 0,5 часа, добавляя безводный сульфат натрия (1,070 кг). Смесь фильтровали, фильтровальный осадок промывали этилацетатом (1,905 кг) и фильтраты объединяли.

Полученный фильтрат концентрировали при пониженном давлении при $50^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ до тех пор, пока не переставала выделяться очевидная фракция, с получением промежуточного продукта 1D (2,385 кг, избыточная масса, и количество рассчитывали исходя из выхода 100%). Промежуточное соединение непосредственно использовали для следующей реакции (ВЭЖХ: 99,09%).

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,54-7,01 (m, 7H), 5,18 (s, 1H), 4,25-3,94 (m, 3H), 3,54 (dd, 2H), 3,46 (s, 3H), 3,39-3,04 (m, 4H), 1,99 (d, 2H), 1,54-1,39 (m, 9H).

ЖХ-МС $m/z = 483,2$ $[\text{M}-56+1]^+$.

Способ II

В реакционную колбу объемом 2 л при перемешивании добавляли дихлорметан (1,3 кг), промежуточное соединение 1С (120,03 г) и INT-3 (108,76 г), а затем N,N-диизопропилэтиламин (149,55 г). После добавления реакционную жидкость охлаждали до $15^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ и порциями добавляли НАТУ (190,47 г). После добавления проводили реакцию смеси в течение примерно 16 часов, поддерживая температуру $25^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$, а затем реакцию прекращали.

Реакционную жидкость последовательно промывали раствором бикарбоната натрия, раствором лимонной кислоты и хлоридом натрия. Органическую фазу сушили примерно 0,5 часа добавлением безводного сульфата натрия (1,0 кг). Смесь фильтровали, фильтровальный осадок промывали дихлорметаном (1,905 кг) и фильтраты объединяли.

Полученный фильтрат концентрировали при пониженном давлении при $50^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ до тех пор, пока не переставала выделяться очевидная фракция, с получением промежуточного продукта 1D (221,30 г, избыточная масса, количество рассчитывали исходя из выхода 100%). Промежуточное соединение непосредственно использовали для следующей реакции.

Способ III

В реакционную колбу объемом 1 л при перемешивании добавляли этилацетат (800 г), промежуточное соединение 1С (100,0 г) и INT-3 (53,26 г), а затем N,N-диизопропилэтиламин (80,11 г). После добавления под защитой азота реакционную жидкость охлаждали до $5^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$, по каплям добавляли пропилфосфоновый ангидрид (197,66 г), при этом температуру регулировали на уровне $10^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$. После добавления температуру поддерживали на уровне $25^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ и осуществляли реакцию смеси в течение примерно 2 часов. Затем отбирали пробу и анализировали ее с помощью ВЭЖХ, и когда целевое значение для текущего технологического контроля, т.е. содержание промежуточного соединения 1С, составляло $\leq 1,0\%$, реакцию прекращали.

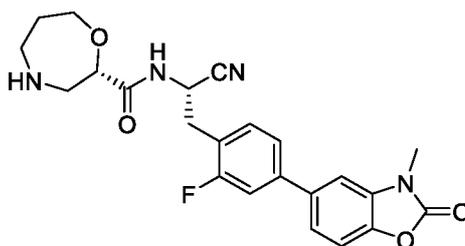
Реакционную жидкость последовательно промывали раствором бикарбоната натрия, раствором лимонной кислоты и хлоридом натрия. Органическую фазу сушили примерно 0,5 часа путем добавления безводного сульфата натрия (200 г). Смесь фильтровали, фильтровальный осадок промывали этилацетатом (50 г) и фильтраты объединяли.

Полученный фильтрат концентрировали при пониженном давлении при $50^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ до тех пор, пока не переставала выделяться очевидная фракция, с получением промежуточного продукта 1D (115,08 г, избыточная масса, количество рассчитывали

исходя из выхода 100%). Промежуточное соединение непосредственно использовали для следующей реакции.

