



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **114952** (13) **C2**
(51) МПК (2017.01)
C07D 471/04 (2006.01)
A61K 31/4375 (2006.01)
A61P 11/00

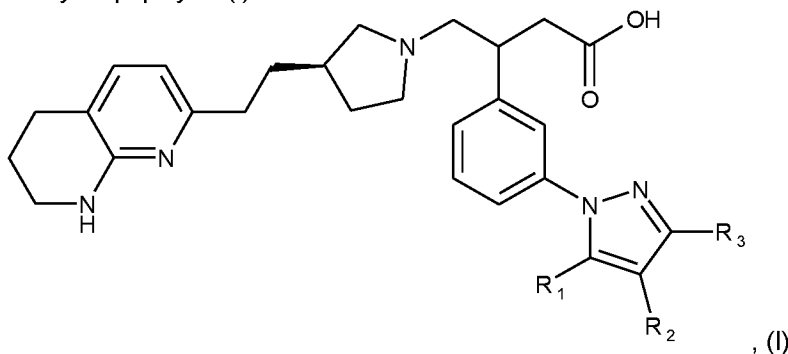
МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: a 2015 08518	(72) Винахідник(и): Андерсон Нілл Ендрю (GB), Феллон Брендан Джон (GB), Прітчард Джон Мартін (GB)
(22) Дата подання заявки: 26.03.2014	(73) Власник(и): ГЛАКСОСМІТКЛАЙН ІНТЕЛЛЕКТУАЛ ПРОПЕРТІ ДИВЕЛОПМЕНТ ЛІМІТЕД, 980 Great West Road, Brentford, Middlesex TW8 9GS, United Kingdom (GB)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 28.08.2017	(74) Представник: Крилова Надія Іванівна, реєстр. №30
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 1305668.4	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: US 2004/092454 A1, 13.05.2004 WO 01/34602 A2, 17.05.2001
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 28.03.2013	
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: GB	
(41) Публікація відомостей про заявку: 10.12.2015, Бюл.№ 23	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 28.08.2017, Бюл.№ 16	
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: PCT/EP2014/056013, 26.03.2014	

(54) ПОХІДНІ НАФТИРИДИНУ, ЩО ЗАСТОСОВУЮТЬСЯ ЯК АНТАГОНІСТИ АЛЬФА-V-БЕТА-6 ІНТЕГРИНУ**(57)** Реферат:

Сполука формули (I) або її сіль



де

R₁ являє собою атом гідрогену, метильну групу або етильну групу;R₂ являє собою атом гідрогену або атом флуору;R₃ являє собою атом гідрогену, метильну групу або етильну групу.**UA 114952 C2**

ГАЛУЗЬ ВИНАХОДУ

Винахід стосується сполук піролідину, які є антагоністами $\alpha_v\beta_6$ інтегрину, фармацевтичних композицій, що містять такі сполуки та їх застосування в терапії, зокрема, в лікуванні станів, при яких показаним є антагоніст $\alpha_v\beta_6$ інтегрину, застосування сполуки у виробництві лікарського засобу для лікуванні станів, при яких показаним є антагоніст $\alpha_v\beta_6$ інтегрину, та способу лікування або профілактики розладів, при яких показаним є антагонізм $\alpha_v\beta_6$ інтегрину у людини, та сполук, які можуть застосовуватись як проміжні сполуки у виробництві таких сполук.

ПЕРЕДУМОВИ СТВОРЕННЯ ВИНАХОДУ

Протеїни з надродини інтегринів є гетеродимерними клітинними поверхневими рецепторами, що складаються з альфа та бета субодиниць. Повідомлялось про 18 альфа та 8 бета субодиниць, які, як було продемонстровано, утворюють 24 неоднакові альфа/бета гетеродимери. Кожен ланцюг містить великий позаклітинний домен (>640 амінокислот для бета субодиниці, >940 амінокислот для альфа субодиниці) з ділянкою трансмембранного перекривання з приблизно 20 амінокислот на ланцюг, та, як правило, короткий цитоплазматичний хвіст з 30-50 амінокислот на ланцюг. Показано, що різні інтегрини приймають участь в численних клітинних біологічних процесах, включаючи клітинну адгезію до позаклітинних матриць, взаємодії клітина-клітина та вплив на клітинну міграцію, проліферацію, диференціювання та виживання (Barczyk et al, Cell and Tissue Research, 2010, 339, 269).

Рецептори інтегрину взаємодіють зі зв'язуючими протеїнами через короткі протеїн-протеїн зв'язуючі ділянки контакту з лігандами, та родина інтегринів може бути згурпованою в підродини, які мають подібні мотиви розпізнавання зв'язування в таких лігандах. Основною підродиною є RGD-інтегрини, які розпізнають ліганди, що містять RGD (аргінін-гліцин-аспарагінова кислота) мотив в межах їх протеїнової послідовності. Існує 8 інтегринів в даній підродині, а саме $\alpha_v\beta_1$, $\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_5$, $\alpha_v\beta_6$, $\alpha_v\beta_8$, $\alpha_{1b}\beta_3$, $\alpha_5\beta_1$, $\alpha_8\beta_1$, де номенклатура показує, що $\alpha_v\beta_1$, $\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_5$, $\alpha_v\beta_6$, та $\alpha_v\beta_8$ мають спільну V субодиницю з відмінною β субодиницею, та $\alpha_v\beta_1$, $\alpha_5\beta_1$ та $\alpha_8\beta_1$ мають спільну β_1 субодиницю з відмінною α субодиницею. Показано, що β_1 субодиниця утворює пару з 11 різними α субодиницями, з яких тільки 3, з перелічених вище, як правило, розпізнають RGD пептидний мотив. (Humphries et al, Journal of Cell Science, 2006, 119, 3901).

8 RGD-зв'язуючих інтегринів мають різні афінності та специфічності зв'язування для різних лігандів, що містять RGD. Ліганди включають протеїни, такі як фібронектин, вітронектин, остеопонтин, та пов'язані з латентністю пептиди (LAP) трансформуючого фактору росту β_1 та β_3 (TGF β_1 та TGF β_3). зв'язування з LAP з TGF β_1 та TGF β_3 було показано в декількох системах, що дає можливість активувати TGF β_1 та TGF β_3 біологічні активності, та наступні TGF β -індуковані біологічні процеси (Worthington et al, Trends in Biochemical Sciences, 2011, 36, 47). Специфічне зв'язування RGD інтегринів з такими лігандами залежить від ряду чинників, в залежності від клітинного фенотипу. Різноманітність таких лігандів, в поєднанні зі способами експресії RGD-зв'язуючих інтегринів, створює численні можливості для впливу на захворювання. Такі захворювання включають фіброзні захворювання (Margadant et al, EMBO reports, 2010, 11, 97), запальні розлади, рак (Desgrosellier et al, Nature Reviews Cancer, 2010, 10, 9), рестеноз, та інші захворювання з ангиогенною компонентою (Weis et al, Cold Spring. Harb. Perspect. Med. 2011, 1, a006478).

Значна кількість антагоністів α_v інтегрин (Goodman et al, Trends in Pharmacological Sciences, 2012, 33, 405) була розкрита в літературі, включаючи антагоністичні антитіла, малі пептиди та сполуки. Для антитіл вони включають пан- α_v антагоністичний інтетумумаб, селективний $\alpha_v\beta_3$ антагоністичний етарацизумаб, та селективний $\alpha_v\beta_6$ антагоністичний STX-100. Циленгітид представляє собою циклічний пептидний антагоніст, який інгібує як $\alpha_v\beta_3$, так і $\alpha_v\beta_5$, та SB-267268 є прикладом сполуки (Wilkinson-Berka et al, Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 2006, 47, 1600), яка інгібує як $\alpha_v\beta_3$, так і $\alpha_v\beta_5$. Відкриття сполук, що діють як антагоністи різних комбінацій α_v інтегринів, дає змогу створити та спеціально розробляти нові агенти для конкретних ознак захворювання.

Фіброз легенів представляє собою кінцеву стадію багатьох інтерстиціальних легеневих захворювань, включаючи ідіопатичні інтерстиціальні пневмонії, та характеризується надмірним відкладенням позаклітинного матриксу в легеневій інтерстиції. Серед ідіопатичних інтерстиціальних пневмоній, ідіопатичний фіброз легенів (IPF) представляє собою найбільш поширений та найбільш смертельний стан із середньою тривалістю життя від 3 до 5 років після встановлення діагнозу. Фіброз в IPF є, як правило, прогресуючим, важко піддається лікуванню існуючим на даний час фармакологічним втручанням та неблаганно призводить до дихальної недостатності через руйнування функціональних альвеольних одиниць. IPF вражає приблизно 500 000 людей в США та Європі. Тому, даний стан представляє собою основну нереалізовану

потребу медицини, для якої нові терапевтичні підходи є вкрай необхідними (Datta A et al, Novel therapeutic approaches for pulmonary fibrosis, British Journal of Pharmacology 2011 163: 141-172).

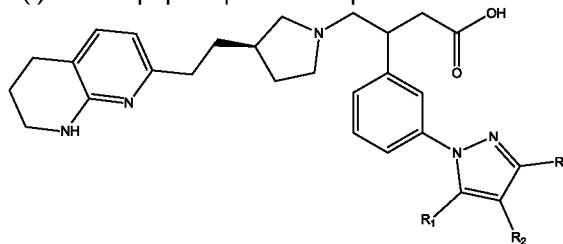
Існують вагомі дані *in vitro*, експериментальні дані на тваринах та імуногістохімічні дані пацієнтів з IPF, що підтверджують ключову роль епітеліального-обмеженого інтегрину, $\alpha_v\beta_6$, в активуванні TGF- β 1. Експресія даного інтегрину є низькою в нормальних епітеліальних тканинах та є значно підвищеною в травмованому та запаленому епітелії, включаючи активований епітелій при IPF. Спрямування даного інтегрину, таким чином, зменшує теоретичну можливість заподіявання шкоди з більш широкими TGF- β гомеостатичними функціями. Часткове інгібування $\alpha_v\beta_6$ інтегрину блокадою антитілами, як показано, запобігає фіброзу легенів без загострення запалення (Horan GS et al Partial inhibition of integrin $\alpha_v\beta_6$ prevents pulmonary fibrosis without exacerbating inflammation. Am J Respir Crit Care Med 2008 177: 56-65).

$\alpha_v\beta_3$ інтегрин експресується в ряді типів клітин, включаючи ендотелій судин, де був охарактеризований як регулятор бар'єрної резистентності. Дані в моделях на тваринах гострого пошкодження легенів та сепсису продемонстрували значну роль даного інтегрину в просочуванні рідин з судин, оскільки нокаут миші показують підвищене просочуванні рідин з судин, що призводить до набряку легенів або смерті. Крім того, антитіла, здатні до інгібування $\alpha_v\beta_3$ функції, викликало різке збільшення проникності моношару в легеневій артерії людини та умбілікальних клітин ендотелію вени у відповідь на декілька факторів росту. Ці дані дозволяють припустити захисну роль $\alpha_v\beta_3$ у підтримці цілісності судинного ендотелію після стимуляції судин, та, що інгібування цієї функції могло керувати патогенними відповідями в умовах хронічного захворювання (Su et al Absence of integrin $\alpha_v\beta_3$ enhances vascular leak in mice by inhibiting endothelial cortical actin formation Am J Respir Crit Care Med 2012 185: 58-66). Таким чином, селективність $\alpha_v\beta_6$ над $\alpha_v\beta_3$ може забезпечити перевагу безпеки.

Метою даного винаходу є створення $\alpha_v\beta_6$ антагоністів.

СУТЬ ВИНАХОДУ

В першому аспекті винаходу, передбачається сполука формули (I) або її сіль, більш конкретно сполука формули (I) або її фармацевтично прийнятна сіль



(I),

де

R₁ представляє собою атом гідрогену, метильну групу або етильну групу

R₂ представляє собою атом гідрогену або атом флуору

R₃ представляє собою атом гідрогену, метильну групу або етильну групу.

Сполуки формули (I) та їх солі мають $\alpha_v\beta_6$ антагоністичну активність та, як вважається, потенційно можуть застосовуватись для лікування або профілактики певних розладів.

В другому аспекті винаходу, передбачається фармацевтична композиція, яка містить сполуку формули (I) або її фармацевтично прийнятну сіль та один або більше фармацевтично прийнятних носіїв, розріджувачів або ексципієнтів.

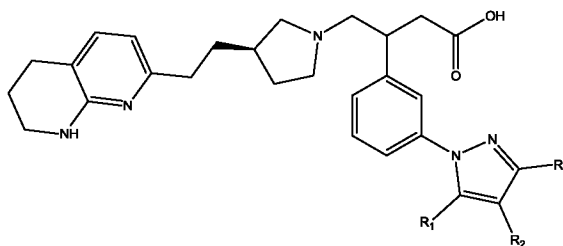
В третьому аспекті винаходу, передбачається сполука формули (I) або її фармацевтично прийнятна сіль для застосування в терапії, зокрема, в лікуванні захворювання або стану, для якого показаним є антагоніст рецептора інтегрину $\alpha_v\beta_6$.

В четвертому аспекті винаходу, передбачається спосіб лікування або профілактики захворювання або стану, для якого показаним є антагоніст рецептора інтегрину $\alpha_v\beta_6$, у людини, що потребує цього, який включає введення людині, що потребує цього, терапевтично ефективної кількості сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятної солі.

В п'ятому аспекті винаходу, передбачається застосування сполуки формули (I), або її фармацевтично прийнятної солі у виробництві лікарського засобу для лікування захворювання або стану, для якого показаним є антагоніст рецептора інтегрину $\alpha_v\beta_6$.

ДЕТАЛЬНИЙ ОПИС ВИНАХОДУ

В першому аспекті винаходу передбачається сполука формули (I) або її сіль



(I),

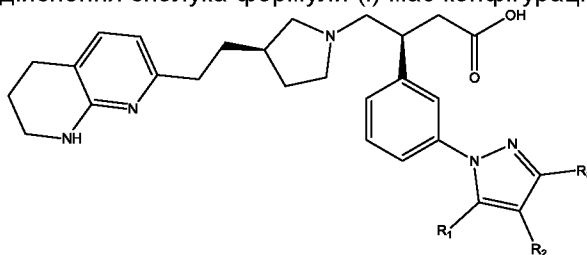
де

5 R₁ представляє собою атом гідрогену, метильну групу або етильну групу

R₂ представляє собою атом гідрогену або атом флуору

R₃ представляє собою атом гідрогену, метильну групу або етильну групу.

В деяких варіантах здійснення сполука формули (I) має конфігурацію:



10 Слід розуміти, що представлений винахід покриває всі комбінації конкретних та переважних груп, описаних в даному документі вище.

В деяких варіантах здійснення, R₁ представляє собою метильну групу, R₂ представляє собою атом гідрогену та R₃ представляє собою метильну групу.

В деяких варіантах здійснення, R₁ представляє собою метильну групу, R₂ представляє собою атом гідрогену та R₃ представляє собою атом гідрогену.

15 В деяких варіантах здійснення, R₁ представляє собою метильну групу, R₂ представляє собою атом флуору та R₃ представляє собою метильну групу.

В деяких варіантах здійснення, R₁ представляє собою атом гідрогену, R₂ представляє собою атом гідрогену та R₃ представляє собою атом гідрогену.

20 В деяких варіантах здійснення, R₁ представляє собою етильну групу, R₂ представляє собою атом гідрогену та R₃ представляє собою метильну групу.

В деяких варіантах здійснення, R₁ представляє собою етильну групу, R₂ представляє собою атом гідрогену та R₃ представляє собою етильну групу.

В деяких варіантах здійснення, R₁ представляє собою атом гідрогену, R₂ представляє собою атом гідрогену та R₃ представляє собою метильну групу.

25 В одному варіанті здійснення сполуку вибирають з:

3-(3-(3,5-диметил-1Н-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутанової кислоти;

3-(3-(5-метил-1Н-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутанової кислоти;

30 3-(3-(5-етил-3-метил-1Н-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутанової кислоти;

3-(3-(1Н-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутанової кислоти;

35 3-(3-(3,5-діетил-1Н-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутанової кислоти;

3-(3-(4-флуор-3,5-диметил-1Н-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутанової кислоти;

3-(3-(3-метил-1Н-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутанової кислоти;

40 або її фармацевтично прийнятної солі.

В одному варіанті здійснення сполукою є:

3-(3-(3,5-диметил-1Н-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутанова кислота;

або її фармацевтично прийнятна сіль

Слід мати на увазі, що винахід покриває сполуки формули (I) у вигляді вільних основ та у вигляді їх солей, наприклад, у вигляді її фармацевтично прийнятної солі. В одному варіанті здійснення винахід стосується сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятної солі.

Для огляду прийнятих солей дивись Berge et al., J. Pharm. Sci., 66:1-19, (1977). Придатні фармацевтично прийнятні солі наводяться в P H Stahl and C G Wermuth, editors, Handbook of Pharmaceutical Salts; Properties, Selection and Use, Weinheim/Surich: Wiley-VCH/VHCA, 2002. Придатні фармацевтично прийнятні солі можуть включати кислотно-адитивні солі з неорганічними кислотами, такими як, наприклад, гідрохлоридна кислота, гідробромідна кислота, фосфатна кислота, нітратна кислота, фосфорна кислота або сульфатна кислота, або з органічними кислотами, такими як, наприклад, метансульфонова кислота, етансульфонова кислота, п-толуолсульфонова кислота, оцтова кислота, пропіонова кислота, молочна кислота, лимонна кислота, фумарова кислота, яблучна кислота, бурштинова кислота, саліцилова кислота, малеїнова кислота, гліцерофосфатна кислота, винна, бензойна, глутамінова, аспарагінова, бензолсульфонова, нафталінсульфонова, така як 2-нафталінсульфонова, гексанова кислота або ацетилсаліцилова кислота. Як правило, фармацевтично прийнятна сіль може бути легко отримана з використанням бажаної кислота або основи, за необхідністю. Одержана в результаті сіль може випадати в осад з розчину та бути зібраною фільтрацією, або може бути виділена шляхом випаровування розчинника.

Інші нефармацевтично прийнятні солі, наприклад, форміати, оксалати або трифлуорацетати, можуть застосовувати, наприклад, при виділенні сполук формули (I), та є включеними в межі обсягу даного винаходу.

Фармацевтично прийнятна основно-адитивна сіль може бути утворена за реакцією сполуки формули (I) з прийнятною неорганічною або органічною основою, (наприклад триетиламін, етаноламін, триетаноламін, холін, аргінін, лізин або гістидин), необов'язково в прийнятному розчиннику, одержуючи основно-адитивну сіль, яку, як правило, виділяють, наприклад, шляхом кристалізації та фільтрації. Фармацевтично прийнятні основні солі включають амонійні солі, солі лужних металів, такі як солі натрію та калію, солі лужноземельних металів, такі як солі кальцію та магнію, та солі з органічними основами, включаючи солі первинних, вторинних та третинних амінів, такі як ізопропіламін, діетиламін, етаноламін, триметиламін, дициклогексиламін та N-метил-D-глюкамін.

В одному варіанті здійснення сполука формули (I) знаходиться в формі вільної основи, наприклад, 3-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетра гідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутанова кислота.