Пример 4

(S)-N-((S)-1-циано-2-(2-фтор-4-(3-метил-2-оксо-2,3-дигидробензо[d]оксазол-5-ил)фенил)этил)-1,4-оксазепан-2-карбоксамид (соединение I)



Способ I

В двухслойный стеклянный реакционный котел емкостью 50 л, содержащий концентрат промежуточного соединения 1D (способ I примера 3), при перемешивании добавляли ацетонитрил (9,305 кг) и моногидрат п-толуолсульфоновой кислоты (2,530 кг). После добавления температуру поддерживали на уровне $25^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ и осуществляли реакцию смеси в течение примерно 2 часов. Затем отбирали образец и анализировали его с помощью ВЭЖХ, и когда целевое значение для текущего технологического контроля, т.е. содержание промежуточного соединения 1D, составляло $\leq 1,0\%$, реакцию прекращали.

Реакционную жидкость охлаждали до $10^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ и по каплям добавляли разбавленный водный раствор аммиака (смесь 1,075 кг водного раствора аммиака и 36,000 кг очищенной воды), при этом температуру материала регулировали на уровне ниже 25°C . После добавления смесь охлаждали до $10^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$, чтобы обеспечить кристаллизацию в течение 2 часов. Полученную смесь фильтровали, а фильтровальный осадок промывали очищенной водой (11,930 кг). Фильтровальный осадок и этанол (14,890 кг) добавляли в двухслойный стеклянный реакционный котел объемом 50 л, смесь перемешивали при $20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ в течение 0,5 часов и фильтровали. Фильтровальный осадок промывали этанолом (1,860 кг) и собирали. Фильтровальный осадок сушили при $55^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ в вакууме (степень вакуума $\leq -0,07$ МПа) в течение примерно 13 часов и собирали с получением неочищенного соединения I (1,6627 кг, выход: 85,6%).

Очистка: в реакционный котел емкостью 100 л при перемешивании добавляли ацетонитрил (9,100 кг), безводный этанол (9,220 кг) и неочищенное соединение I (1,6627 кг), и смесь нагревали до внутренней температуры $75^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$, перемешивали до растворения и осветления и фильтровали в горячем виде. Фильтрат переносили в

реакционный котел емкостью 100 л (если из фильтрата выпадал в осадок продукт, фильтрат необходимо было нагревать до прозрачности раствора) и охлаждали до $35^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ при перемешивании. Температуру поддерживали постоянной до тех пор, пока не выпадало в осадок твердое вещество, а затем смесь перемешивали в течение примерно 0,5 часов, поддерживая при этом температуру постоянной. Полученную смесь затем охлаждали до $5^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ и поддерживали постоянную температуру, чтобы обеспечить кристаллизацию в течение 2 часов. Смесь фильтровали, осадок на фильтре промывали этанолом (1,300 кг) и собирали.

Сушка: фильтровальный осадок сушили при $55^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ в вакууме $\leq -0,07$ МПа в течение примерно 25 часов с получением соединения I (1,4060 кг, выход: 84,6%, общий выход: 55,0% (рассчитано на основе соединения 2a), ВЭЖХ: 99,93%).

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 8,69 (d, 1H), 7,64 (d, 1H), 7,61-7,51 (m, 2H), 7,46 (t, 2H), 7,39 (d, 1H), 5,06 (q, 1H), 4,01 (dd, 1H), 3,87 (ddd, 1H), 3,73 (ddd, 1H), 3,40 (s, 3H), 3,34-3,28 (m, 1H), 3,20 (dd, 1H), 3,06 (dd, 1H), 2,78 (ddd, 1H), 2,69-2,54 (m, 2H), 2,21 (s, 1H), 1,84-1,63 (m, 2H).

ЖХ-МС $m/z = 439,2$ $[\text{M}+1]^+$.

Способ II

В двухслойный стеклянный реакционный котел емкостью 100 л при перемешивании добавляли ацетонитрил (19,26 кг), моногидрат п-толуолсульфоновой кислоты (3,712 кг) и промежуточное соединение 1D (3,500 кг). После добавления температуру поддерживали на уровне $25^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ и проводили реакцию смеси в течение примерно 2 часов. Затем отбирали образец и анализировали его с помощью ВЭЖХ, и когда целевое значение для текущего технологического контроля, т.е. содержание промежуточного соединения 1D, составляло $\leq 1,0\%$, реакцию прекращали.