В іншому варіанті здійснення сполука формули (I) є гідрохлоридною сіллю, наприклад, гідрохлоридною сіллю 3-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутанової кислоти.

Винахід включає в межі свого обсягу всі можливі стехіометричні та нестехіометричні форми солей сполук формули (I).

Слід мати на увазі, що багато органічних сполук можуть утворювати комплекси з розчинниками, в яких вони взаємодіють, або, з яких їх осаджують або кристалізують. Дані комплекси є відомими як "сольвати". Наприклад, комплекс з водою є відомим як "гідрат". Розчинники з високими температурами кипіння та/або здатні до утворення водневих зв'язків, такі як вода, ксилол, N-метилпіролідинон, метанол та етанол, можуть застосовувати для утворення сольватів. Способи ідентифікації сольватів включають, але не обмежуються цим, ЯМР та мікроаналіз. Сольвати сполук формули (I) знаходяться в межах обсягу винаходу.

Сполуки формули (I) можуть бути в кристалічній або аморфній формі. Більш того, деякі з кристалічних форм сполук формули (I) можуть існувати як поліморфи, які є включеними в межі обсягу представленого винаходу. Поліморфні форми сполук формули (I) можуть характеризуватися та диференціюватися, використовуючи ряд загальноприйнятих аналітичних способів, включаючи, але не обмежуючись цим, порошок рентгенівську дифрактографію (XRPD), інфрачервону (ІЧ) спектроскопію, раманівську спектроскопію, диференціальну скануючу калориметрію (ДСК), термогравіметричний аналіз (ТГА) та твердофазний ядерно-магнітний резонанс (ТФ-ЯМР).

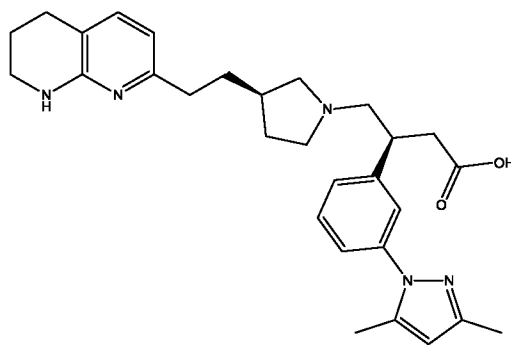
Слід мати на увазі, що кристалічні форми можуть бути, необов'язково, гідратованими або сольватованими. Даний винахід включає в межі обсягу сполук формули (I) стехіометричні гідрати, а також сполуки формули (I), що містять змінні кількості води. Прийнятні сольвати включають фармацевтично прийнятні сольвати, такі як гідрати. Сольвати включають стехіометричні сольвати та нестехіометричні сольвати.

Сполуки, описані в даному документі, містять два асиметричні центри, таким чином, що можуть утворюватись оптичні ізомери, наприклад, діастереоізомери. Відповідно, винахід

охоплює ізомери сполук формули (I), будь то індивідуальні ізомери, виділені так, що є фактично вільними від іншого ізомера (тобто, чисті), або як суміші. Індивідуальний ізомер, виділений так, що є фактично вільними від іншого ізомера (тобто, чистий) може бути виділений таким чином, що присутність іншого ізомеру становить менше 10 %, зокрема, менше приблизно 1 %, наприклад, менше приблизно 0,1 %.

Кваліфікованому фахівцю в даній галузі буде зрозуміло, що певні діастереоізомери можуть бути менш активними, ніж інші, та що активність індивідуального діастереоізомеру, може падати нижче вибраного обмеження.

В одному варіанті здійснення, сполука формули (I) є (S)-3-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутановою кислотою



В іншому варіанті здійснення сполука формули (I) є гідрохлоридною сіллю (S)-3-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутанової кислоти.

Розділення ізомерів може досягатись за загальноприйнятими методиками, відомими кваліфікованому фахівцю в даній галузі, наприклад, з використанням фракційної кристалізації, хроматографії або ВЕРХ.

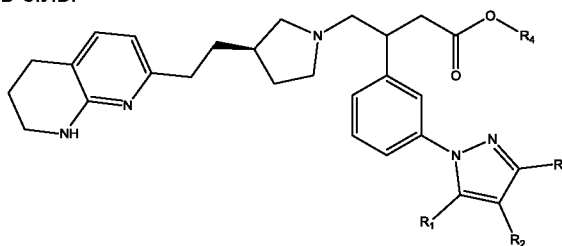
Сполуки формули (I) можуть існувати в одній з декількох таутомерних форм. Слід розуміти, що представлений винахід охоплює всі таутомери сполук формули (I) будь то індивідуальні таутомери, або як їх суміші.

Із зазначеного вище, слід мати на увазі, що включеними в межі обсягу винаходу є сольвати, ізомери та поліморфні форми сполук формули (I) та їх солі.

ОДЕРЖАННЯ СПОЛУКИ

Сполуки за винаходом можуть одержувати, застосовуючи різні способи, включаючи стандартні хімічні способи. Будь-які раніше визначені змінні будуть продовжувати мати раніше вище визначені значення, якщо не вказано інше. Ілюстративні загальні способи синтезу є наведеними нижче, та потім конкретні сполуки винаходу одержують в робочих прикладах.

Сполуки структурної формули (I) можуть одержувати за способом, що включає спочатку зняття захисту зі сполуки структурної формули (II), тобто відщеплення естерної групи, з наступним перетворенням в сіль:

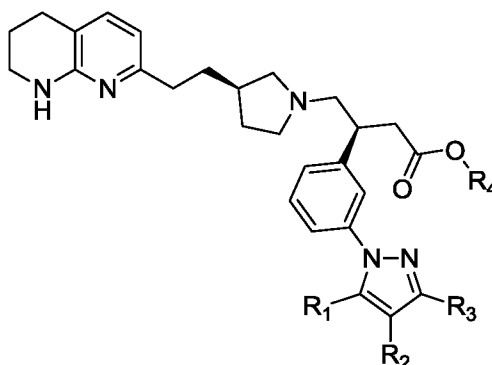


(II),

де R_1 , R_2 та R_3 є такими, як визначено вище, та R_4 представляє собою C_1 - C_6 алкільну групу, наприклад, трет-Бу, ізопропілну, етильну або метильну групу.

Шостий аспект винаходу передбачає сполуку формули (II).

В одному варіанті здійснення, сполука формули (II) має конфігурацію:



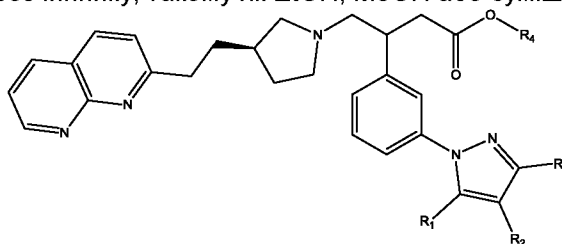
Зняття захисту зі сполуки структурної формули (II), де R₄ є трет-Бу, можуть здійснювати шляхом кислотного гідролізу, використовуючи, наприклад, гідрохлоридну, гідробромідну, сульфатну або трифлуороцтову кислоту, в інертному розчиннику, такому як ДХМ, 2-метил-тетрагідрофуран, тетрагідрофуран, 1,4-діоксан або циклопентилметильовий етер.

Альтернативно, зняття захисту зі сполуки структурної формули (II), де R₄ є метилом, можуть здійснювати шляхом основного гідролізу, використовуючи, наприклад, водний гідроксид натрію або гідроксид калію в прийнятному розчиннику, такому як метанол.

Після відщеплення естерної групи одержаний в результаті продукт можуть перетворити в потрібну сіль за способами, добре відомими кваліфікованому фахівцю в даній галузі.

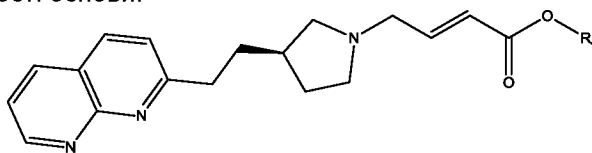
В одному варіанті здійснення перетворення вільної основи в гідрохлоридну сіль досягають обробкою ацетонітрильного розчину вільної основи водним розчином гідрохлоридної кислоти, концентруванням одержаного в результаті розчину солі та кристалізацією з ацетонітрилу.

Сполуки структурної формули (II) можуть одержувати шляхом каталітичного гідрогенування над каталізатором, таким як паладій або родій на вугіллі, зі сполуки структурної формули (III), де R₁, R₂, R₃ та R₄ є такими, як визначено вище. Гідрогенування можуть здійснювати під атмосферним тиском, або дещо підвищеним тиском газоподібного водню, такому як від 2 до 10 атмосфер, в прийнятному розчиннику, такому як EtOH, MeOH або суміші з обох.



(III)

Сполуки структурної формули (III) можуть одержувати за способом, що включає реакцію сполуки структурної формули (IV) з бороноювою кислотою структурної формули (V) в присутності прийнятного каталізатора, необов'язково в присутності хірального ліганду, при підвищеній температурі, та в присутності основи.



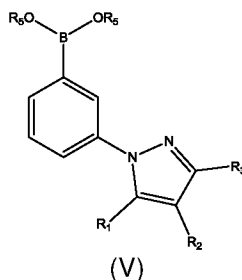
(IV),

де R₁, R₂, R₃ та R₄ є такими, як визначено вище, та геометрія подвійного зв'язку може бути (E) або сумішшю з (E) та (Z) ізомерів, переважно чистий (E) ізомер.

Сполуки структурної формули (V), де R₁, R₂, R₃ є такими, як визначено вище, та

R₅ представляє собою або водень, або C₁-C₆алкілну групу, таку як 2,3-диметилбутан-2,3-діол (пінакол).

Сполуки структурної формули (V) можуть використовувати, як чисту боронову кислоту (R₅=H), або як естер боронової кислоти (R₅ = алкілна група), яку можуть перетворювати *in situ* в боронову кислоту в присутності води та основи, такої як гідроксид калію.

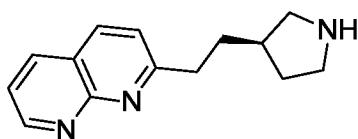


Процес конденсації сполуки структурної формули (IV) та (V) здійснюють в присутності прийнятого каталізатора, такого як родієвий каталізатор, переважно димер хлор(1,5-циклооктадієн)родію(I) в приблизно 5 %, та в інертному розчиннику, що змішується з водою, такому як 1,4-діоксан, в присутності основи, такої як гідроксид калію, при підвищеній температурі, такі як від 50 до 90 °С. Процес конденсації здійснюють в строго анаеробних умовах, за яких реакційну суміш продувають інертним газом, таким як азот, та відкачують під зниженим тиском, повторюючи процес відкачування та продування азотом декілька разів, наприклад, тричі.

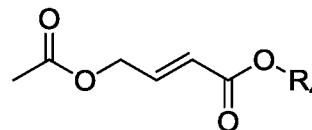
За даним процесом конденсації одержують два діастереоізомери, в співвідношенні приблизно 1:1, які можуть бути розділені, застосовуючи кристалізацію, хроматографію або ВЕРХ. Переважним способом розділення є хіральна ВЕРХ на хіральному носії, такому як Chiralpak колонка. Співвідношення утворених діастереоізомерів може бути збільшеним фактично до, наприклад, приблизно 80:20, в присутності 10 % добавок, таких як хіральні ліганди. Такі добавки включають енантімерно чисті фосфінові ліганди, наприклад (R)-(+)-2,2'-біс(дифенілфосфіно)-1,1'-бінафталін [(R)-BINAP], який забезпечує, як основний ізомер, біологічно більш активний діастереоізомер.

Виявлено, що діастереоізомерне співвідношення повинно залежити від розміру алкільної групи R₄. Таким чином, коли R₄ є третинним, одержували більш високе співвідношення бажаного основного ізомера. Переважною алкільною групою R₄ є трет-Бу, який одержували з діастереоізомерним співвідношенням аж до 95:5. Діастереоізомерне співвідношення може далі бути збільшеним до, наприклад, більше, ніж 99:1, застосовуючи хіральну ВЕРХ або кристалізацію. В великих масштабах одержували діастереоізомерне співвідношення 90:10, коли алкільна група R₄ представляла собою метил.

Сполуки структурної формули (IV) одержували за реакцією (R)-2-(2-(піролідин-3-іл)етил)-1,8-нафтиридину [сполуки структурної формули (VI)] зі сполукою структурної формули (VII), в присутності приблизно 10 % прийнятого паладієвого каталізатора, в прийнятному інертному розчиннику, такому як ДХМ, в присутності третинної аміної основи, такої як триетиламін або діізопропілетиламін, та при температурі навколишнього середовища. Прийнятні паладієві каталізатори переважно містять бідентатний ліганд, такий як дві дифенілфосфінові групи, наприклад, 1,1'-біс(дифенілфосфіно)фероцен]дихлорпаладій(II) [Pd(dppf)Cl₂]. Сполуку структурної формули (VI) можуть використовувати як вільну основу, або отримують *in situ* із солі, такої як дигідрохлоридна сіль, в присутності третинної аміної основи.



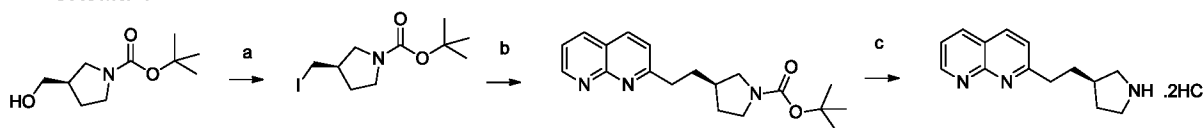
(VI)



(VII)

Сполука структурної формули (VI) [(R)-2-(2-(піролідин-3-іл)етил)-1,8-нафтиридин] можуть одержувати за способами, описаними в даному документі. Як приклад (R)-2-(2-(піролідин-3-іл)етил)-1,8-нафтиридин можуть одержувати за способами, описаними на схемі 1.

Схема 1

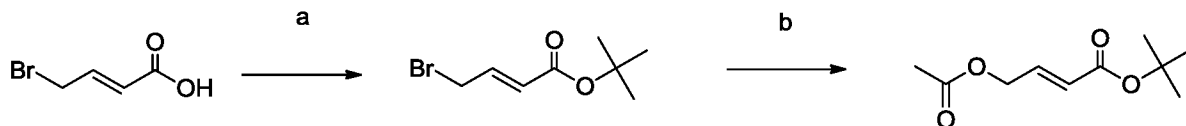


Реагенти та умови: (a) йод, імідазол, трифенілфосфін, ДХМ, 0 °С; (b) 2-метил-[1,8]-нафтиридин, LiN(TMS)₂, ТГФ, 0 °С; (c) 4М HCl в діоксані.

(R)-трет-бутил 3-(гідроксиметил)піролідин-1-карбоксилат є комерційно доступним від Fluorochem або BePharm Ltd, та 2-метил-[1,8]-нафтиридин є комерційно доступним, наприклад, від Manchester Organics Ltd, Aldrich або Alfa Aesar.

5 Сполуку структурної формули (VII) можуть одержувати за способами, описаними в даному документі. Як приклад сполуку структурної формули (VI), де R₄ є трет-бутилом, та, де подвійний зв'язок має (E) геометрію, можуть одержувати за способом, описаним на схемі 2.

Схема 2

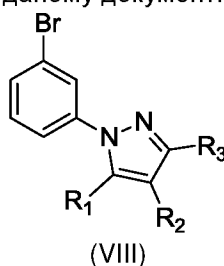


10 Реагенти та умови: (a) ізобутилен, конц. H₂SO₄, діетиловий етер, 24 год.; (b) калію ацетат, ацетонітрил, 60 °C, 4 год.

(E)-4-Бромбут-2-єнову кислоту одержували відповідно до процедури, описаної в літературі [T. Den Hartog, D. J. Van Dijken, A. J. Minnaard, B. L. Feringa *Tetrahedron: Asymmetry* 2010, 21, 1574-1584].

15 Сполуку структурної формули (VII), де R₄ є метилом, можуть одержувати за способами, описаними в даному документі. Наприклад, (E)-метил 4-ацетоксибут-2-єноат можуть одержувати за реакцією з комерційно доступного (E) метил 4-бромбут-2-єноату з ацетатною сіллю, такою як калію або натрію ацетат в прийнятному розчиннику, такому як ацетонітрил, та при підвищеній температурі, такій як 45-55 °C.

20 Сполуки структурної формули (V) можуть одержувати зі сполуки структурної формули (VIII), де R₁, R₂, та R₃ є такими, як визначено в даному документі раніше.



25 Сполуки структурної формули (V), де R₅ є H можуть одержувати за тристадійним способом, що включає реакцію сполук структурної формули (VIII) з літійорганічним реагентом, такі як n-бутиллітій, в інертному розчиннику, такому як ТГФ або 2-метилтетрагідрофуран, при низькій температурі, такій як від -60 до -78 °C, та в інертній атмосфері азоту або аргону, з наступною реакцією з триалкілборатним естером, таким як три(ізопропіл)борат, та в кінці гідролізу.

30 Альтернативно, сполуки структурної формули (V), де R₅ є пінаколом, можуть одержувати за реакцією сполук структурної формули (VIII) з біс(пінаколато)дибором (доступний від Aldrich), в присутності паладієвого каталізатора, такого як три(добензиліденацетон)дипаладій (доступний від Aldrich), та в присутності фосфінового ліганда, такого як 2-дициклогексилфосфіно-2',4',6'-триізопропілбіфеніл (X-PHOS) (доступний від Aldrich), та в присутності калію ацетату, в інертному розчиннику, такому як 1,4-діоксан, при підвищеній температурі, наприклад 110 °C, та в інертній атмосфері, такій як азот. Додавання води до реакційної суміші в кінці реакції викликає гідроліз одержаного в результаті пінаколатного естера, одержуючи потрібну боронову кислоту (V).

(3-(1H-піразол-1-іл)феніл)боронова кислота, тобто сполука (V), де кожен R₁, R₂ та R₃ представляє собою гідроген, є комерційно доступним, наприклад від ABCR GmbH.

40 Сполуки структурної формули (VIII) можуть одержувати з (3-бромфеніл)гідразину (доступний від Aldrich), або (3-бромфеніл)гідразину гідрохлориду (доступний від Amatek або Reddy & Reddy) та нагріванням з відповідною дикарбонільною сполукою, такою як пентан-2,4-діон, гептан-3,5-діон, 3-флуорпентан-2,4-діон, або маскованим діоном, таким як (E)-4-(диметиламіно)бут-3-єн-2-он, або ацетиленовим кетоном, таким як гекс-3-ін-2-он, за способами, описаними в даному документі, в експериментальній частині.

45 Слід мати на увазі, що в будь-якому зі способів, описаних вище, може бути потрібним захистити одну або більше функціональних груп. Приклади захисних груп та способи їх видалення можуть бути знайдені в T. W. Greene "Protective Groups in Organic Synthesis" (3rd edition, J. Wiley та Sons, 1999). Прийнятні амініні захисні групи включають ацил (наприклад, ацетил, карбамат (наприклад 2'',2'',2'-трихлоретоксикарбоніл, бензилоексикарбоніл або трет-бутоксикарбоніл) та арилалкіл (наприклад бензил), які можуть бути видалені гідролізом

(наприклад, застосовуючи кислоту, таку як гідрохлоридна кислота в діоксані або трифлуороцтова кислота в дихлорметані) або відновленням (наприклад, гідрогенолізом бензилу або бензилоксикарбонільної групи, або відновним видаленням 2'',2'',2'-трихлоретоксикарбонільної групи, застосовуючи цинк в оцтовій кислоті) у відповідних випадках. Інші прийнятні амініні захисні групи включають трифлуорацетил (-COCF₃), який може бути видалений основним каталізованим гідролізом.