Реакционную жидкость концентрировали до реакционного объема примерно 20 л, охлаждали до $10^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ и добавляли разбавленный водный раствор аммиака (смесь 4,0 кг водного раствора аммиака и 56,00 кг очищенной воды). После добавления смесь охлаждали до $10^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$, чтобы обеспечить кристаллизацию в течение 0,5 часов. Смесь фильтровали, фильтровальный осадок промывали очищенной водой (5 кг) и собирали. Фильтровальный осадок сушили при $55^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ в вакууме (степень вакуума $\leq -0,07$ МПа) в течение примерно 72 часов и собирали с получением неочищенного соединения I (2,552 кг).

Очистка: в реакционный котел емкостью 100 л при перемешивании добавляли изопропанол (19,63 кг) и неочищенное соединение I (1,6627 кг), смесь нагревали до

внутренней температуры $75^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$, перемешивали в течение примерно 2 часов, а затем охлаждали до $25^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ и поддерживали постоянную температуру, чтобы обеспечить кристаллизацию в течение примерно 16 часов. Смесь фильтровали, фильтровальный осадок промывали изопропанолом (1,300 кг) и собирали.

Сушка: фильтровальный осадок сушили при $55^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ в вакууме $\leq -0,07$ МПа в течение примерно 24 часов с получением соединения I (2,344,2 кг, выход: 82,3%).

Биологическое испытание

1. Оценка активности фермента DPP1 *in vitro*

Рекомбинантный человеческий фермент DPP1 (R&D Systems, кат. № 1071-CY) в конечной концентрации 100 мкг/мл и рекомбинантный человеческий катепсин L (R&D Systems, кат. № 952-CY) в конечной концентрации 20 мкг/мл смешивали и инкубировали при комнатной температуре в течение 1 часа для активации фермента DPP1. Активированный фермент DPP1 разбавляли в 100 раз, 5 мкл соединений в различных концентрациях и 5 мкл разбавленного фермента DPP1 добавляли в планшет с 384 лунками и инкубировали при комнатной температуре в течение 30 минут. После добавления 10 мкл субстрата Gly-Arg-AMC (bachem, Кат. № I-1215) в концентрации 20 мкМ инкубацию продолжали при комнатной температуре в течение 60 минут и интенсивность флуоресценции определяли с помощью микропланшетного анализатора (возбуждение=380 нм и излучение=460 нм). Значения IC₅₀ были рассчитаны с использованием функции DosResp в программном обеспечении Origin2019.

Таблица 1. Ингибирующая активность по DPP1

Номер соединения	IC ₅₀ /нМ
Соединение I	1,6

Заключение: соединение по настоящему изобретению показывает относительно высокую ингибирующую активность в отношении рецептора DPP1.

2. Фармакокинетический тест на крысах

1.1. Экспериментальные животные: крысы-самцы SD, массой примерно 220 г, возраст 6-8 недель, по 6 крыс на соединение. Приобретено у Chengdu Ddossy Experimental Animals Co., Ltd.

1.2. План эксперимента: В день эксперимента 6 крыс SD были случайным образом сгруппированы в соответствии с их массой тела. Животных не поили водой в течение 12-14 часов за день до введения и кормили через 4 часа после введения.

Таблица 2. Сведения по введению

Группа	Номер	Информация по введению					
	Самец	Испытываемое соединение	Доза введения, мг/кг	Концентрация введения, мг/мл	Объем введения, мл/кг	Собранные образцы	Режим введения
G1	3	INS1007	1	0,2	5	Плазма	Внутри-венно
G2	3	Соединение I	1	0,2	5	Плазма	
G3	3	INS1007	3	0,3	10	Плазма	Внутри-желудочно
G4	3	Соединение I	3	0,3	10	Плазма	

Несущая среда для внутривенного введения: 5% DMA + 5% солютол + 90% физиологический раствор; несущая среда для внутрижелудочного введения: 0,5% MC; контрольное соединение INS1007, т.е. соединение 2 в заявке на патент WO 2015110826 A1, получали в соответствии со способом, описанным в патенте.

До и после введения из глазницы крыс под изофлурановым наркозом брали по 0,1 мл крови и помещали в центрифужную пробирку EDTAK2. Центрифугировали при 5000 об/мин при 4°C в течение 10 мин и собирали плазму. Моменты времени забора крови для группы внутривенного введения: 0,5 мин, 15 мин, 30 мин, 1 час, 2 часа, 4 часа, 6 часов, 8 часов и 24 часа; и моменты времени забора крови для группы внутрижелудочного введения: 0, 5 минут, 15 минут, 30 минут, 1 час, 2 часа, 4 часа, 6 часов, 8 часов и 24 часа. До анализа и детектирования все образцы хранили при -80°C.