Слід мати на увазі, що в будь-якому зі способів, описаних вище, точний порядок стадій синтезу, за яким різні групи та фрагменти, вводять в молекулу може бути змінений. В межах компетенції кваліфікованого фахівця в даній галузі буде забезпечити, які групи або фрагменти, введенні на одній стадії способом не будуть залежати від подальших перетворень та реакцій, та вибрати порядок стадій синтезу, відповідно.

Крім того, вважається, що певні сполуки формул (V) - (VIII) є новими, та, таким чином, утворюють ще додатковий аспект винаходу.

Абсолютна конфігурація сполуки (I), де R₁ представляє собою метильну групу, R₂ представляє собою атом гідрогену та R₃ представляє собою метильну групу (Приклад 1), була отримана після незалежного енантіоселективного асиметричного синтезу, одержуючи звичайну проміжну сполуку відомої абсолютної конфігурації, та порівняння спектроскопічних, оптичного обертання та аналітичної хіральної ВЕРХ зі звичайною проміжною сполукою, отриманих з обох шляхів синтезу. Звичайну проміжну сполуку одержували шляхом відновлення карбоксильної групи з Прикладу 1 літійалюмогідридом, одержуючи спиртову проміжну сполуку 33 ізомер 1 (Схема 3). Інший діастереоізомер проміжної сполуки 33 (ізомер 2) одержували з неосновного продукту проміжної сполуки 13 (Ізомер 2) шляхом відновлення літійалюмогідридом та каталітичним гідрогенуванням одержаного в результаті нафтиридинового спирту над 5 % Rh на вугіллі.

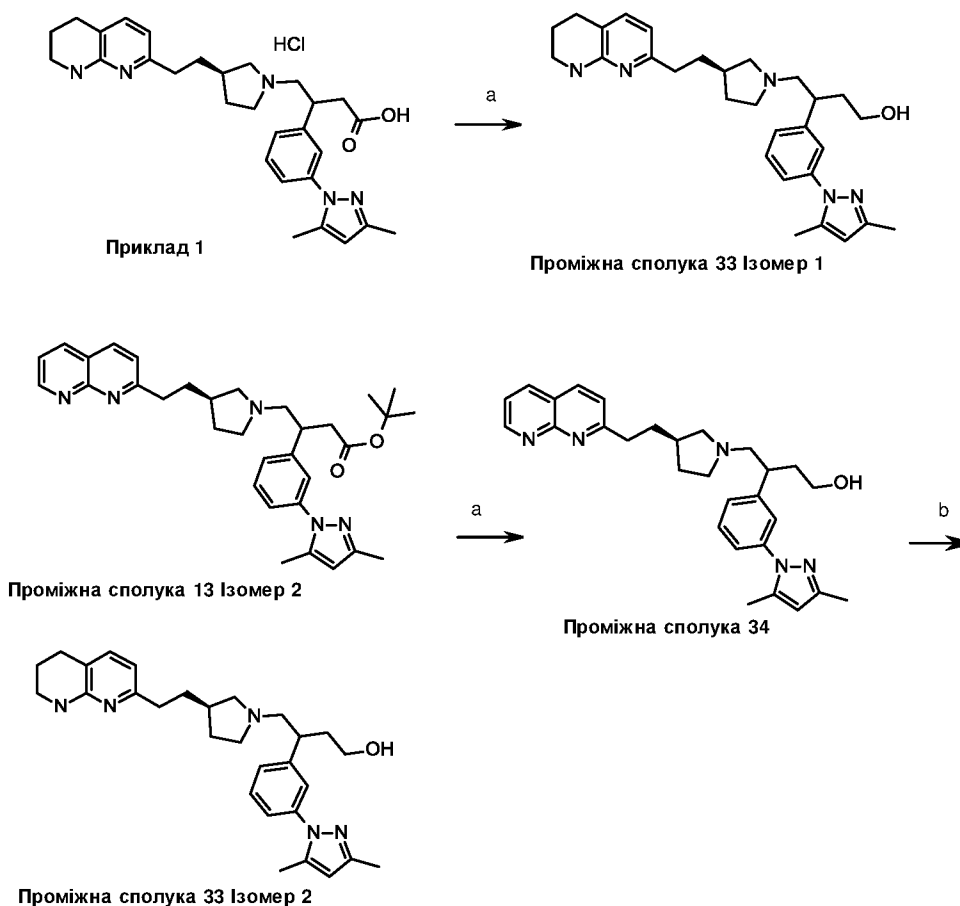


Схема 3. Реагенти та умови: (a) LiAlH₄, ТГФ; (b) H₂, 5% Rh/C, EtOH

Незалежний синтез розпочатий шляхом перетворення проміжної сполуки 9 у проміжну сполуку 35, застосовуючи трет-бутил 2-бромацетат, паладію діацетат, три(*o*-толіл)фосфін та трикалій фосфат (Схема 4). трет-бутиловий естер видаляли з допомогою ТФО, одержуючи проміжну сполуку 36, яку потім естерифікують з метанолом, одержуючи проміжну сполуку 37. Останній алкілували трет-бутил 2-бромацетатом, одержуючи рацемічну проміжну сполуку 38. Рацемат 38 розділяли на його два енантіомери, ізомер 1 та ізомер 2, застосовуючи препаративну хіральну ВЕРХ. Ізомер 1 проміжної сполуки 38 мав оптичне обертання +81 в CHCl_3 , тоді як ізомер 2 мав оптичне обертання -82. Метилловий естер кожного енантіомера проміжної сполуки 38 гідролізували окремо, використовуючи гідроксид літію та гідроген пероксид, одержуючи проміжну сполуку 39 ізомер 1 та ізомер 2. Ізомер 1 мав оптичне обертання +42, тоді як ізомер 2 мав оптичне обертання -41.

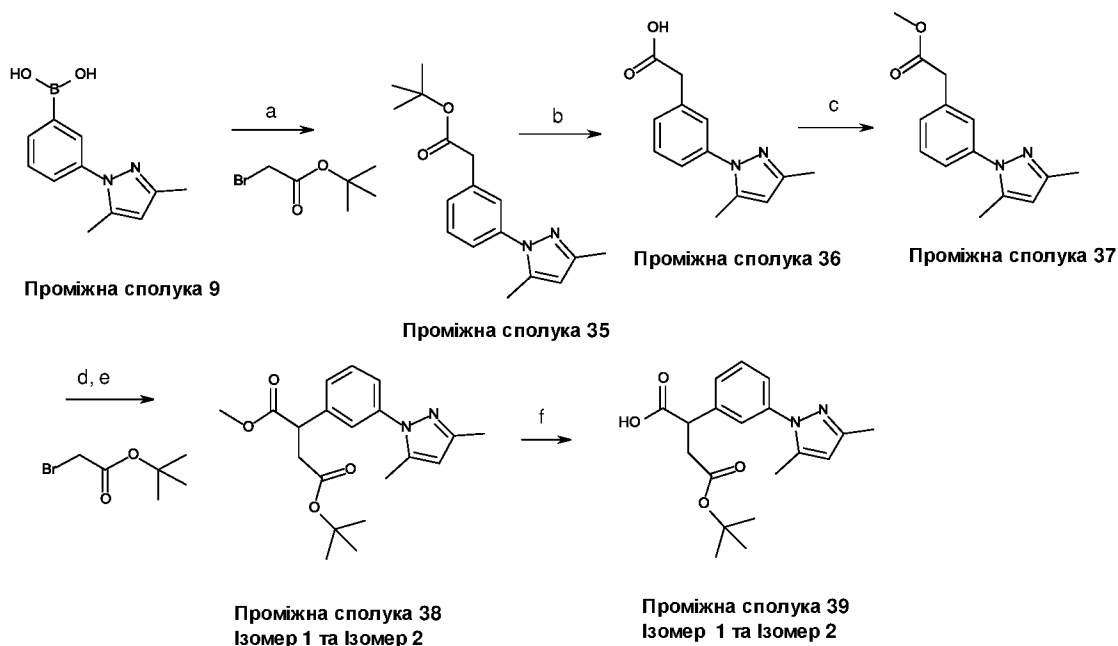


Схема 4 Реагенти та умови: (a) $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, $\text{P}(\text{o-толіл})_3$, K_3PO_4 , ТГФ, кип'ятіння зі зворотним холодильником; (b) ТФО, ДХМ; (c) MeOH , HCl , кип'ятіння зі зворотним холодильником; (d) $\text{LiN}(\text{TMS})_2$, ТГФ, -78°C ; (e) Розділення препаративною хіральною ВЕРХ; (f) LiOH , H_2O_2 , ТГФ, 0°C

Абсолютну конфігурацію кожного з енантіомерів проміжної сполуки 39 одержували за незалежним асиметричним синтезом, використовуючи методологію Еванса. Таким чином, проміжну сполуку 36 перетворювали в проміжну сполуку 40, застосовуючи комерційно доступний (*S*)-4-бензилоксазолідин-2-он (Схема 5). Проміжна сполука 40 спочатку енолізували, застосовуючи літій гексаметилдизилазид при -78°C та потім алкілували трет-бутил 2-бромацетатом, одержуючи проміжну сполуку 41 (основний ізомер) у вигляді діастереоізомеру, одержаного алкілуванням енолату з менш утрудненого боку. Неосновний компонент представляв собою ізомер, одержаний алкілуванням енолату з більш утрудненого боку (проміжна сполука 42). Гідроліз основного ізомера (проміжна сполука 41) з гідроксидом літію та гідрогенпероксидом дав очікуваний (*S*)-енантіомер проміжної сполуки 39, який мав оптичне обертання +65. Таким чином, проміжна сполука 39 ізомер 1 має (*S*)-конфігурацію.

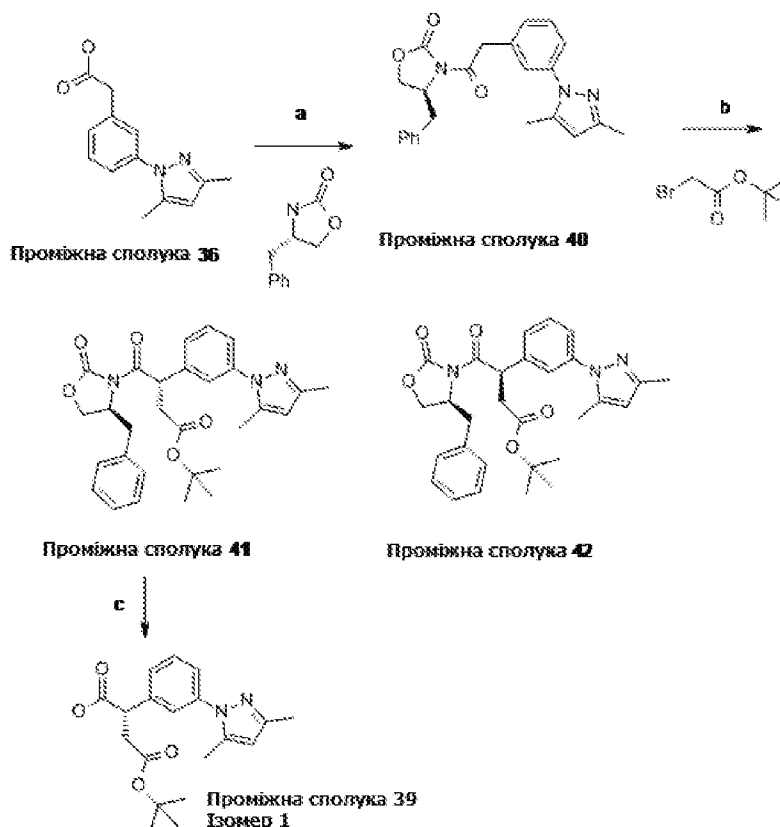


Схема 5. Реагенти та умови: (a) півалоїлхлорид, ДІПЕА, ТГФ, $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$; (b) $\text{LiN}(\text{TMS})_2$, ТГФ, $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$; (c) LiOH , H_2O_2 , ТГФ, $0\text{ }^{\circ}\text{C}$

- 5 Проміжну сполуку 3 потім ацилювали (S)-енантіомером проміжної сполуки 39 (ізомер 1) в присутності EDC, N-гідроксибензтриазолу та N-метилморфоліну, одержуючи проміжну сполуку 43, яку перетворювали в проміжну сполуку 44 шляхом каталітичного гідрогенування над 5% Rh/C (Схема 6). трет-бутиловий естер 44 відщеплювали ТФО, одержуючи проміжну сполуку 45, яку відновлювали спочатку комплексом боран-ТГФ, та потім літійалюмогідридом, одержуючи проміжну сполуку 46. За ^1H ЯМР спектром 600 МГц, оптичним обертанням та аналітичною хіральною ВЕРХ основний компонент проміжної сполуки 46 був ідентичним даним, отриманим для проміжної сполуки 33 ізомер 1. Тому конфігурація бензильного асиметричного центра проміжної сполуки 33 ізомера 1 має (S)-конфігурацію.
- 10

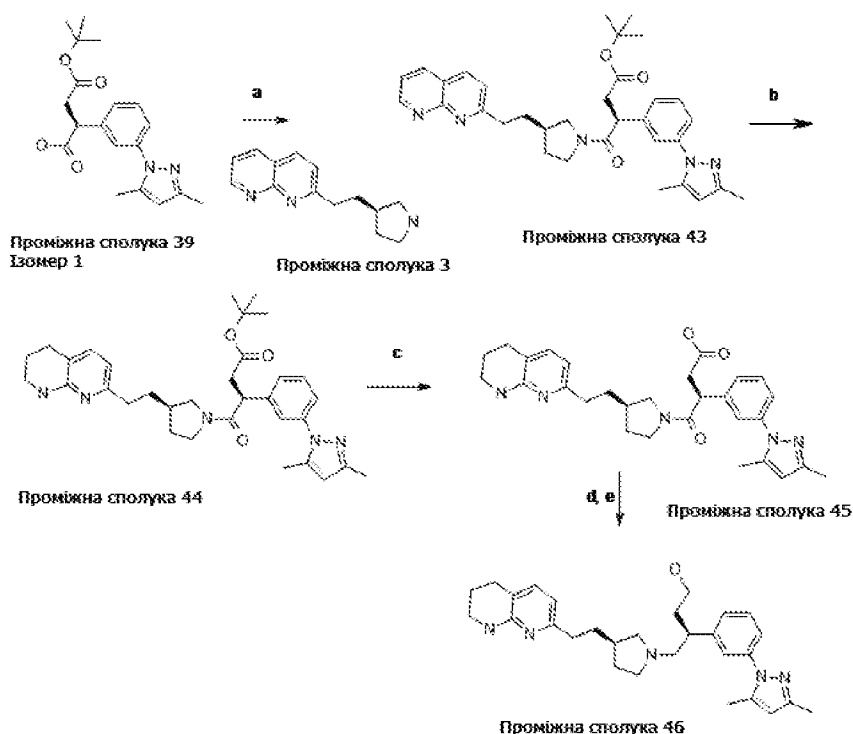


Схема 6. Реагенти та умови: (a) EDC, НОВТ, NMM, ДХМ; (b) H_2 , 5% Rh/C, EtOH; (c) ТФО, ДХМ; (d) VH_3 .ТГФ; (e) $LiAlH_4$, ТГФ, 60 °С

СПОСОБИ ЗАСТОСУВАННЯ

Сполуки формули (I) та їх солі, як вважається, є інгібіторами активності рецептора інтегрину, зокрема, активності рецептора $\alpha_v\beta_6$, та таким чином мають потенційне застосування в лікуванні захворювань або станів, для яких показаною є сполука $\alpha_v\beta_6$.

Винахід, таким чином, передбачає сполуку формули (I) або її фармацевтично прийнятну сіль для застосування в терапії. Сполука формули (I) або її фармацевтично прийнятна сіль може бути для застосування в лікуванні захворювання або стану, для якого показаним є антагоніст рецептора $\alpha_v\beta_6$.

Винахід таким чином передбачає сполуку формули (I) або її фармацевтично прийнятну сіль для застосування в лікуванні захворювання або стану, для якого показаним є антагоніст рецептора $\alpha_v\beta_6$.

Крім того, передбаченим є застосування сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятної солі у виробництві лікарського засобу для лікування захворювання або стану, для якого показаним є антагоніст рецептора $\alpha_v\beta_6$.

Крім того, передбаченим є спосіб лікування захворювання або станів, для якого показаним є антагоніст рецептора $\alpha_v\beta_6$, у суб'єкта, що потребує цього, який включає введення терапевтично ефективної кількості сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятної солі.

Відповідно, суб'єктом, що потребує цього, є ссавець, зокрема людина.

Як використовується в даному документі, термін "ефективна кількість" означає таку кількість лікарського засобу або фармацевтичного агента, яка буде викликати біологічну або медичну відповідь тканини, системи, тварини або людини, яка досліджується, наприклад, дослідником або клініцистом. Крім того, термін "терапевтично ефективна кількість" означає будь-яку кількість, яка, в порівнянні з відповідним суб'єктом, який не отримував такої кількості, в результаті призводить до покращеного стану, загоювання, попередження або покращення захворювання, розладу, або побічного ефекту, або зниження швидкості прогресування захворювання або розладу. Термін також включає в межі свого обсягу кількості, ефективні для підвищення нормальної фізіологічної функції.

Фіброзні захворювання включають формування надлишкової волокнистої сполучної тканини в органі або тканині в репаративному або реактивному процесі. антагоністи $\alpha_v\beta_6$, як вважають, є корисними в лікуванні різних таких захворювань або станів, включаючи ті, які залежать від функції інтегрину $\alpha_v\beta_6$ та від активації трансформуючого фактора росту бета за рахунок альфа v інтегринів. Захворювання можуть включати, але не обмежуються цим, легеневий фіброз, наприклад, ідіопатичний легеневий фіброз, неспецифічну інтерстиціальну пневмонію (NSIP), звичайну інтерстиціальну пневмонію (UIP), синдром Германського-Пудлака, прогресуючий

масивний фіброз (ускладнення від пневмоконіозу у працівників вугільної промисловості), легеневий фіброз, пов'язаний із захворюванням сполучної тканини, фіброз дихальних шляхів при бронхіальній астмі та ХОЗЛ, фіброз, пов'язаний з гострим респіраторним дистрес-синдромом (ARDS), гостре пошкодження легенів; радіаційно-індукований фіброз; сімейний легеневий фіброз; легенева гіпертензія); нирковий фіброз (діабетичну нефропатію, IgA нефропатію, вовчаковий нефрит; фокальний сегментарний гломерулосклероз (ФСГС), трансплантатну нефропатію, аутоімунну нефропатію, медикаментозно індуковану нефропатію, пов'язану з гіпертензією нефропатію, нефрогенний системний фіброз); фіброз печінки (індукований вірусом фіброз (наприклад, гепатит С або В), аутоімунний гепатит, первинний біліарний цироз, алкогольну хворобу печінки, неалкогольну жирову хворобу печінки, включаючи неалкогольний стеатогепатит (НАСГ), вроджений фіброз печінки, первинний склерозуючий холангіт, медикаментозно-індукований гепатит, цироз печінки); фіброз шкіри (гіпертрофічні рубці, склеродермію, келоїди, дерматоміозит, еозинофільний фасциїт, контрактуру Дюпюїтрена, синдром Елерса-Данло, епідермолізу бульозну дистрофічну хворобу Пейроні, оральний підслизовий фіброз); очний фіброз (AMD, діабетичний макулярний набряк, сухість очей, глаукому); фіброз серця (застійну серцеву недостатність, ендоміокардіальний фіброз, гіпертрофічну кардіоміопатію (HCM), дилатаційну кардіоміопатію (DCM), аритмогенну кардіоміопатію правого шлуночка (ARVC), гіпертонічне захворювання серця, кардіосаркоїдоз та інші форми серцевої недостатності) та інші різні фіброзні стани (середостінний фіброз, мієлофіброз, зачеревинний фіброз, захворювання Крона, нейрофіброматоз, маткові лейоміоми (фіброміоми), хронічне відторгнення трансплантата органу). Додаткові переваги можуть бути для додаткового антагонізму $\alpha_v\beta_5$, або $\alpha_v\beta_8$.

Крім того, передракові ураження або рак, пов'язаний з інтегринами $\alpha_v\beta_6$, також можуть лікувати (дані можуть включати, але не обмежуються цим, рак ендометрію, базально-клітинний рак, рак печінки, товстої кишки, шийки матки, ротової порожнини, підшлункової залози, молочної залози та раку яєчників, саркома Капоші, гігантоклітинні пухлини та рак, пов'язаний зі стромою). Умови, які можуть отримати переваги від ефектів на ангиогенез, також можуть мати переваги (наприклад, солідні пухлини).

Термін "захворювання або стан, для якого показаним є інгібітор $\alpha_v\beta_6$ ", призначений для того, щоб включати будь-яке або всі із зазначених вище станів захворювань.

В одному варіанті здійснення захворювання або стан, для якого показаним є інгібітор $\alpha_v\beta_6$, вибирають з ідіопатичного легеневого фіброзу.

КОМПОЗИЦІЇ

Незважаючи на те, що існує можливість для застосування в терапії сполуки формули (I), а також її фармацевтично прийнятні солі, яку можуть вводити у вигляді несформульованої хімічної речовини, вона, як правило, є присутньою як активний інгредієнт в фармацевтичній композиції.

Представлений винахід, таким чином, передбачає в наступному аспекті фармацевтичну композицію, яка містить сполуку формули (I) або її фармацевтично прийнятну сіль та один або більше фармацевтично прийнятних носіїв, розріджувачів та/або ексципієнтів. Сполуки формули (I) та фармацевтично прийнятні солі, є такими, як описано вище. Носій(і), розріджувач(і) або ексципієнт(и) повинні бути прийнятними в сенсі бути сумісними з іншими інгредієнтами композиції та не шкідливими для своїх реципієнтів.

Відповідно до іншого аспекту винаходу також передбаченим є спосіб одержання фармацевтичної композиції, який включає змішування сполуки формули (I), або її фармацевтично прийнятної солі, з одним або більше фармацевтично прийнятними носіями, розріджувачами або ексципієнтами. Фармацевтична композиція може бути для застосування в лікуванні будь-якого зі станів, описаних в даному документі, .

Крім того, передбаченою є фармацевтична композиція для лікування захворювань або станів, для яких передбаченим є інгібітор рецептора $\alpha_v\beta_6$, яка містить сполуку формули (I) або її фармацевтично прийнятну сіль.

Крім того, передбаченою є фармацевтична композиція, яка містить від 0,05 до 1000 мг сполуки формули (I) або її фармацевтичної солі та від 0,1 до 2 г одного або більше фармацевтично прийнятних носіїв, розріджувачів або ексципієнтів.

Оскільки сполуки формули (I) є призначеними для застосування в фармацевтичних композиціях, легко буде зрозуміти, що кожна з них є переважно передбаченою в фактично чистій формі, наприклад, щонайменше, 60 % чистоти, більш прийнятно, щонайменше, 75 % чистоти та переважно, щонайменше, 85 % чистоти, зокрема, щонайменше, 98 % чистоти (% за масою від масової основи).

Фармацевтичні композиції можуть бути представлені в одиничних дозованих формах, які містять попередньо визначену кількість активного інгредієнта на одиничну дозу. Переважні одиничні дозовані композиції є такими, що містять денну дозу або піддозу, або відповідну її частину, активного інгредієнта. Такі одиничні дози, таким чином, можуть вводити більше, ніж один раз на день. Переважні одиничні дозовані композиції є такими, що містять денну дозу або піддозу (для введення більше, ніж один раз на день), як в даному документі зазначено вище, або відповідну її частину, активного інгредієнта.

Фармацевтичні композиції можуть бути адаптовані для введення будь-яким відповідним способом, наприклад, пероральним (включаючи букальний або сублінгвальний), ректальним, інгаляційним, інтраназальним, місцевим (включаючи букальний, сублінгвальний або трансдермальний), вагінальним або парентеральним (включаючи підшкірний, внутрішньом'язовий, внутрішньовенний або інтрадермальний) шляхом. Такі композиції можуть одержувати за будь-яким способом, відомим в галузі фармації, наприклад, шляхом внесення в поєднання активного інгредієнта з носієм(ями) або ексципієнтом(ами).

В одному варіанті здійснення фармацевтична композиція є адаптованою для назального або інгаляційного введення.

Дозовані форми для назального або інгаляційного введення можуть бути зручно сформульовані як аерозолі, розчини, суспензії, гелі або сухі порошки.

Для композицій прийнятних та/або адаптованих для інгаляційного введення, переважним є те, що сполука за винаходом знаходиться у формі зі зменшеним розміром частинок, та більш переважно форму зі зменшеним розміром частинок одержують або можуть одержувати шляхом мікронізації. Переважний розмір частинки сполуки або солі зі зменшеним розміром (наприклад, мікронізованої) визначають за значенням D50 приблизно 0,5-10 мікрон (наприклад, як виміряно, застосовуючи лазерну дифракцію).

Аерозольні препарати, наприклад, для інгаляційного введення, можуть містити розчин або високодисперсну суспензію активної речовини в фармацевтично прийнятному водному або неводному розчиннику. Аерозольні препарати можуть бути представлені в одиничних або багатодозованих кількостях в стерильній формі в герметично закритому контейнері, який може приймати форму картриджа або перезаповнюватись для застосування з пристроєм для розпилення або інгалятором. Альтернативно, герметично закритий контейнер може бути одиничним пристроєм для дозування, таким як одиничний дозований назальний інгалятор або аерозольний розпилювач, оснащений дозуючим клапаном (інгалятор з відміряними дозами), який є призначеним для утилізації після того, як вміст контейнера буде вичерпаним.

Якщо лікарська форма містить аерозольний розпилювач, вона переважно містить прийнятний пропеллент під тиском, такий як стиснене повітря, діоксид карбону або органічний пропеллент, такий як гідрофлуоркарбон (HFC). Прийнятні HFC пропелленти включають 1,1,1,2,3,3,3-гептафлуорпропан та 1,1,1,2-тетрафлуоретан. Аерозольні дозовані форми також можуть приймати форму насоса-розпилювача. Аерозоль під тиском може містити розчин або суспензію активної сполуки. Це може вимагати включення додаткових ексципієнтів, наприклад, спів-розчинників та/або поверхнево-активних речовин, щоб покращити дисперсійні характеристики та гомогенність суспензійних препаратів. Препарати-розчини також можуть вимагати додаткових спів-розчинників, таких як етанол. Інші ексципієнти-модифікатори також можуть бути включеними, щоб покращити, наприклад, стабільність, та/або смак, та/або масові характеристики дрібнодисперсних частинок (кількість та/або профіль) препарату.

Для фармацевтичних композицій, прийнятних та/або адаптованих для інгаляційного введення, фармацевтична композиція може бути сухою порошковою інгаляційною композицією. Така композиція може містити порошкову основу, таку як лактоза, глюкоза, трегалоза, маніт або крохмаль, сполуку формули (I) або її сіль (переважно в формі зі зменшеним розміром частинки, наприклад, в мікронізованій формі), та необов'язково ефективний модифікатор, такий як L-лейцин або іншу амінокислоту та/або солі металів стеаринової кислоти, такі як стеарат магнію або кальцію. Переважно, суха порошкова інгаляційна композиція містить суху порошкову суміш лактози та сполуки формули (I) або її солі. Лактоза переважно представляє собою гідрат лактози, наприклад, моногідрат лактози та/або переважно є інгаляційного класу та/або високоякісного класу лактозою. Переважно, розмір частинки лактози визначають за 90 % або більше (за масою або за об'ємом) частинок лактози, що становлять менше 1000 мікрон (мікрометрів) (наприклад, 10-1000 мікрон, наприклад, 30-1000 мікрон) в діаметрі, та/або 50 % або більше частинок лактози, що становлять менше 500 мікрон (наприклад 10-500 мікрон) в діаметрі. Більше переважно, розмір частинки лактози визначають за 90 % або більше частинок лактози, що становлять менше 300 мікрон (наприклад, 10-300 мікрон, наприклад, 50-300 мікрон) в діаметрі, та/або 50 % або більше частинок лактози, що становлять менше 100 мікрон в

діаметрі. Необов'язково, розмір частинки лактози визначають за 90 % або більше частинок лактози, що становлять менше 100-200 мікрон в діаметрі, та/або 50 % або більше частинок лактози, що становлять менше 40-70 мікрон в діаметрі. Найбільш важливо, переважним є те, що від приблизно 3 до приблизно 30 % (наприклад, приблизно 10 %) (за масою або за об'ємом) частинок є меншими, ніж 50 мікрон, або меншими, ніж 20 мікрон в діаметрі. Наприклад, без обмеження, прийнятною інгаляційною класу лактозою є E9334 лактоза (10 % тонкоподрібненої) (Borculo Domo Ingredients, Hanzeplein 25, 8017 JD Zwolle, Neteplands).

Необов'язково, зокрема, для сухих порошкових інгаляційних композицій, фармацевтична композиція для інгаляційного введення може бути включеною в багаторазові герметично закриті дозовані контейнери (наприклад, які містять суху порошкову композицію), який встановлюється в повздовжньому напрямку в смужку або стрічку всередині прийнятного інгаляційного пристрою. Контейнер є розривне або відкриваючим плівку за вимогою, та доза, наприклад, сухої порошкової композиції може бути введена шляхом інгаляції через пристрій, такий як DISKUS™ пристрій, що випускається фірмою GlaxoSmithKline. DISKUS™ інгаляційний пристрій є, наприклад, описаним в GB 2242134 A, та в такому пристрої, щонайменше, один контейнер для фармацевтичної композиції у вигляді порошку (контейнер або контейнери, переважно, які є багаторазовими герметично закритими дозованими контейнерами, встановлений поздовжньо в смужку або стрічку) визначають між двома елементами зняття захисного покриття прикріпленого один до одного; пристрій містить: засіб визначення відкритого місця для зазначеного контейнера або контейнерів; засіб для зняття захисного покриття елементів один від одного в положення відкритості, щоб відкрити контейнер; та випускний отвір, суміжно з відкритим контейнером, через яке користувач може вдихати фармацевтичну композицію у вигляді порошку з відкритого контейнера.

Сполуки за винаходом можуть бути сформульованими у вигляді рідкого препарату для доставки з дозатора рідини, наприклад, дозатора рідини, який містить дозуючу насадку або дозуючий отвір, через який відміряна доза рідкого препарату дозується при застосуванні користувачем, що прикладає силу до механізму насоса дозатора рідини.

Такі дозатори рідини, як правило, забезпечуються резервуаром з декількома відміряними дозами рідкого препарату, де дози є необов'язковими при послідовних спрацьовуваннях насоса. дозуюча насадка або отвір можуть бути сконфігурованими для введення в ніздрі користувача для розпилення дозування рідкого препарату в порожнину носа. Дозатор рідини вищевказаного типу є описаним та проілюстрованим в WO-A-2005/044354, повний зміст якої є включеним в даний документ у вигляді посилання. Дозатор має корпус, в якому знаходиться пристрій викиду рідини, що має компресійний насос, встановлений в контейнері для утримання рідкого препарату. Корпус має, щонайменше, один керований пальцем бічний важель, який виконаний з можливістю переміщення всередину відносно корпусу, щоб підняти контейнер вгору в корпусі, щоб викликати в насосі стиснення та перекачування насосом відміряні дози препарату з стовбура насоса через назальну насадку корпусу. Особливо переважним рідинним дозатором є загального типу дозатор, показаний на фігурах 30-40 з WO-A-2005/044354.

Композиції інгаляційного або інтраназального введення також можуть вводити в легені та інші ділянки дихальних шляхів з допомогою розпилення. Такі композиції можуть бути водними розчинами або суспензіями. Розчини для інгаляції розпиленням можуть бути сформульованими з додаванням агентів, таких як кислота або луг, буферні солі, регулюючі ізотонічність агенти, поверхнево-активні речовини або протимікробні засоби, такі як бензилалконію хлорид (BAC). Композиція може бути стерильною та не містити протимікробний консервант. Вони можуть бути стерилізовані, наприклад, шляхом фільтрування або нагрівання в автоклаві. Вони можуть бути представлені у вигляді нестерильного розчину. Разова одинична доза терапевтично ефективною кількості сполуки за представленим винаходом може передбачатись як попередньо змішаний, попередньо відміряний препарат, в одному контейнері.

В іншому варіанті здійснення фармацевтична композиція є адаптованою для перорального введення.

Фармацевтичні композиції адаптовані для перорального введення можуть бути представлені у вигляді окремих одиниць, таких як капсули або таблетки; порошки або гранули; розчини або суспензії в водних або неводних рідинах; їстівні піни або муси; або рідкі емульсії олія-у-воді або рідкі емульсії вода-в-олії.

Наприклад, для перорального введення у формі таблетки або капсули, активний компонент лікарського засобу можуть поєднувати з пероральним, нетоксичним фармацевтично прийнятним інертним носієм, таким як етанол, гліцерин, вода, тощо. Порошки, прийнятні для включення в таблетки або капсули можуть одержувати шляхом зменшення сполуки до прийнятного дрібного розміру (наприклад, шляхом мікронізації) та змішування з аналогічно

підготовленим фармацевтичним носієм, таким як їстівний вуглевод, як, наприклад, крохмаль або маніт. Ароматизатор, консервант, диспергируючий агент та барвник також можуть бути присутніми.

Капсули можуть бути виготовлені шляхом приготування порошкової суміші, як описано вище, та заповнення утвореним желатинових оболонках. До операції заповнення до порошкової суміші можуть бути додані ковзкі речовини та змащувальні речовини, такі як колоїдний діоксид силіцію, тальк, магнію стеарат, кальцію стеарат або твердий поліетиленгліколь. Для покращення доступності лікарського засобу при проковтуванні капсули також може бути доданий агент, що сприяє розпаданню або солюбілізації, такий як агар-агар, кальцію карбонат або натрію карбонат.

Більш того, за бажанням або необхідністю, також в суміш можуть бути включені прийнятні зв'язуючі агенти, ковзкі речовини, змащувальні речовини, підсолоджувачі, ароматизатори, розпушуючі агенти та барвники. Прийнятні зв'язуючі агенти включають крохмаль, желатин, природні цукри, такі як глюкоза або бета-лактоза, кукурудзяні підсолоджувачі, природні та синтетичні смоли, такі як гуміарабік, трагакант або натрію альгінат, карбоксиметилцелюлоза, поліетиленгліколь, воски, тощо.

Змащувальні речовини, які використовують в даних дозованих формах включають натрію олеат, натрію стеарат, магнію стеарат, натрію бензоат, натрію ацетат, натрію хлорид, тощо.

Розпушувачі включають, без обмеження, крохмаль, метилцелюлозу, агар, бентоніт, ксантанову камедь, тощо. Таблетки формулюють, наприклад, шляхом одержання порошкової суміші, гранулювання або брикетування, додавання змащувальної речовини та розпушувача, та пресування в таблетки. Порошкову суміш одержують шляхом змішування сполуки, відповідним чином подрібненого, з розріджувачем або основою, як описано вище, та необов'язково, зі зв'язуючою речовиною, такою як карбоксиметилцелюлоза, альгінат, желатин або полівінілпіролідон, розчином уповільнювача, такого як парафін, прискорювачем розсмоктування, таким як четвертинна сіль, та/або абсорбуючим агентом, таким як бентоніт, каолін або дикальцію фосфат. Порошкову суміш можуть гранулювати шляхом змочування зв'язуючою речовиною, такою як сироп, крохмальна паста, гуміарабіка або розчини целюлозних або полімерних речовин, та пропускання через сито. Як альтернатива грануляції, порошкову суміш можуть пропускати через таблеткову машину, та в результаті формуються неповні куски, які розбиваються на гранули. Гранули можуть змащувати, щоб запобігти прилипанню до формоутворюючих штамів таблетування шляхом додавання стеаринової кислоти, стеаратної солі, тальку або мінеральної олії. Змащену суміш потім пресують в таблетки. Сполуки за представленим винаходом також можуть поєднуватись з сипучим інертним носієм та пресуватись в таблетки безпосередньо, без проходження через стадії гранулювання або комкування. Прозоре або непрозоре захисне покриття, що складається з щільного покриття шелаком, покриття цукром або полімерним матеріалом та поліруюче покриття з воску може бути передбаченим. Барвники можуть додавати до даних покриттів, щоб розрізнити різні одиничні дозування.

Пероральні рідини, такі як розчин, сиропи та еліксири можуть одержувати в дозованій одиничній формі, таким чином, що надана кількість містить попередньо визначену кількість сполуки. Сиропи можуть одержувати шляхом розчинення сполуки в прийнятному ароматизованому водному розчині, тоді як еліксири готують шляхом застосування нетоксичного алкогольного носія. Суспензії можуть формулювати шляхом диспергування сполуки в нетоксичному носії. Крім того, можуть додавати солюбілізатори та емульгатори, такі як етоксильовані ізостеарилові спирти та поліоксі етиленсорбітові етери, консерванти, смакові добавки, такі як олія м'яти перцевої, або натуральні підсолоджувачі, або сахарин, або інші штучні підсолоджувачі, тощо.

За необхідності, дозовані одиничні композиції для перорального введення можуть бути мікрокапсульованими. Препарат також можуть одержувати, щоб подовжувати або підтримувати вивільнення, як наприклад шляхом нанесення або заливання конкретної речовини в полімери, віск або подібне.

Сполуки за винаходом також можуть вводити у формі ліпосомних систем доставки, таких як невеликі одношарові пухирці, великі одношарові пухирці та багатшарові пухирці. Ліпосоми можуть бути утворені з різних фосфоліпідів, таких як холестерин, стеариламін або фосфатидилхоліні.

Фармацевтичні композиції, адаптовані для трансдермального введення можуть бути представлені у вигляді окремих пластирів, призначених залишатися в тісному контакті з епідермісом реципієнта протягом тривалого періоду часу.