Таблица 3. Фармакокинетические параметры испытываемых соединений в плазме крыс

Испытываемые соединения	Режим введения	CL, мл/мин/кг	Vdss, л/кг	AUC _{0-t} , ч*нг/мл	F, %
INS1007	Внутривенно, 1 мг/кг	2,08	0,738	8396	-
Соединение 1		1,66	0,753	9503	-
INS1007	Внутрижелудочно, 3 мг/кг	-	-	22201	88,1
Соединение 1		-	-	31159	>100

Заключение: соединение по настоящему изобретению имеет относительно хорошую биологическую доступность и фармакокинетические характеристики.

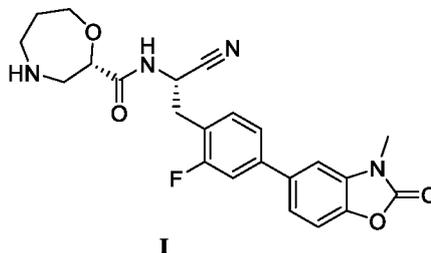
3. Тест на токсичность на крысах после 14-дневного повторного перорального введения.

В зависимости от массы тела крысы SD были случайным образом разделены на следующие группы: контрольная группа носителя (0,5% МС), группы INS1007 (30, 100 и 300 мг/кг) и группы соединения I (30, 100 и 300 мг/кг). Для групп введения в каждую группу было включено по 16 крыс, а для контрольной группы носителя - 10 крыс с равным количеством крыс, самцов и самок, в каждой из групп. Крысам через желудочный зонд вводили лекарственное средство или носитель в соответствующих концентрациях каждый день в течение 14 дней подряд с периодом восстановления 7 дней. В течение периода введения наблюдали общие симптомы и измеряли массу тела и потребление пищи для каждой группы. В конце периода введения и в конце периода восстановления на крысах в каждой группе отдельно проводили гематологические тесты, тест на биохимию сыворотки и общую анатомию.

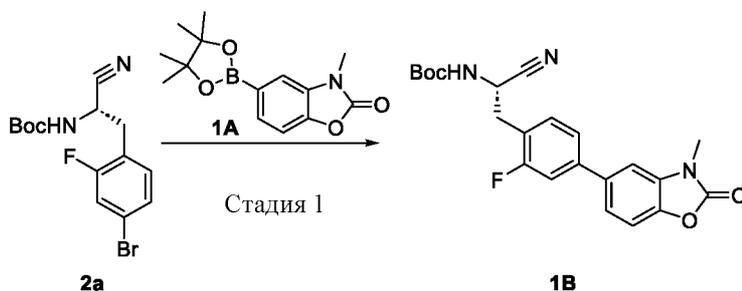
Заключение: соединение по настоящему изобретению менее токсично, чем INS1007, и, следовательно, более безопасно в той же дозе.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ получения соединения, представленного формулой (I),

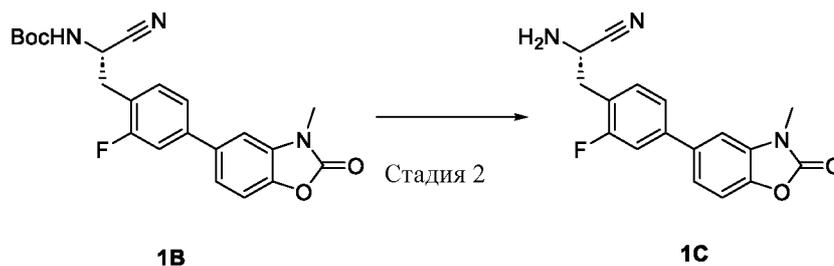


включающий: стадию 1: проведение реакции сочетания соединения 2a и соединения 1A с получением промежуточного соединения 1B;



и стадию 2: добавление промежуточного соединения 1B и кислоты к органическому растворителю, проведение полной реакции смеси при регулировании температуры на уровне 20°C-55°C и затем фильтрование смеси с получением промежуточного соединения 1C или его соли, возможно добавление фильтровального осадка в органический растворитель, нагревание смеси до 80°C±5°C и ее перемешивание в течение 1-5 часов, охлаждение смеси до 20°C±5°C, ее перемешивание и выполнение фильтрации и сушки с получением промежуточного соединения 1C или его соли,