Фармацевтичні композиції, адаптовані для місцевого введення, можуть формулювати у вигляді мазей, кремів, суспензій, лосьйонів, порошків, розчинів, паст, гелів, спреїв, аерозолів або олій.

Для лікування ока або інших зовнішніх тканин, наприклад, ротової порожнини та шкіри, композиції переважно застосовуються як місцева мазь або крем. При формулюванні в мазь, активний інгредієнт можуть застосовувати з мазьовою основою, що здатна змішуватись з парафіном або водою. Альтернативно, активний інгредієнт може бути сформульовано в крем з олія-у-воді кремовою основою або основою вода-в-олії.

Фармацевтичні композиції, адаптовані для місцевого введення в око, включають очні краплі, де активний інгредієнт є розчиненим або суспендованим в прийнятному носії, зокрема, водному розчиннику.

Фармацевтичні композиції, адаптовані для місцевого введення в ротову порожнину, включають таблетки для розсмоктування, пастилки та ополіскувачі для ротової порожнини.

Фармацевтичні композиції, адаптовані для ректального введення, можуть бути представлені у вигляді супозиторіїв або клізм.

Фармацевтичні композиції, адаптовані для вагінального введення, можуть бути представлені у вигляді вагінальних супозиторіїв, тампонів, кремів, гелів, паст, пін або спреєвих препаратів.

Фармацевтичні композиції, адаптовані для парентерального введення включають водні та неводні стерильні ін'єкційні розчини для підшкірного, внутрішньовенного або внутрішньом'язового введення, які можуть містити антиоксиданти, буфери, бактеріостатичні агенти та розчинені компоненти, які роблять композицію ізотонічною з кров'ю призначеного реципієнта; та водні та неводні стерильні суспензії, які можуть містити суспендуючі агенти та загущуючі агенти. можуть бути представлені в одноступованих або багаторазових контейнерах, наприклад, герметичних ампулах та флаконах, та можуть зберігатися у висушеному при заморожуванні (ліофілізованому) стані, що вимагає тільки додавання стерильного рідкого носія, наприклад води для ін'єкцій, безпосередньо перед використанням. Приготовлені для негайного введення ін'єкційні розчини та суспензії можуть одержувати зі стерильних порошків, гранул та таблеток.

Терапевтично ефективна кількість сполуки за винаходом буде залежати від ряду чинників, включаючи, наприклад, вік та маса суб'єкта, точний стан, що вимагає лікування та його тяжкість, природу препарату та шлях введення, та в кінці кінців буде визначатись на розсуд лікаря або ветеринара. В фармацевтичній композиції, кожна лікарська форма для перорального або парентерального введення переважно містить від 0,01 до 3000 мг, більше переважно від 0,5 до 1000 мг, сполуки за винаходом, в перерахунку на вільну основу.

Лікарська форма для назального або інгаляційного введення переважно містить 0,001-50 мг, більше переважно 0,01-50 мг, ще більш переважно від 1 до 50 мг, сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятної солі, в перерахунку на вільну основу.

Для введення розпиленого розчину або суспензії, лікарська форма, як правило, містить 1-15 мг, наприклад, 2-10 мг, або 4-6 мг, які можуть відповідним чином доставлятися один раз на день, два рази на день або більше, ніж два рази на день. Сполука за винаходом може бути перадбаченою у вигляді сухого або ліофілізованого порошку для відновлення в аптеці або пацієнтом, або може, наприклад, бути перадбаченою у водній сольовий розчин.

Фармацевтично прийнятні сполуки за винаходом можуть вводити денною дозою (для дорослого пацієнта), наприклад, пероральною або парентеральною дозою 0,01-3000 мг на день або 0,5-1000 мг на день, або назальною або інгаляційною дозою 0,001-50 мг на день, або 0,01-50 мг на день, або 10-50 мг, сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятної солі, в перерахунку на вільну основу. Дана кількість може бути надана в одиничній дозі на день або більше, як правило, набором (таким як дві, три, чотири, п'ять або шість) піддоз на день, таким чином, що загальна денна доза становитиме стільки ж. Ефективну кількість її солі, можуть визначати за кількісним співвідношенням ефективної кількості сполуки формули (I) per se.

Сполуки за винаходом можуть застосовувати самостійно або в поєднанні з іншими терапевтичними агентами. Комбіновані терапії відповідно до представленого винаходу, таким чином, включають введення, щонайменше, однієї сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятної солі, та застосування, щонайменше, одного іншого фармацевтично активного агента. Переважно, комбіновані терапії відповідно до винаходу включають введення, щонайменше, однієї сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятної солі, та, щонайменше, одного іншого фармацевтично активного агента. Сполуку(и) за винаходом та інший(і) фармацевтично активний(і) агент(и) можуть вводити разом в одній фармацевтичній композиції або окремо та, при введенні окремо це можуть здійснювати одночасно або послідовно

в будь-якому порядку. Кількості сполуки() за винаходом та інших фармацевтично активного(их) агента(ів) та відносні періоди часу введення будуть вибиратися для того, щоб досягти бажаний комбінований терапевтичний ефект.

5 Таким чином, в наступному аспекті, передбачається комбінація, яка містить сполуку за винаходом та, щонайменше, один інший фармацевтично активний агент.

Таким чином, в одному аспекті, сполуку та фармацевтичні композиції відповідно до винаходу можуть використовувати в комбінації з, або включають, одним або більше інші терапевтичні агенти. Слід мати на увазі, що коли сполуку за представленим винаходом вводять в комбінації з одним або більше іншими терапевтично активними агентами, яку, як правило, вводят інгаляційним, внутрішньовенним, пероральним, інтраназальним або іншим шляхом, то одержану в результаті фармацевтичну композицію можуть вводити тим самим шляхом. Альтернативно, індивідуальні компоненти композиції можуть вводитись різними шляхами.

10 Сполуки формули (I) та їх фармацевтично прийнятні солі можуть використовувати в поєднанні з одним або більше інших агентів, які можуть бути корисними в попередженні або лікуванні алергічного захворювання, запального захворювання, аутоімунного захворювання, таких як агенти антиген-імунотерапії, анти-гістаміни, кортикостероїди (наприклад, флутиказону пропіонат, флутиказону фуруат, беклометазону дипропіонат, будесонід, циклесонід, мометазону фуруат, триамцинол, флунізолід), НПЗП, лейкотриєнові модулятори (наприклад, монтелукаст, зафірлукаст, пранлукаст), iNOS інгібітори, інгібітори триптази, інгібітори IKK2, інгібітори p38, інгібітори Syk, інгібітори еластази, антагоністи бета-2 інтегрину, агоністи аденозину a2a, антагоністи хемокіну, такі як антагоністи CCR3 або антагоністи CCR4, інгібітори вивільнення медіаторів, такі як натрію кромоглікат, інгібітори 5-ліпоксигенази (zyflo), антагоністи DP1, антагоністи DP2, інгібітори p13K дельта, інгібітори ITK, LP (лізофосфатидні) інгібітори або інгібітори FLAP (5- ліпоксигеназа активуючого протеїну) (наприклад натрію 3-(3-(трет-бутилтію)-1-(4-(6-етоксипіридин-3-іл)бензил)-5-((5-метилпіридин-2-іл)метоксі)-1H-індол-2-іл)-2,2-

15 диметилпропаноат), метотрексат та аналогічні агенти; терапії моноклональними антитілами, такими як анти-IgE, анти-TNF, анти-IL-5, анти-IL-6, анти-IL-12, анти-IL-1 та аналогічні агенти; рецепторні терапії, наприклад, етанерцепт та аналогічні агенти; антиген неспецифічні імунотерапії (наприклад, інтерферон або інші модулятори рецептору цитокінів/хемокінів, цитокіну/хемокіну, агоністи або антагоністи цитокіну, агоністи TLR та аналогічні агенти), інгібітори синтезу TGFβ, наприклад пірфенідон, інгібітори тирозинкінази, спрямовані на фактор росту ендотелію судин (VEGF), тромбоцитарний фактор росту (PDGF) та фактор росту фібробластів (FGF), рецепторні кінази, наприклад інтеданіб (BIBF-1120) та іматинібу мезилат (Gleevec), антагоністи рецептору ендотеліну, наприклад амбрісентан або мацитентан, антиоксиданти, такі як N-ацетилцистеїн (NAC або флуїмуцил), антибіотики широкого спектру дії, такі як тетрацикліни, наприклад, міноцикліну гідрохлорид, інгібітори фосфодієстерази 5 (PDE5), наприклад, силденафіл. Альтернативно, анти αβ₆ антитіла, наприклад, моноклональні антитіла, такі як ті, що описані в WO2003100033A2 можуть використовувати в комбінації.

Кваліфікованому фахівцю в даній галузі буде ясно, що, за необхідності, інший(і) терапевтичний(і) інгредієнт(и) можуть використовувати у вигляді солі, наприклад, як солі лужного металу або аміну, або як кислотні адитивні солі, або проліки, або як естери, наприклад, естери нижчих алкілів, або як сольвати, наприклад, гідрати, щоб оптимізувати активність, та/або стабільність, та/або фізичні характеристики, такі як розчинність, терапевтичного інгредієнта. Крім того, буде ясно, що, за необхідності, терапевтичні інгредієнти можуть використовувати в оптично чистій формі.

45 Комбінації, зазначені вище, можуть бути зручно представлені для застосування у вигляді фармацевтичної композиції, та, таким чином, фармацевтичні композиції, які містять комбінацію, як визначено вище, разом з фармацевтично прийнятним розріджувачем або носієм, представляють собою наступний аспект винаходу.

Індивідуальні сполуки з таких комбінацій можуть вводити або послідовно, або одночасно окремими або комбінованими фармацевтичними композиціями. Переважно, індивідуальні сполуки будуть вводити одночасно в комбінованій фармацевтичній композиції. Кваліфікованому фахівцю в даній галузі легко буде оцінити відповідні дози відомих терапевтичних агентів.

55 СКОРОЧЕННЯ

Наступний перелік передбачає визначення певних скорочень, які використовуються в даному документі. Слід мати на увазі, що перелік не є вичерпним, але значення скорочень, не визначених в даному документі нижче, будуть очевидні кваліфікованим фахівцям у даній галузі.

Ac (ацетил)

ВЕСЕФ-АМ (2',7'-біс-(2-карбоксіетил)-5-(та-6)-карбоксіфлуоресціїн АМ естер)

60 Bu (бутил)

- CHAPS (3-[(3-коламідопропіл)диметиламонію]-1-пропансульфонат)
 CV (об'єм колонки)
 ДХМ (дихлорметан)
 ДМФ (N, N-диметилформамід)
 5 ДМСО (диметилсульфоксид)
 ДСК (диференційна скануюча калориметрія)
 Et (етил)
 EtOH (етанол)
 EtOAc (етилацетат)
 10 год. (година/години)
 HCl (гідрохлоридна кислота)
 HEPES (4-(2-гідроксіетил)-1-піперазинетансульфонова кислота)
 л (літри)
 М (молярні)
 15 MDAP (мас-спрямована авто-препаративна ВЕРХ)
 Me (метил)
 MeOH (метанол)
 хв (хвилина/хвилини)
 МТБЕ (метил трет-бутиловий етер)
 20 Ph (феніл)
ⁱPr (ізопропіл)
 (R)-BINAP (R)-(+)-2,2'-біс(дифенілфосфіно)-1,1'-бінафталін
 Si (силіцію ділксид)
 SPE (твердофазна екстракція)
 25 TEA (триетиламін)
 ТФО (трифлуороцтова кислота)
 ТГФ (тетрагідрофуран)
 ТШХ (тонкошарова хроматографія)
 XRPD (рентгенівська порошкова дифрактометрія)
 30 Всі посилання на насичений сольовий розчин стосується насиченого водного розчина хлориду натрію.
- ДЕТАЛІ ЕКСПЕРИМЕНТУ**
 Аналітична РХ-МС
 Аналітичну РХ-МС проводили в одній з наступних систем А, В або С.
 35 УФ-детектування для всіх систем представляло собою в середньому сигнал на довжині хвилі від 220 нм до 350 нм та мас-спектри реєстрували на мас-спектрометрі, застосовуючі чередування сканування в позитивному та негативному режимі електроспрей іонізації.
- Деталі експерименту РХ-МС системи А-В як зазначено в даному документі є наступними:
- 40 Система А
 Колонка: 50 мм × 2,1 мм ID, 1,7 мкм Acquity UPLC BEH C₁₈ колонка
 Швидкість потоку: 1 мл/хв.
 Температура: 40 °С
- Розчинники: А: 10 мм амонію бікарбонат у вода з регулюванням до рН10
 розчином амонію
 В: Ацетонітрил
- | Градiєнт: | Час (хв.) | А% | В% |
|-----------|-----------|----|-----|
| | 0 | 99 | 1 |
| | 1,5 | 3 | 97 |
| | 1,9 | 3 | 97 |
| | 2,0 | 0 | 100 |
- Система В
 45 Колонка: 50 мм × 2,1 мм ID, 1,7 мкм Acquity UPLC BEH C₁₈
 Швидкість потоку: 1 мл/хв.
 Температура: 40 °С

Розчинники: А: 0,1% об./об. розчин трифлуороцтової кислоти у воді
 В: 0,1% об./об. розчин трифлуороцтової кислоти в ацетонітрилі

Градiєнт:	Час (хв.)	A%	B%
	0	97	3
	1,5	0	100
	1,9	0	100
	2,0	97	3

Система С

Колонка: 50 мм × 2,1 мм ID, 1,7 мкм Acquity UPLC BEH C18 колонка

Швидкість потоку: 1 мл/хв

5 Температура: 40 °С

Розчинники: А: 0,1% об./об. розчин мурашиної кислоти у воді
 В: 0,1% об./об. розчин мурашиної кислоти в ацетонітрилі

Градiєнт:	Час (хв.)	A%	B%
	0	97	3
	1,5	0	100
	1,9	0	100
	2,0	97	3

Мас-спрямована авто-препаративна ВЕРХ

10 Сирі продукти чистили, застосовуючи MDAP ВЕРХ за одним з наступних способів А-С. Час виконання становив 15 хв., якщо не зазначено інше. УФ-детектування для всіх способів представляло собою середній сигнал на довжині хвилі від 210 нм до 350 нм та мас-спектри реєстрували на мас-спектрометрі, застосовуючі чередування сканування в позитивному та негативному режимі електроспрей іонізації.

Спосіб А:

15 Спосіб А проводили, застосовуючи XBridge C₁₈ колонку (як правило 100 мм × 30 мм в.д. 5 мкм діаметр заповнення) при температурі навколишнього середовища. Розчинниками, які застосовували, були:

A=10 мм водний амонію бікарбонат з регулюванням до рН 10 розчином амонію.

B = ацетонітрил.

Градiєнт, який застосовували, :

20

Час (хв.)	Швидкість потоку (мл/хв)	% А	% В
0	40	85	15
1	40	85	15
10	40	45	55
11	40	1	99
15	40	1	99

Спосіб В:

25 Спосіб А проводили, застосовуючи X Bridge C₁₈ колонку (як правило 100 мм × 30 мм в.д. 5 мкм діаметр заповнення) при температурі навколишнього середовища. Розчинниками, які застосовували, були:

A=10 мм водний амонію бікарбонат з регулюванням до рН 10 розчином амонію.

B = ацетонітрил.

Градiєнт, який застосовували, :

Час (хв.)	Швидкість потоку (мл/хв)	% А	% В
0	40	85	15
1	40	85	15
20	40	45	55
21	40	1	99
25	40	1	99

Спосіб С:

Спосіб С проводили, застосовуючи XBridge C₁₈ колонку (як правило 150 мм × 30 мм в.д. 5 мкм діаметр заповнення) при температурі навколишнього середовища.

5 Розчинниками, які застосовували, були:

A=0,1 % об./об. розчин мурашиної кислоти у воді.

B=0,1 % об./об. розчин мурашиної кислоти в ацетонітрилі.

Градiєнт, який застосовували, :

Час (хв.)	Швидкість потоку (мл/хв)	% A	% B
0	40	50	50
1	40	50	50
10	40	1	99
10,5	40	1	99
15	40	1	99

10

УФ-детектування представляло собою середній сигнал на довжині хвилі від 210 нм до 350 нм.

ОДЕРЖАННЯ ПРОМПКНОЇ СПОЛУК

Проміжна сполука 1: (R)-трет-бутил 3-(йодметил)піролідин-1-карбоксилат

15

В 5 л скляну реакційну ємність з вакуумною рубашкою (Radley's LARA) завантажували ДХМ (2 л), потім трифенілфосфін (339 г, 1,29 моль) та імідазол (88 г, 1,29 моль), та температуру знижували до 0 °С. Потім порціями додавали йод (328 г, 1,29 моль) протягом 30 хв., в той же час, підтримуючи температуру реакції при 0 – 5 °С, щоб контролювати екзотерму. Під час додавання, утворювався густий коричневий осад. Осад давали нагрітися до кімнатної температури протягом 15 хв., та потім перемішували при кімнатній температурі протягом додаткових 30 хв. Розчин (R)-трет-бутил 3-(гідроксиметилпіролідин-1-карбоксилату (200 г, 994 ммоль) (доступний від Fluorochem або VePharm Ltd) в ДХМ (200 мл) додавали порціями протягом 15 хв., в той же час, підтримуючи температуру реакції 24 – 30 °С. Реакційну суміш перемішували протягом 2 год., потім розбавляли ТБМЕ (8 л), та фільтрували. Фільтрат концентрували під зниженим тиском, та залишок (700 г) розтирали в діетиловому етері (2 л) на бані крига – вода, одержуючи 333 г сирого продукту. Порцію 27 г сирого продукту чистили, застосовуючи хроматографію на силікагелевому картриджі (100 г), елюючи градієнтом 0 – 50 % етилацетат – циклогексан протягом 30 хв. Відповідні фракції об'єднували та випаровували в вакуумі, одержуючи бажану сполуку (16,33 г, 5 %) у вигляді жовтої олії. Сиру речовину, що залишилась, (~ 306 г) чистили, застосовуючи хроматографію на силікагелевому картриджі (1,5 кг), елюючи градієнтом 0 – 30 % етилацетат-циклогексан понад 9,5 об'ємів колонки. Відповідні фракції об'єднували та випаровували в вакуумі, одержуючи бажану сполуку (233,94 г, 76 %) у вигляді світло-жовтої олії: PX-МС (Система А) RT=1,19 хв., 100 %, ES+ve m/z 312 (M+H)⁺; [α]_D²⁰ = + 23 (с 1,00 в EtOH).

20

25

30

35

Проміжна сполука 2: (R)-трет-Бутил 3-(2-(1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-карбоксилат

Перемішуваний розчин 2-метил-1,8-нафтиридину (57,5 г, 399 ммоль) (доступний від Manchester Organics) та (R)-трет-бутил 3-(йодметил)піролідин-1-карбоксилату (124,2 г, 399 ммоль) (Проміжна сполука 1) в ТГФ (1 л) охолоджували до 0 °С та обробляли в атмосфері азоту розчином літію бiс(триметилсиліл)аміду в ТГФ (1M, 399 мл, 399 ммоль) протягом 20 хв., та реакційну суміш перемішували при 0 °С протягом 3 год. Реакцію гасили насиченим розчином амонію хлориду (500 мл) та водою (500 мл), та додавали етилацетат (1 л). Шари розділяли, та водну фазу екстрагували додатковим етилацетатом (1 л). Об'єднані органічні шари сушили (MgSO₄), фільтрували та випаровували в вакуумі. Коричневу олію, що залишилась (162 г), чистили, застосовуючи хроматографію на силікагелевому картриджі (750 г), елюючи градієнтом 0 – 100 % [етилацетат в (5 % MeOH – 95 % етилацетат)] понад 8 об'ємів колонки. Відповідні фракції об'єднували та випаровували в вакуумі, одержуючи бажану сполуку (46,65 г, 36 %) у вигляді оранжевої твердої сполуки: PX-МС (Система А) RT=0,99 хв., 97 %, ES+ve m/z 328 (M+H)⁺, [α]_D²⁰ = + 22 (с 1,00 в EtOH).

40

45

Проміжна сполука 3: (R)-2-(2-(Піролідин-3-іл)етил)-1,8-нафтиридин, дигідрохлоридна сіль

Розчин (R)-трет-бутил 3-(2-(1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-карбоксилату (104,71 г, 320 ммоль) в ДХМ (500 мл) повільно обробляли HCl (4M в 1,4-діоксан (200 мл, 800 ммоль) при кімнатній температурі. Суміш перемішували протягом ночі при кімнатній температурі, за цей час великий твердий кусок утворювався в колбі. Додавали MeOH (~ 100 мл), щоб допомогти розчинити тверду речовину та продовжували перемішування. PX-МС показав ~ 72 % продукт, та

50

~ 25 % вихідної речовини. Додавали додаткову кількість 4М HCl в 1,4-діоксані (100 мл) та продовжували перемішування протягом 1 год. Розчинник випаровували в вакуумі, одержуючи бажану сполуку (89,66 г, 93 %), у вигляді твердої речовини пурпурного кольору: PX-MS (Система В) RT=0,34 хв., 100 %, ES+ve m/z 228 (M+H)⁺.

5 Проміжна сполука 4: (E)-трет-Бутил 4-бромбут-2-еноат

Газоподібний ізобутилен (363 мл, 3,82 моль) барботували через перемішуваний розчин (E)-4-бромбут-2-енової кислоти (210 г, 1,27 ммоль) [T. Den Hartog, D. J. Van Dijken, A. J. Minnaard, B. L. Feringa *Tetrahedron Asymmet.* 2010, 21, 1574-1584] та концентрованої H₂SO₄ (20,35 мл, 382 ммоль) в діетиловому етері (1 л) при -40 °С протягом 30 хв в сталевому автоклаві. Суміш герметизували в автоклаві, та суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 24 год. Реакційну суміш охолоджували до 0 °С, потім підлужнювали триетиламіном (250 мл) та екстрагували ДХМ (3 × 200 мл). Органічний шар сушили та концентрували в вакуумі. Залишок розтирали в н-пентані (200 мл), одержуючи бажану сполуку (140 г, 50 %), у вигляді коричневого сиропу: ¹H ЯМР δ (CDCl₃, 400 МГц) 6,89 (дт, J=15, 7,5 Гц, 1H), 5,95 (дт, J=15, 1 Гц, 1H), 3,99 (дд, J=7,5, 1 Гц, 2H), 1,48 (с, 9H). Водний шар підкислювали 2М HCl до рН 2, та екстрагували EtOAc (2 × 250 мл), об'єднані органічні шари промивали водою (2 × 500 мл), сушили над Na₂SO₄, випаровували в вакуумі, одержуючи непрореаговану вихідну речовину (50 г) у вигляді майже білої твердої речовини.

Проміжна сполука 5: (E)-трет-Бутил 4-ацетоксибут-2-еноат

20 Перемішуваний розчин (E)-трет-бутил 4-бромбут-2-еноату (280 г, 1,27 моль) в ацетонітрилі (1,2 л) обробляли ацетатом калію (186 г, 1,9 моль) при кімнатній температурі. Суміш перемішували при 60 °С протягом 4 год., та реакцію контролювали за ТШХ (10 % діетилового етеру в петролейному етері, R_f=0,4, детектування в УФ). Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури, тверду речовину видаляли фільтруванням та промивали діетиловим етером (600 мл). Фільтрат концентрували під зниженим тиском, та залишок чистили застосовуючи флеш колоночну хроматографію на силікагелі, елюючи 10 % діетиловим етером в петролейному етері. Відповідні фракції об'єднували та випаровували, одержуючи бажану сполуку (148 г, 58 % вихід) у вигляді світло-жовтої речовини: ¹H ЯМР δ (CDCl₃, 400 МГц) 6,82 (дт, J=15,5, 5 Гц, 1H), 5,94 (дт, J=15,5, 2 Гц, 1H), 4,71 (дд, J=5, 2 Гц, 2H), 2,11 (с, 3H), 1,49 (с, 9H).

30 Проміжна сполука 6: 1-(3-Бромфеніл)-5-метил-1H-піразол

Розчин (3-бромфеніл)гідразину гідрохлориду (доступний від Amatek) (300 г, 1,34 моль) в оцтовій кислоті (2,2 л) обробляли діізопропілетиламіном (234 мл, 1,34 моль), потім (E)-4-(диметиламіно) бут-3-ен-2-оном (доступний від Acros) (152 г, 1,34 моль), та реакційну суміш нагрівали при 90 °С протягом 2 год. Реакційну суміш концентрували під зниженим тиском, залишок виливали в насичений розчин NaHCO₃, та екстрагували етилацетатом (2 × 1 л). Органічну фазу відокремлювали та сушили над Na₂SO₄. Фільтрат випаровували в вакуумі, та залишок чистили застосовуючи флеш силікагелеву (100-200 меш) колоночну хроматографію, застосовуючи 0 – 4,5 % етилацетат в петролейному етері. Відповідні фракції збирали та концентрували під зниженим тиском, одержуючи 1-(3-бромфеніл)-3-метил-1H-піразол (Проміжна сполука 29) (40 г, 13 %). Наступне елювання колонки 20 – 40 % етилацетатом в петролейному етері давало бажану сполуку (205 г, 64 %) у вигляді жовтої рідини: ¹H ЯМР δ (CDCl₃; 600 МГц) 7,67 (т, J=1,9 Гц, 1H), 7,59 (д, J=1,5 Гц, 1H), 7,54 – 7,49 (м, 1H), 7,43 – 7,40 (м, 1H), 7,37 – 7,32 (м, 1H), 6,21 (д, J=0,7 Гц, 1H), 2,38 (с, 3H).

Проміжна сполука 7: (3-(5-Метил-1H-піразол-1-іл)-феніл)боронова кислота

45 Розчин 1-(3-бромфеніл)-5-метил-1H-піразолу (проміжна сполука 6) (200 г, 844 ммоль) в ТГФ (2 л) повільно обробляли триізопропілборатом (доступний від Avra) (294 мл, 1,265 моль), потім охолоджували до -78 °С, та додавали n-BuLi (844 мл, 2109 ммоль) протягом 30 хв при -78 °С. Суміш перемішували при -78 °С протягом 2 год. Реакцію контролювали за ТШХ (Рухома фаза: 30 % EtOAc в петролейному етері). Реакційну суміш виливали в 2М HCl, та ТГФ видаляли під зниженим тиском. Залишок підлужнювали 2М NaOH та екстрагували етилацетатом (2 × 700 мл). Водний шар нейтралізували (рН~7) 2М HCl та екстрагували етилацетатом (2 × 1 л). Органічні шари об'єднували, сушили над безводним Na₂SO₄ та випаровували в вакуумі, одержуючи бажану сполуку (120 г, 69 %) у вигляді білої твердої речовини. MS ES+ve m/z 203 (M+H)⁺.

55 Проміжна сполука 8: 1-(3-Бромфеніл)-3,5-диметил-1H-піразол

60 Розчин (3-бромфеніл)гідразину гідрохлориду (доступний від Reddy & Reddy) (45 г, 200 ммоль) та пентан-2,4-діону (Aldrich) (30,2 г, 302 ммоль) в ДХМ (225 мл) обробляли по краплям концентрованим H₂SO₄ (1,073 мл, 20,13 ммоль) та перемішували в атмосфері азоту при кімнатній температурі протягом 16 год. Реакційну суміш розбавляли ДХМ (500 мл), та промивали водою (2 × 250 мл). Органічний шар сушили над Na₂SO₄ та концентрували під зниженим тиском. Залишок чистили, застосовуючи колоночну хроматографію на силікагелі (100-

200 меш), елюючи 5 % етилацетатом в гексаназ, одержуючи бажану сполуку (30 г, 59 %) у вигляді світло-коричневої рідини: $^1\text{H ЯМР } \delta$ (CDCl_3 , 400 МГц) 7,71 (т, J=2 Гц, 1H), 7,57 – 7,49 (м, 2H), 7,46 – 7,40 (т, J=8 Гц, 1H), 6,07 (с, 1H), 2,31 (с, 3H), 2,18 (с, 3H).

Проміжна сполука 9: (3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)боронова кислота

Розчин 1-(3-бромфеніл)-3,5-диметил-1H-піразолу (проміжна сполука 8) (30 г, 119 ммоль) в ТГФ (500 мл) обробляли триізопропілборатом (доступний від Avra) (41,6 мл, 179 ммоль), охолоджували до $-78\text{ }^\circ\text{C}$, обробляли по краплям 2,5 М n-BuLi (119 мл, 299 ммоль) протягом 1 год. в атмосфері аргону, та перемішували протягом 2 год. при $-78\text{ }^\circ\text{C}$. Реакційну суміш гасили водним розчином HCl (2M, 150 мл), нейтралізували 2M розчином NaOH, та екстрагували етилацетатом (2 × 300 мл). Об'єднані органічні розчини сушили над Na_2SO_4 та концентрували під зниженим тиском. Залишок розтирали з пентаном та діетиловим етером (1:1) та тверду речовину збирали фільтруванням, одержуючи бажану сполуку (15 г, 57 %) у вигляді майже білої твердої речовини: MS ES+ve m/z 217 (M+H)⁺.

Проміжна сполука 10: 1-(3-Бромфеніл)-5-етил-3-метил-1H-піразол

Суспензію (3-бромфеніл)гідразину гідрохлориду (доступний від Anichem) (2,0 г, 8,9 ммоль) та триетиламіну (1,25 мл, 8,9 ммоль) в EtOH (20 мл) швидко перемішували до однорідності, та потім додавали гекс-3-ін-2-он (доступний від MP Biomedicals або Alfa Aesar) (0,887 г, 8,9 ммоль), та суміш нагрівали до $50\text{ }^\circ\text{C}$ протягом 10 хв. Суміш обробляли концентрованою HCl (12M, 2,5 мл), нагрівали до $100\text{ }^\circ\text{C}$ протягом 20 хв. Суміш концентрували під зниженим тиском, та залишок розподіляли між етилацетатом та водним розчином натрію бікарбонату. Органічний розчин промивали водним розчином NaHCO_3 , насиченим сольовим розчином, сушили (MgSO_4) та випаровували під зниженим тиском. Залишок чистили, застосовуючи хроматографію на силікагелевому (330 г) картриджі, елюючи градієнтом 0 – 100 % ДХМ – циклогексан понад 10 CV. Відповідні фракції об'єднували та випаровували під зниженим тиском, одержуючи бажану сполуку (1,95 г, 82 %) у вигляді помаранчевої олії: $^1\text{H ЯМР } \delta$ (DMCO-d_6 , 400 МГц) 7,67 (т, J=2 Гц, 1H), 7,58 (дт, J=8, 2 Гц, 1H), 7,49 (м, 1H), 7,47 – 7,42 (м, 1H), 6,11 (с, 1H), 2,66 (кв, J=7,5 Гц, 2H), 2,19 (с, 3H), 1,13 (т, J=7,5 Гц, 3H).

Проміжна сполука 11: (3-(5-Етил-3-метил-1H-піразол-1-іл)феніл)боронова кислота

Суміш 1-(3-бромфеніл)-5-етил-3-метил-1H-піразолу (Проміжна сполука 10) (2,795 г, 10,54 ммоль) та триізопропілборату (доступний від Aldrich) (2,4 г, 12,7 ммоль) обробляли при $-78\text{ }^\circ\text{C}$ n-BuLi (1,6M, 13,2 мл) по краплям, та підтримуючи темп. нижче $-60\text{ }^\circ\text{C}$. Суміші давали нагрітися до кімнатної температури протягом ночі. Суміш потім гасили 2M розчином HCl (11 мл, до pH 7) та розподіляли між етилацетатом. Органічний розчин промивали насиченим сольовим розчином та сушили (MgSO_4). Фільтрат концентрували під зниженим тиском, та олію, що залишилась, розтирали із сумішшю циклогексан-петролейний етер ($40\text{-}60^\circ$) до одержання твердої речовини. Тверду речовину збирали фільтруванням, промивали петролейним етером, потім невеликою кількістю води, сушили на повітрі, та потім сушили в вакуумі при $60\text{ }^\circ\text{C}$, одержуючи бажану сполуку (623 мг, 26 %) у вигляді жовтої твердої речовини: MS ES+ve m/z 231 (M+H)⁺.

Проміжна сполука 12: (R, E)-трет-Бутил 4-(3-(2-(1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бут-2-еноат

Суміш (E)-трет-бутил 4-ацетоксид-2-еноату (Проміжна сполука 5) (14,20 г, 70,9 ммоль) та 1,1'-біс(дифенілфосфіно)фероцен]дихлорпаладію(II) [$\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$] (4,72 г, 6,45 ммоль) в ДХМ (100 мл) перемішували протягом 15 хв. в атмосфері азоту, потім додавали розчин (R)-2-(2-(піролідин-3-іл)етил)-1,8-нафтиридину дигідрохлориду (Проміжна сполука 3) (17 г, 57 ммоль) в діізопропілетиламіні (56,3 мл, 322 ммоль) та ДХМ (200 мл). Одержували прозорий червоний розчин, який перемішували в атмосфері азоту протягом 24 годин. Суміш розподіляли між ДХМ та вода (3 × 170 мл). Органічну фазу пропускали через картридж фазо-розділяючої колонки, та фільтрат концентрували під зниженим тиском. Олію, що залишилась, (27 г) завантажували в ДХМ в амінопропіловий картридж (900 г) та чистили, застосовуючи хроматографію на CombiFlash Companion XL, застосовуючи градієнт від 0 до 100 % етилацетат – циклогексан понад 10 об'ємів колонки. Відповідні фракції об'єднували та випаровували в вакуумі, одержуючи бажану сполуку (17,62 г, 85 %) у вигляді коричневої олії, яка затвердівала при стоянні: PX-MS (Система А) RT=1,05 хв., 100 %; ES+ve m/z 368 (M+H)⁺.

Проміжна сполука 13: трет-Бутил 4-((R)-3-(2-(1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)-3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)бутаноат

Розчин (3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)боронової кислоти (Проміжна сполука 9) (44,7 г, 207 ммоль) в KOH (3,8 M, 54,4 мл, 207 ммоль) обробляли розчином (R, E)-трет-бутил 4-(3-(2-(1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бут-2-еноату (Проміжна сполука 12) (40 г, 103 ммоль) в 1,4-діоксані (300 мл) та дегазували декілька разів, застосовуючи вакуум та азот протягом 5 хв. Додавали димер хлор(1,5-циклооктадієн)родію (I) (2,55 г, 5,17 ммоль), потім (R)-BINAP (6,44 г,

10,3 ммоль), та суміш дегазували протягом додаткових 5 хв. Розчин нагрівали при 90 °С протягом 60 хв. Після охолодження, реакційну суміш розподіляли між ДХМ (250 мл) та водою (200 мл). Водну фазу додатково екстрагували ДХМ (200 мл), та об'єднані органічні розчини випаровували в вакуумі. Олію, що залишилась, (95 г) розчиняли в ДХМ та чистили, застосовуючи хроматографію на амінопропіловому картриджі KPNH (900 г), елюючи градієнтом 0–50 % етилацетат–циклогексан понад 10 CV. Відповідні фракції об'єднували та випаровували в вакуумі, одержуючи коричневу олію (39 г). Аналітична хіральна ВЕРХ на Chiralpak AD-H колонці (250 мм × 4,6 мм), елюючи ізократно 20 % EtOH (що містить 0,2 % ізопропіламіну) – гептан, швидкість потоку = 1,0 мл/хв, детектування на 215 нм, показала олію, яка була сумішшю двох діастереоізомерів: Пік 1 RT=7,87 хв., 90,4 %; Пік 2 RT=9,78 хв., 9,6 %.

Суміш розділяли, застосовуючи хіральну препаративну ВЕРХ на Chiralpak AD колонці (50 мм × 200 мм), елюючи 20 % етанолу (що містить 0,2 % ізопропіламіну)–гептанах, швидкість потоку=50 мл/хв, детектування на 240 нм, збирання фракцій основного компонента з RT=11–16 хв. Об'єднані фракції випаровували під зниженим тиском, одержуючи основний ізомер бажаної сполуки (ізомер 1) (25,1 г, 45 %) у вигляді коричневої олії: PX-MC (Система А) RT=1,25 хв., ES+ve m/z 540 (M+H)⁺; Аналітична хіральна ВЕРХ на Chiralpak AD-H колонці RT=7,87 хв., >99,5 %; ¹H ЯМР δ (CDCl₃; 600 МГц) 9,07 (дд, J=4,2, 2,0 Гц, 1H), 8,15 (дд, J=8,0, 1,9 Гц, 1H), 8,08 (д, J=8,4 Гц, 1H), 7,43 (дд, J=8,0, 4,3 Гц, 1H), 7,37 (д, J=8,3 Гц, 1H), 7,37 – 7,33 (м, 1H), 7,27 (д, J=1,1 Гц, 1H), 7,27 – 7,25 (м, 1H), 7,21 (д, J=7,7 Гц, 1H), 5,98 (с, 1H), 3,31 (д, J=5,3 Гц, 1H), 3,10 – 2,95 (м, 2H), 2,85 (дд, J=15,4, 5,7 Гц, 1H), 2,84 – 2,79 (м, 1H), 2,78 – 2,71 (м, 1H), 2,75 – 2,67 (м, 1H), 2,55 – 2,47 (м, 1H), 2,48 – 2,41 (м, 1H), 2,43 – 2,35 (м, 1H), 2,30 (с, 3H), 2,27 (с, 3H), 2,26 – 2,18 (м, 1H), 2,23 – 2,13 (м, 1H), 2,02 – 1,95 (м, 1H), 1,98 – 1,91 (м, 2H), 1,50 – 1,42 (м, 1H), 1,30 (с, 9H). Фракції, що містять неосновний компонент (RT=19-25 хв.) об'єднували та концентрували під зниженим тиском, одержуючи бажану сполуку, ізомер 2 (2,03 г, 4 %) у вигляді коричневої олії: PX-MC (Система А) RT=1,25 хв., ES+ve m/z 540 (M+H)⁺; Аналітична хіральна ВЕРХ на Chiralpak AD-H колонці RT=9,78 хв., >99,5 %.