при этом кислоту выбирают из одной или более из серной кислоты, фосфорной кислоты, муравьиной кислоты, трифторуксусной кислоты, бензолсульфоновой кислоты, метансульфоновой кислоты и моногидрата п-толуолсульфоновой кислоты, а органический растворитель выбирают из одного или более из метанола, этанола, изопропанола, ацетонитрила, изопропилацетата, этилацетата, толуола, ацетона, метилизобутилкетона, тетрагидрофурана, 2-метилтетрагидрофурана, метил-трет-бутилового эфира и ацетонитрила;



2. Способ получения по п. 1, в котором стадия 1 включает: растворение соединения 2а и соединения 1А в органическом растворителе, добавление основания, затем добавление катализатора под защитой азота, нагревание смеси до $80^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ для завершения реакции; затем охлаждение смеси до $5^{\circ}\text{C} - 55^{\circ}\text{C}$, ее перемешивание для кристаллизации и проведение фильтрации и сушки с получением промежуточного соединения 1В; возможно после фильтрации добавление фильтровального осадка к спиртовому растворителю, перемешивание смеси в течение от 10 минут до 2 часов, а затем выполнение фильтрации и сушки с получением промежуточного продукта 1В,

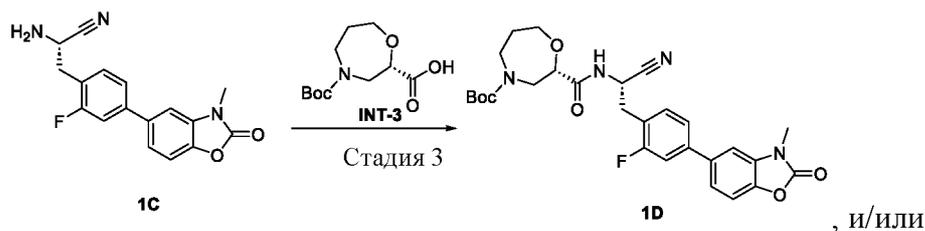
при этом органический растворитель выбирают из одного или более из ацетонитрила, толуола, дихлорметана, этилацетата, ацетона, метанола, этанола, изопропанола, 2-метилтетрагидрофурана, тетрагидрофурана и 1,4-диоксана;

основание выбирают из одного или более из K_3PO_4 , K_2HPO_4 , K_2CO_3 , KHCO_3 , Cs_2CO_3 , Na_2CO_3 , NaHCO_3 , KF , ацетата натрия, ацетата калия, пиридина, триэтиламина или N,N -диизопропилэтиламина или их водного раствора;

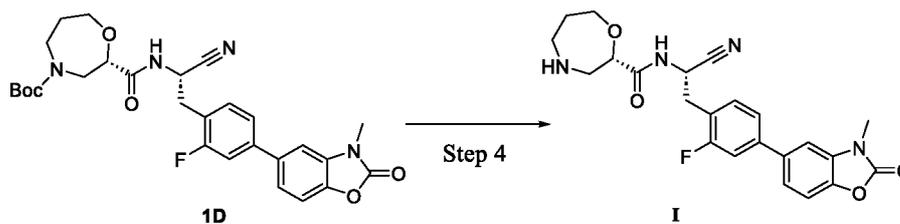
и катализатор выбирают из одного или более катализаторов, выбранных из NiCl_2 , $\text{NiCl}_2 \cdot \text{диглима}$, $\text{Ni}(\text{COD})_2$, $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, PdCl_2 , $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$, $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$, $\text{Pd}(\text{PhCN})_2\text{Cl}_2$, PEPPSI-iPr , $\text{PdCl}_2[\text{P}(\text{Cy})_3]_2$ и комплекса [1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен]дихлорида палладия с дихлорметаном.