Проміжна сполука 14: трет-Бутил 3-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутаноат

Розчин трет-бутил 4-((R)-3-(2-(1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)-3-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)бутаноату (ізомер 1) (Проміжна сполука 13) (8,0 г, 14,8 ммоль) в етанолі (200 мл) перемішували швидко над 10 % Pd/C (1,58 г) в атмосфері газоподібного водню при кімнатній температурі протягом ночі. Каталізатор видаляли фільтруванням через целіт та промивали етанолом. Об'єднаний фільтрат та промиті речовини випаровували під зниженим тиском, одержуючи бажану сполуку (7,19 г, 89 %) у вигляді коричневої олії. PX-MC (Система А) RT=1,44 хв., ES+ve m/z 544 (M+H)⁺.

Проміжна сполука 15: трет-Бутил 4-((R)-3-(2-(1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)-3-(3-(5-метил-1H-піразол-1-іл)феніл)бутаноат

Розчин (3-(5-метил-1H-піразол-1-іл)феніл)боронової кислоти (Проміжна сполука 7) (12,53 г, 55,8 ммоль) в водному KOH (3,8M, 14,69 мл, 55,8 ммоль) обробляли розчином (R, E)-трет-бутил4-(3-(2-(1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бут-2-еноату (Проміжна сполука 12) (11,4 г, 27,9 ммоль) в 1,4-діоксані (196 мл), та розчин дегазували декілька разів, застосовуючи вакуум та азот протягом 5 хв. До суміші додавали димер хлор(1,5-циклооктадієн)родію(I) (0,688 г, 1,396 ммоль) та (R)-BINAP (1,738 г, 2,79 ммоль), та розчин дегазували протягом додаткових 5 хв. Реакційну суміш нагрівали при 90 °С протягом 60 хв. Після охолодження, реакційну суміш випаровували в вакуумі, та залишок розподіляли між ДХМ та водою. Водну фазу додатково екстрагували ДХМ, та об'єднані органічні розчини випаровували в вакуумі. Олію, що залишилась, (21,53 г) розчиняли в ДХМ та чистили, застосовуючи хроматографію на амінопропіловому картриджі (375 г) на CombiFlash Companion XL, елюючи градієнтом від 0 до 100 % етилацетат – циклогексан понад 12 об'ємів колонки. Відповідні фракції об'єднували та випаровували в вакуумі, одержуючи коричневу олію (13,56 г). Аналітична хіральна ВЕРХ на Chiralpak OD-H колонці (250 мм × 4,6 мм), елюючи ізократно 20 % EtOH – гептан, швидкість потоку = 1,0 мл/хв, детектування на 215 нм, показала олію у вигляді суміші двох діастереоізомерів: Пік 1 RT=15,1 хв., 8,2 %; Пік 2 RT=22,6 хв., 91,8 %. Суміш розділяли, застосовуючи хіральну препаративну ВЕРХ на Chiralpak AD колонці (50 мм × 200 мм), елюючи 30 % етанол – гептани, швидкість потоку 50 мл/хв, детектування на 215 нм, збираючи фракції основного компонента з RT=37 – 50 хв. Об'єднані фракції випаровували під зниженим тиском, та залишок далі чистили на амінопропіловому картриджі (375 г), елюючи градієнтом 0 – 100 % етилацетат – циклогексан понад 12 об'ємів колонки. Відповідні фракції об'єднували та випаровували в вакуумі, одержуючи ізомер 1 бажаної сполуки (9,06 г, 62 %) у вигляді коричневої олії: PX-MC (Система А) RT=1,20 хв, 97 %, ES+ve m/z 526 (M+H)⁺. Інші відповідні фракції

випаровували під зниженим тиском, одержуючи неосновний ізомер (ізомер 2) бажаної сполуки (1,83 г, 12 %): PX-МС (Система А) RT=1,21 хв., ES+ve m/z 526 (M+H)⁺.

Проміжна сполука 16: трет-Бутил 3-(3-(5-метил-1Н-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутаноат

5 Розчин трет-бутил 4-((R)-3-(2-(1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)-3-(3-(5-метил-1Н-піразол-1-іл)феніл)бутаноату (ізомер 1) (Проміжна сполука 15) (9,06 г, 17,2 ммоль) в етанолі (250 мл) гідрогенували над 10 % Pd/C (1,834 г) при кімнатній температурі протягом 48 год. Каталізатор видаляли фільтруванням через целіт та промивали етанолом. Об'єднаний фільтрат та промиті речовини випаровували в вакуумі, одержуючи бажану сполуку (7,68 г, 84 %) у вигляді жовтої олії: PX-МС (Система А) RT=1,40 хв, 95 %, ES+ve m/z 530 (M+H)⁺.

10 Проміжна сполука 17: трет-Бутил 4-((R)-3-(2-(1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)-3-(3-(5-етил-3-метил-1Н-піразол-1-іл)феніл)бутаноат

15 Суміш (R, E)-трет-бутил 4-(3-(2-(1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бут-2-еноату (Проміжна сполука 12) (360 мг, 0,980 ммоль), (3-(5-етил-3-метил-1Н-піразол-1-іл)феніл)боронової кислоти (Проміжна сполука 10) (676 мг, 2,94 ммоль), водн. КОН (3,8М, 0,516 мл, 1,96 ммоль), димеру хлор(1,5-циклооктадієн)родію(I) (48,3 мг, 0,098 ммоль), (R)-BINAP (122 мг, 0,196 ммоль) в 1,4-діоксані (15 мл) нагрівали протягом 3 год. при 95 °С. Реакційну суміш концентрували в вакуумі та розподіляли між ДХМ (25 мл) та водою (25 мл). Водний шар відокремлювали та екстрагували додатковим ДХМ (25 мл), та об'єднані органічні розчини концентрували в вакуумі. Залишок розчиняли в ДХМ та чистили, застосовуючи хроматографію на силікагелевому картриджі (50 г), елюючи 0 – 25 % MeOH – ДХМ. Відповідні фракції об'єднували та випаровували в вакуумі, одержуючи бажану сполуку (158 мг, 29 %) у вигляді помаранчевої олії: PX-МС (Система А) RT=1,31 хв., 81 %, ES+ve m/z 554 (M+H)⁺; Аналітична хіральна ВЕРХ Chiralpak AD (250 мм × 4,6 мм) 15 % EtOH – гептан, ізократний, швидкість потоку 25 1 мл/хв, детектування на 215 нм. RT=10,5 хв., 92,6 % (основний ізомер) та 14,8 хв., 7,4 % (неосновний ізомер); ¹H ЯМР δ (CDCl₃; 600 МГц) 9,10 (дд, J=4,2, 2,0 Гц, 1H), 8,17 (дд, J=8,1, 2,2 Гц, 1H), 8,11 (д, J=8,4 Гц, 1H), 7,46 (дд, J=8,1, 4,4 Гц, 1H), 7,41 – 7,34 (м, 2H), 7,31 – 7,21 (м, 3H), 6,03 (с, 1H), 3,74 (кв, J=7,0 Гц, 1H), 3,33 (шс, 1H), 3,11 – 2,97 (м, 2H), 2,91 – 2,70 (м, 4H), 2,63 (кв, J=7,7 Гц, 2H), 2,56 – 2,38 (м, 3H), 2,33 (с, 3H), 2,27 – 2,14 (м, 2H), 2,06 – 1,92 (м, 3H), 1,51 – 1,45 30 (м, 1H), 1,36 – 1,31 (м, 9H), 1,19 (т, J=7,5 Гц, 3H).

Проміжна сполука 18: трет-Бутил 3-(3-(5-етил-3-метил-1Н-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутаноат

35 трет-Бутил 4-((R)-3-(2-(1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)-3-(3-(5-етил-3-метил-1Н-піразол-1-іл)феніл)бутаноат (Проміжна сполука 17) (158 мг, 0,285 ммоль) гідрогенували над 10 % Pd/C (30 мг) в етанолі (10 мл) протягом 18 год. Каталізатор видаляли фільтруванням через целіт (10 г), та промивали етанолом. Об'єднаний фільтрат та промиті речовини випаровували в вакуумі, одержуючи бажану сполуку (130 мг, 82 %) у вигляді помаранчевої олії: PX-МС (Система А) RT=1,49 хв., ES+ve m/z 558 (M+H)⁺.

40 Проміжна сполука 19: трет-Бутил 4-((R)-3-(2-(1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)-3-(3-(1Н-піразол-1-іл)феніл)бутаноат

45 Суміш (R, E)-трет-бутил 4-(3-(2-(1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бут-2-еноату (Проміжна сполука 12) (333 мг, 0,906 ммоль), (3-(1Н-піразол-1-іл)феніл)боронової кислоти (доступний від ABCR GmbH) (511 мг, 2,72 ммоль), водн. КОН (3,8М, 0,477 мл, 1,81 ммоль), димер хлор(1,5-циклооктадієн)родію(I) (44,7 мг, 0,091 ммоль), (R)-BINAP (113 мг, 0,196 ммоль) в 1,4-діоксані (15 мл) нагрівали протягом 3 год. при 95 °С. Реакційну суміш концентрували в вакуумі та розподіляли між ДХМ (25 мл) та водою (25 мл). Водний шар відокремлювали та екстрагували додатковим ДХМ (25 мл), та об'єднані органічні розчини концентрували в вакуумі. Залишок розчиняли в ДХМ та чистили, застосовуючи хроматографію на силікагелевому картриджі (50 г), елюючи 0 – 25 % MeOH – ДХМ. Відповідні фракції об'єднували та випаровували в вакуумі, одержуючи бажану сполуку (128 мг, 28 %) у вигляді помаранчевої олії: PX-МС (Система А): RT=1,22 хв., ES+ve m/z 512 (M+H)⁺; Аналітична хіральна ВЕРХ Chiralpak AD (250 мм × 4,6 мм), елювання ізократно 30 % EtOH – гептан, що містить 0,1 % ізопропіламіну, швидкість потоку 50 1 мл/хв, детектування на 235 нм: RT=7,05 хв., 95 % (основний ізомер) та 12,2 хв., 5 % (неосновний ізомер).

55 Проміжна сполука 20: трет-Бутил 3-(3-(1Н-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутаноат

60 трет-Бутил 4-((R)-3-(2-(1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)-3-(3-(1Н-піразол-1-іл)феніл)бутаноат (Проміжна сполука 19) (128 мг, 0,25 ммоль) гідрогенували над 10 % Pd/C (53 мг) в етанолі (10 мл) протягом 18 год. Каталізатор видаляли фільтруванням через целіт (10 г), та промивали етанолом. Об'єднаний фільтрат та промиті речовини випаровували в вакуумі,

одержуючи бажану сполуку (100 мг, 78 %) у вигляді помаранчевої олії: PX-МС (Система А) RT=1,45 хв., ES+ve m/z 516 (M+H)⁺.

Проміжна сполука 21: 1-(3-Бромфеніл)-3,5-діетил-1H-піразол

5 Гептан-3,5-діон (доступний від Aldrich) (3,60 г, 28,1 ммоль), (3-бромфеніл)гідразин (доступний від Anichem Inc) (3,50 г, 18,7 ммоль) розчиняли в ДХМ (20 мл). Концентрувану H₂SO₄ (18M, 0,100 мл, 1,8 ммоль) додавали, та реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 18 год. Реакційну суміш концентрували в вакуумі та розподіляли між ДХМ (25 мл) та водою (25 мл), водну фазу відокремлювали та екстрагували додатковим ДХМ (25 мл). Об'єднані органічні фази концентрували в вакуумі, одержуючи бажану сполуку (3,64 г, 70 %):

10 PX-МС (Система А): RT=1,31 хв., ES+ve m/z 279/281 (M+H)⁺.

Проміжна сполука 22: (3-(3,5-діетил-1H-піразол-1-іл)феніл)боронова кислота

15 Суміш 1-(3-бромфеніл)-3,5-діетил-1H-піразолу (Проміжна сполука 21) (3,637 г, 13,03 ммоль), 2-дициклогексилфосфіно-2',4',6'-триізопропілбифенілу (X-PHOS) (доступний від Aldrich) (298 мг, 0,625 ммоль), три(добензиліденацетон)дипаладію (доступний від Aldrich) (179 мг, 0,195 ммоль), калію ацетату (3,20 г, 32,6 ммоль) та біс(пінаколато)дибору (доступний від Aldrich) (3,64 г, 14,3 ммоль) в 1,4-діоксані (75 мл) нагрівали до 110 °C протягом 4 год. До реакційної суміші додавали воду та етилацетат, та шари розділяли. Водний шар додатково двічі екстрагували EtOAc. Об'єднані органічні екстракти пропускали через гідрофобну фритту, та фільтрат випаровували в вакуумі. Залишок розчиняли в ацетонітрилі та чистили застосовуючи хроматографію з оберненою фазою (100 г), елюючи градієнтом 25 – 85 % ацетонітрил – вода, що містить 0,1 % мурашиної кислоти понад 10 CV. Відповідні фракції об'єднували та випаровували в вакуумі, одержуючи бажану сполуку (1,055 г, 33 %): PX-МС (Система А) RT=0,86 хв., ES+ve m/z 245 (M+H)⁺.

25 Проміжна сполука 23: трет-Бутил 4-((R)-3-(2-(1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідін-1-іл)-3-(3,5-діетил-1H-піразол-1-іл)феніл)бутаноат

30 Суміш (R, E)-трет-бутил 4-(3-(2-(1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідін-1-іл)бут-2-еноату (Проміжна сполука 12) (210 мг, 0,571 ммоль), (3-(3,5-діетил-1H-піразол-1-іл)феніл)боронової кислоти (Проміжна сполука 22) (283 мг, 1,16 ммоль), водн. KOH (3,8M, 0,3 мл, 1,14 ммоль), димеру хлор(1,5-циклооктадієн)родію(I) (14,1 мг, 0,03 ммоль), (R)-BINAP (35,6 мг, 0,06 ммоль) в 1,4-діоксані (5 мл) нагрівали протягом 4 год. при 95 °C. Реакційну суміш концентрували в вакуумі та розподіляли між EtOAc (100 мл) та водою (100 мл). Водний шар відокремлювали та екстрагували додатковим EtOAc (100 мл), та об'єднані органічні розчини концентрували в вакуумі. Залишок чистили, застосовуючи хроматографію на амінопропіловому SPE картриджі (50 г), елюючи 0 – 100 % EtOAc – циклогексан протягом 1 год. Відповідні фракції об'єднували та випаровували в вакуумі, одержуючи бажану сполуку (130 мг, 40 %) у вигляді помаранчевої олії: PX-МС (Система С): RT=0,97 хв., ES+ve m/z 568 (M+H)⁺; Аналітична хіральною ВЕРХ Chiralpak AD (250 мм × 4,6 мм), елювання ізократно 10 % EtOH – гептан, що містить 0,1 % ізопропіламіну, швидкість потоку 1 мл/хв, детектування на 215 нм: RT=10,5 хв., 86 % (основний ізомер) та 13,7 хв., 13 % (неосновний ізомер). Діастереоізомери розділяли, застосовуючи

40 препаративну хіральною ВЕРХ на Chiralpak AD (250 мм × 30 мм), елюючи ізократно 10 % EtOH – гептаном, що містить 0,2 % ізопропіламіну, швидкість потоку 30 мл/хв, детектування на 215 нм. Відповідні фракції об'єднували та випаровували під зниженим тиском, одержуючи основний ізомер бажаної сполуки (ізомер 1) (53 мг, 41 %): PX-МС (Система С) RT=0,95 хв., ES+ve m/z 568 (M+H)⁺; ¹H ЯМР δ (CDCl₃; 400 МГц) 9,08 (дд, J=4, 2 Гц, 1H), 8,15 (дд, J=8, 2 Гц, 1H), 8,09 (д, J=8 Гц, 1H), 7,44 (дд, J=8, 4 Гц, 1H), 7,38 (д, J=8 Гц, 1H), 7,37 – 7,34 (м, 1H), 7,27 – 7,24 (м, 2H), 7,22 (шд, J=8 Гц, 1H), 6,05 (с, 1H), 3,37 – 3,25 (br, 1H), 3,09 – 2,97 (м, 2H), 2,86 (дд, J=15, 5,5 Гц, 1H), 2,83 – 2,79 (м, 1H), 2,78 – 2,71 (м, 1H), 2,70 (кв, J=7 Гц, 2H), 2,75 – 2,67 (м, 1H), 2,62 (кв, J=7 Гц, 2H), 2,55 – 2,35 (м, 3H), 2,30 – 2,13 (м, 2H), 2,05 – 1,92 (м, 2H), 1,72 – 1,58 (м, 1H), 1,50 – 1,42 (м, 1H), 1,31 (с, 9H), 1,29 (т, J=7 Гц, 3H), 1,19 (т, J=7 Гц, 3H). Випаровування інших відповідних

50 фракцій давало неосновний діастереоізомер бажаної сполуки (ізомер 2) (5 мг, 4 %): PX-МС (Система С) RT=0,96 хв., ES+ve m/z 568 (M+H)⁺.

Проміжна сполука 24: трет-Бутил 3-(3-(3,5-діетил-1H-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідін-1-іл)бутаноат

55 трет-Бутил-4-((R)-3-(2-(1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідін-1-іл)-3-(3-(3,5-діетил-1H-піразол-1-іл)феніл)бутаноат (ізомер 1) (Проміжна сполука 23) (144 мг, 0,25 ммоль) гідрогенували над 10 % Pd/C (27 мг) в етанолі (10 мл) протягом 18 год. Каталізатор видаляли фільтруванням через целіт (10 г), та промивали етанолом. Об'єднаний фільтрат та промиті речовини випаровували в вакуумі, одержуючи бажану сполуку (116 мг, 80 %) у вигляді помаранчевої олії: PX-МС (Система А) RT=1,61 хв., ES+ve m/z 572 (M+H)⁺.

60 Проміжна сполука 25: 1-(3-Бромфеніл)-4-флуор-3,5-диметил-1H-піразол

3-флуорпентан-2,4-діон (доступний від Fluorchem) (2,84 г, 24,1 ммоль), (3-бромфеніл)гідразин (доступний від Apichem Inc) (3,0 г, 16 ммоль) розчиняли в ДХМ (20 мл). Додавали концентровану H_2SO_4 (0,171 мл, 3,21 ммоль), та реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 18 год. Реакційну суміш концентрували в вакуумі та розподіляли між ДХМ (25 мл) та водою (25 мл), водну фазу відокремлювали та екстрагували додатковим ДХМ (25 мл). Об'єднані органічні фази потім концентрували в вакуумі, одержуючи бажану сполуку (2,61 г, 60 %): РХ-МС (Система А) $RT=1,22$ хв., $ES+ve$ m/z 269/271 ($M+H$)⁺.