3. Способ получения по п.1 или п.2, дополнительно включающий:

стадию 3: проведение реакции амидирования промежуточного соединения 1С или его соли и соединения INT-3 или его соли с получением промежуточного соединения 1D;



стадию 4: проведение снятия защиты промежуточного соединения 1D в кислотных условиях с получением соединения (I) или его соли;



4. Способ получения по п.3, в котором стадия 3 включает: добавление промежуточного соединения 1C или его соли и соединения INT-3 или его соли к органическому растворителю, добавление органического амина, затем добавление по каплям реагента конденсации кислоты и амина в условиях защиты азота при регулировании температуры на уровне 5°C - 20°C , а затем проведение полной реакции смеси при поддержании температуры на уровне $25^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$; затем промывку реакционной жидкости раствором хлорида натрия, проведение разделение жидкостей, добавление к органической фазе медицинского угля или активированного угля, перемешивание и фильтрование смеси, сушку органической фазы путем добавления безводного сульфата натрия и выполнение фильтрации и концентрирования с получением промежуточного соединения 1D или его соли,

где органический растворитель выбирают из одного или более из тетрагидрофурана, 2-метилтетрагидрофурана, диоксана, N,N-диметилформамида, N,N-диметилацетамида, N-метилпирролидона, диметилсульфоксида, дихлорметана, ацетона, метилизобутилкетона, изопропилацетата и этилацетата;

органический амин выбирают из одного или более из триэтиламина, 2,6-диметилпиридина, пиридина, DBU и N,N-диизопропилэтиламина;

и реагент конденсации кислоты и амина выбирают из одного или более из HATU, COMU, EDCI, BOP и пропилфосфонового ангидрида.

5. Способ получения по п.4, в котором стадия 3 включает: последовательную промывку реакционной жидкости щелочным водным раствором и кислотным водным раствором перед промывкой ее раствором хлорида натрия,

при этом щелочной водный раствор выбирают из одного или более из раствора фосфата калия, раствора карбоната калия, раствора бикарбоната калия, раствора карбоната натрия и раствора бикарбоната натрия;

а кислотный водный раствор выбирают из одного или более из раствора соляной кислоты, раствора серной кислоты, раствора фосфорной кислоты и раствора лимонной кислоты.

6. Способ получения по п.3, в котором стадия 4 включает: добавление промежуточного соединения 1D и кислотного реагента к органическому растворителю, затем проведение полной реакции смеси при поддержании температуры на уровне $25^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$, затем добавление по каплям основания при регулировании температуры реакционной жидкости ниже 25°C , охлаждение полученной смеси до $10^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ для кристаллизации и проведение фильтрации и сушки с получением соединения (I); возможно после фильтрации промывку фильтровального осадка очищенной водой, затем добавление фильтровального осадка в спиртовой реагент, перемешивание смеси при $20^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ и выполнение фильтрации и сушки с получением соединения (I) или его соли.

7. Способ получения по п.6, в котором кислотный реагент на стадии 4 выбирают из одной или более из соляной кислоты, серной кислоты, фосфорной кислоты, муравьиной кислоты, трифторуксусной кислоты, бензолсульфоновой кислоты, метансульфоновой кислоты и моногидрата п-толуолсульфоновой кислоты, органический растворитель выбирают из одного или более из ацетонитрила, метанола, этанола, изопропанола, изопропилацетата, этилацетата, ацетона, метилизобутилкетона, тетрагидрофурана, 2-метилтетрагидрофурана и метил-трет-бутилового эфира, а основание выбирают из одного или более из разбавленного водного раствора аммиака, LiOH, NaOH, KOH, K_3PO_4 , K_2CO_3 , KHCO_3 , Cs_2CO_3 , Na_2CO_3 и NaHCO_3 или их водных растворов.

8. Способ получения по п.6 или п.7, дополнительно включающий стадию очистки: добавление полученного соединения (I) к раствору безводного этанола и воды, ацетонитрила и воды, ацетонитрила и безводного этанола, ацетонитрила и метанола, ацетонитрила и изопропанола, ацетонитрила и трет-бутанола или ацетонитрила и н-бутанола, нагревание смеси до $75^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$, перемешивание ее до растворения и осветления, возможно проведение горячей фильтрации, охлаждение фильтрата при перемешивании для кристаллизации и проведение фильтрации и сушки с получением очищенного соединения (I).

9. Способ получения по п.8, в котором охлаждение фильтрата при перемешивании для кристаллизации осуществляют в две стадии: сначала охлаждение фильтрата до $35^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ и проведение кристаллизации при поддержании постоянной температуры в течение от 20 минут до 1,5 часов, а затем охлаждение фильтрата до $5^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ и проведение кристаллизации при поддержании постоянной температуры в течение 1-3 часов.