Проміжна сполука 26: (3-(4-флуор-3,5-диметил-1Н-піразол-1-іл)феніл)боронову кислота

Суміш 1-(3-бромфеніл)-4-флуор-3,5-диметил-1Н-піразолу (Проміжна сполука 25) (2,61 г, 9,70 ммоль), 2-дициклогексилфосфіно-2',4',6'-триізопропілбифенілу (X-PHOS) (доступний від Aldrich) (222 мг, 0,466 ммоль), три(добензиліденацетон)дипаладію (доступний від Aldrich) (133 мг, 0,146 ммоль), калію ацетату (2,38 г, 24,3 ммоль) та біс(пінаколато)дибору (доступний від Aldrich) (2,71 г, 10,67 ммоль) в 1,4-діоксані (75 мл) нагрівали до 110 °С протягом 4 год. До реакційної суміші додавали воду та етилацетат, та шари розділяли. Водний шар додатково екстрагували $EtOAc$. Об'єднані органічні екстракти пропускали через гідрофобну фритру, та фільтрат випаровували в вакуумі. Залишок розчиняли в ацетонітрилі та чистили застосовуючи хроматографію з оберненою фазою (100 г картриджі), застосовуючи градієнт 25 – 85 % ацетонітрил – вода, що містить 0,1 % мурашиної кислоти, понад 10 CV. Відповідні фракції об'єднували та випаровували в вакуумі, одержуючи бажану сполуку (400 мг, 18 %): РХ-МС (Система А) $RT=0,77$ хв., $ES+ve$ m/z 235 ($M+H$)⁺.

Проміжна сполука 27: трет-Бутил 4-((R)-3-(2-(1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідін-1-іл)-3-(3-(4-флуор-3,5-диметил-1Н-піразол-1-іл)феніл)бутаноат

Розчин (3-(4-флуор-3,5-диметил-1Н-піразол-1-іл)феніл)боронової кислота (Проміжна сполука 26) (382 мг, 1,63 ммоль), димер циклооктадієнродію(I) хлориду (121 мг, 0,245 ммоль), водний КОН (3,8М, 0,430 мл, 1,63 ммоль) в 1,4-діоксані (6 мл) перемішували при температурі навколишнього середовища протягом 5 хв. в атмосфері азоту, потім додавали (R, E)-трет-бутил 4-(3-(2-(1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідін-1-іл)бут-2-еноатциклооктадієн (Проміжна сполука 12) (300 мг, 0,82 ммоль). Реакційну суміш нагрівали при 95 °С протягом 1 год., та потім розподіляли між водою (20 мл) та $EtOAc$ (20 мл). Органічний шар концентрували під зниженим тиском, розчиняли в $MeOH$ (5 мл) та завантажували в 10 г амінопропіловий SPE картридж, який попередньо обробляли $MeOH$ (1 CV). Колонку промивали $MeOH$ (3 CV), та фракції концентрували під зниженим тиском. Залишок (385 мг) чистили, застосовуючи хроматографію з оберненою фазою на C18 (30 г) картриджі, елюючи 50 – 80 % ацетонітрилом (що містить 0,1 % аміак) в водному 10 мМ розчині амонію бікарбонат. Відповідні фракції концентрували під зниженим тиском, одержуючи бажану сполуку у вигляді суміш діастереоізомерів (70 мг, 15 %): РХ-МС (Система А) $RT=1,34$ хв., $ES+ve$ m/z 558 ($M+H$)⁺.

Проміжна сполука 28: трет-Бутил 3-(3-(4-флуор-3,5-диметил-1Н-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідін-1-іл)бутаноат

трет-Бутил4-((R)-3-(2-(1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідін-1-іл)-3-(3-(4-флуор-3,5-диметил-1Н-піразол-1-іл)феніл)бутаноат (Проміжна сполука 27) (70 мг, 0,063 ммоль) гідрогенували над 10 % Pd/C (13,4 мг) в етанолі (4 мл) протягом 4 год. Каталізатор видаляли фільтруванням через целіт, та промивали етилацетатом. Об'єднаний фільтрат та промиті речовини концентрували під зниженим тиском, одержуючи бажану сполуку (70 мг, 35 %) у вигляді жовтої олії: РХ-МС (Система А) $RT=1,50$ хв, $ES+ve$ m/z 562 ($M+H$)⁺.

Проміжна сполука 29: 1-(3-Бромфеніл)-3-метил-1Н-піразол

Розчин бут-3-ін-2-ону (1,75 мл, 22,4 ммоль), (3-бромфеніл)гідразину гідрохлориду (5,0 г, 22,4 ммоль) в $MeOH$ (20 мл) обробляли конц. HCl (0,680 мл, 22,4 ммоль), та реакційну суміш нагрівали в герметизованій мікрохвильовій ємності протягом 2 хв. при 120 °С. Реакційну суміш концентрували в вакуумі та розподіляли між ДХМ (25 мл) та водою (25 мл), водний шар відокремлювали та екстрагували додатковим ДХМ (25 мл). Об'єднані органічні розчини концентрували та чистили, застосовуючи хроматографію на силікагелевому SPE картриджі (100 г), елюючи градієнтом 0 – 100 % ДХМ – циклогексан. Відповідні фракції об'єднували та випаровували в вакуумі, одержуючи бажану сполуку (2,39 г, 45 %): РХ-МС (Система А) $RT=1,15$ хв., $ES+ve$ m/z 237/239 ($M+H$)⁺; ¹H ЯМР δ ($CDCl_3$; 600 МГц) 7,85 (т, J=2,0 Гц, 1H), 7,75 (д, J=2,4 Гц, 1H), 7,54 (ддд, J=8,2, 2,1, 0,9 Гц, 1H), 7,35 – 7,31 (м, 1H), 7,26 – 7,21 (м, 1H), 6,23 (д, J=2,4 Гц, 1H), 2,35 (с, 3H), та її регіоізомер 1-(3-бромфеніл)-5-метил-1Н-піразол (Проміжна сполука 6) (1,7 г, 32 %): РХ-МС (Система А) $RT=1,05$ хв., $ES+ve$ m/z 237/239 ($M+H$)⁺.

Проміжна сполука 30: (3-(3-Метил-1Н-піразол-1-іл)-феніл)боронова кислота

Одержували за способом, аналогічним до того, який описаний для одержання проміжної сполуки 26, виходячи з проміжної сполуки 29 (2,39 г, 10,1 ммоль), одержуючи бажану сполуку (2,23 г, 100 %): РХ-МС (Система А) RT=0,60 хв, ES+ve m/z 203 (M+H)⁺.

Проміжна сполука 31: трет-Бутил 4-((R)-3-(2-(1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)-3-(3-(3-метил-1Н-піразол-1-іл)феніл)бутаноат

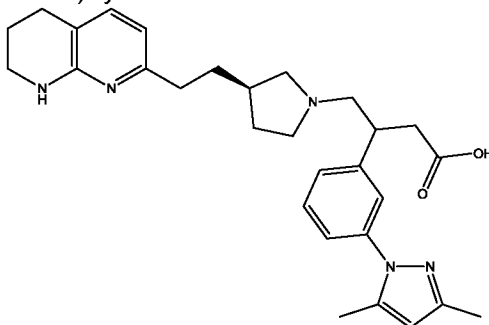
Одержували за способом, аналогічним до того, який описаний для одержання проміжної сполуки 27, виходячи з проміжної сполуки 12 (336 мг, 0,914 ммоль) та проміжної сполуки 30 (554 мг, 2,74 ммоль), одержуючи бажану сполуку (212 мг, 44 %): РХ-МС (Система А) RT=1,26 хв., ES+ve m/z 526 (M+H)⁺; Аналітична хіральна ВЕРХ Chiralcel OD (250 мм × 4,6 мм), елюючи ізократно 40 % EtOH – гептан, швидкість потоку 1 мл/хв, детектування на 215 нм: RT=10,1 хв., 16,7 % (неосновний ізомер) та 14,1 хв., 83,3 % (основний ізомер).

Проміжна сполука 32: трет-Бутил 3-(3-(3-метил-1Н-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутаноат

Розчин трет-бутил 4-((R)-3-(2-(1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)-3-(3-(3-метил-1Н-піразол-1-іл)феніл)бутаноату (Проміжна сполука 31) (212 мг, 0,403 ммоль) в EtOH (10 мл) гідрогенували над Pd/C (42,9 мг) протягом 18 год. Каталізатор збирали фільтруванням через целіт, та промивали EtOH. Об'єднаний фільтрат та промиті речовини концентрували в вакуумі, одержуючи бажану сполуку (171 мг, 80 %) у вигляді помаранчевої олії: РХ-МС (Система А): RT=1,46 хв., ES+ve m/z 530 (M+H)⁺.

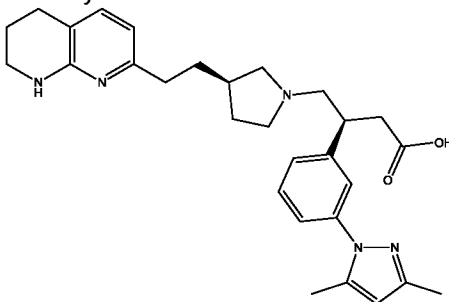
ПРИКЛАДИ ОДЕРЖАННЯ

Приклад 1: 3-(3-(3,5-диметил-1Н-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутанова кислота

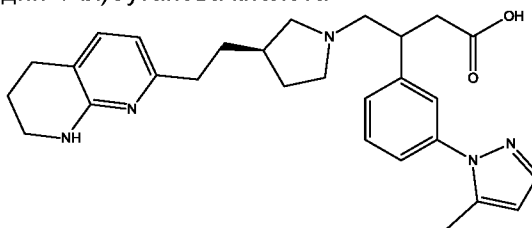


Розчин трет-бутил 3-(3-(3,5-диметил-1Н-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутаноату (Проміжна сполука 14) (100 мг, 0,184 ммоль) в 2-метилТГФ (0,5 мл) обробляли конц. HCl (12M, 0,077 мл, 0,92 ммоль) та перемішували при 40 °С протягом 2 год. Розчинник випаровували в вакуумі, та олію, що залишилась, розчиняли в етанолі (2 мл) та завантажували в SCX-2 іоно-обмінний картридж (5 г), елюючи етанолом (2 CV) та потім 2M аміаком в MeOH (2 CV). Аміачні фракції об'єднували та випаровували в вакуумі, одержуючи бажану сполуку (79 мг, 88 %) у вигляді майже білої твердої речовини: РХ-МС (Система А) RT=0,86 хв., 100 %, ES+ve m/z 488 (M+H)⁺; ¹H ЯМР δ (CDCl₃; 600 МГц): 7,42 – 7,37 (м, 1H), 7,31 (д, J=1,5 Гц, 1H), 7,29 (д, J=0,9 Гц, 1H), 7,23 (д, J=7,7 Гц, 1H), 7,21 (д, J=7,3 Гц, 1H), 6,31 (д, J=7,3 Гц, 1H), 5,99 (с, 1H), 3,55 (шс, 1H), 3,60 – 3,52 (м, 1H), 3,45 (т, J=5,4 Гц, 2H), 3,27 (т, J=10,6 Гц, 1H), 3,09 (шс, 1H), 2,93 – 2,86 (м, 1H), 2,82 (д, J=10,1 Гц, 1H), 2,86 – 2,75 (м, 2H), 2,72 (т, J=6,2 Гц, 1H), 2,74 – 2,67 (м, 2H), 2,75 (д, J=9,0 Гц, 1H), 2,61 – 2,50 (м, 1H), 2,31 (с, 3H), 2,29 (с, 3H), 2,33 – 2,26 (м, 1H), 2,24 – 2,11 (м, 1H), 1,94 – 1,86 (м, 2H), 1,94 – 1,84 (м, 1H), 1,78 – 1,66 (м, 1H), 1,65 – 1,51 (м, 1H).

Приклад 1 ідентифікували за способом, описаним в даному документі далі, як (S)-3-(3-(3,5-диметил-1Н-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутанову кислоту.

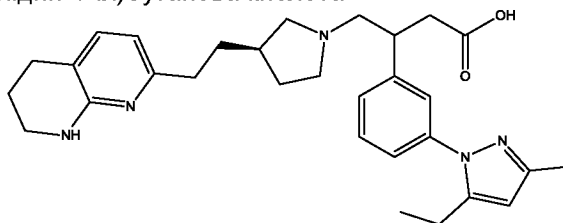


Приклад 2: 3-(3-(5-Метил-1Н-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутанова кислота



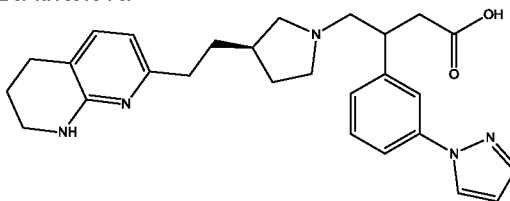
Розчин трет-бутил 3-(3-(5-метил-1Н-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетра гідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутаноату (Проміжна сполука 16) (2,80 г, 5,29 ммоль) в 2-метилТГФ (15 мл) обробляли конц. HCl (12M, 3,96 мл, 47,6 ммоль) та перемішували при 40 °C протягом 2 год. Розчинник випаровували в вакуумі, та залишок (3,8 г) розчиняли в етанолі (2 мл) та чистили, застосовуючи іоно-обмінну хроматографію на SCX-2 картриджі (70 г), елюючи етанолом (1 CV) та потім 2M аміаком в MeOH (1 CV). Аміачні фракції випаровували в вакуумі, та залишок розчиняли в ДХМ та далі чистили на амінопропіловому картриджі (100 г), елюючи градієнтом 0 – 25 % MeOH – ДХМ протягом 30 хв. Відповідні фракції об'єднували та випаровували в вакуумі, одержуючи бажану сполуку (2,01 г, 80 %) у вигляді білої піни: PX-МС (Система А) RT=0,83 хв., 100 %, ES+ve m/z 474 (M+H)⁺; ¹H ЯМР δ (DMCO-d₆; 600 МГц) 7,55 (д, J=1,5 Гц, 1H), 7,47 – 7,41 (м, 1H), 7,38 (с, 1H), 7,34 (д, J=8,1 Гц, 1H), 7,30 (д, J=7,7 Гц, 1H), 7,02 (д, J=7,0 Гц, 1H), 6,32 – 6,22 (м, 3H), 3,35 – 3,26 (м, 2H), 3,26 – 3,20 (м, 2H), 2,92 – 2,75 (м, 3H), 2,73 – 2,65 (м, 1H), 2,63 – 2,52 (м, 4H), 2,47 (дд, J=15,8, 7,3 Гц, 1H), 2,41 (т, J=7,7 Гц, 2H), 2,33 (с, 3H), 2,28 (дд, J=9,0, 7,5 Гц, 1H), 2,10 – 1,96 (м, 1H), 1,94 – 1,85 (м, 1H), 1,79 – 1,71 (м, 2H), 1,68 – 1,54 (м, 2H), 1,34 (дд, J=12,3, 7,9 Гц, 1H).

Приклад 3: 3-(3-(5-Етил-3-метил-1Н-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетра гідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутанова кислота



трет-Бутил 3-(3-(5-етил-3-метил-1Н-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутаноат (Проміжна сполука 18) (130 мг, 0,233 ммоль) розчиняли в 1,4-діоксан (5 мл), додавали конц. HCl (37 %, 0,038 мл, 0,466 ммоль), та реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 18 год. Суміш концентрували в вакуумі, та зразок розчиняли в ДМСО (1 мл) та чистили мас-спрямованою авто-препаративною ВЕРХ (Спосіб В) на колонці Xbridge, застосовуючи ацетонітрил-вода з амонійкарбонатним буфером. Розчинник видаляли під струменем азоту в апараті Рідлі з продувочною лінією, одержуючи бажану сполуку (20 мг, 17 %): PX-МС (Система А) RT=0,90 хв, 95 %, ES+ve m/z 502 (M+H)⁺; ¹H ЯМР δ (CD₃OD; 400 МГц) 7,48 (т, J=8Hz, 1H), 7,39 – 7,32 (м, 2H), 7,30 (шд, J=8 Гц, 1H), 7,14 (д, J=7,5 Гц, 1H), 6,38 (д, J=7,5 Гц, 1H), 6,10 (с, 1H), 3,62 – 3,45 (м, 2H), 3,39 – 3,32 (м, 4H), 3,25 (дд, J=12, 3 Гц, 1H), 3,08 (шт, J=9 Гц, 1H), 2,86 (дд, J=16, 10 Гц, 1H), 2,71 – 2,53 (м, 7H), 2,38 – 2,26 (м, 1H), 2,25 (с, 3H), 2,24 – 2,16 (м, 1H), 1,90 – 1,63 (м, 5H), 1,16 (т, J=7,5 Гц, 3H).

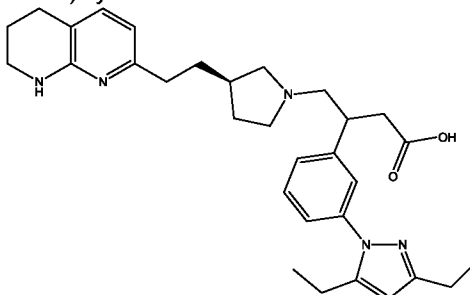
Приклад 4: 3-(3-(1Н-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутанова кислота



трет-Бутил 3-(3-(1Н-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутаноат (Проміжна сполука 20) (100 мг, 0,19 ммоль) розчиняли в 1,4-діоксані (5 мл), додавали конц. HCl (37 %, 0,032 мл, 0,39 ммоль), та реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 18 год. Суміш концентрували в вакуумі та зразок розчиняли в ДМСО - MeOH (1:1; 1 мл) та чистили мас-спрямованою авто-препаративною ВЕРХ (Спосіб А) на колонці Xbridge, застосовуючи ацетонітрил-вода з амонійкарбонатним

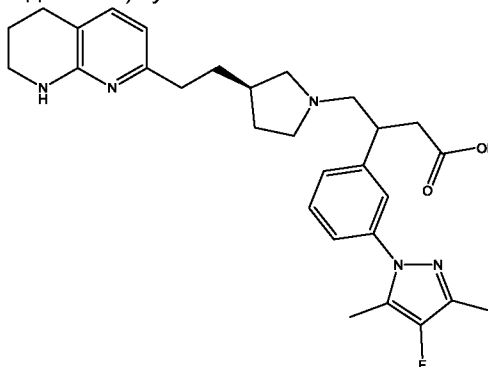
буфером. Розчинник видаляли під струменем азоту в апараті Рідлі з продувочною лінією, одержуючи бажану сполуку (10 мг, 11 %): РХ-МС (Система А) RT=0,82 хв., 98,6 %, ES+ve m/z 460 (M+H)⁺; ¹H ЯМР δ (CD₃OD; 400 МГц) 8,23 (д, J=2,5 Гц, 1H), 7,72 (шд, J=2 Гц, 1H), 7,68 (м, 1H), 7,63 (шд, J=8 Гц, 1H), 7,46 (т, J=8 Гц, 1H), 7,25 (шд, J=7,5 Гц, 1H), 7,15 (д, J=7,5 Гц, 1H), 6,52 (м, 1H), 6,38 (д, J=7,5 Гц, 1H), 3,64 – 3,45 (м, 2H), 3,39 – 3,32 (м, 4H), 3,26 (перекривається з CHD₂OD, 1H), 3,15 – 3,06 (м, 1H), 2,88 (дд, J=16,5, 10 Гц, 1H), 2,71 – 2,61 (м, 3H), 2,56 (т, J=8 Гц, 2H), 2,40 – 2,28 (м, 1H), 2,26 – 2,16 (м, 1H), 1,90 – 1,61 (м, 5H).

Приклад 5: 3-(3-(3,5-діетил-1H-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутанова кислота



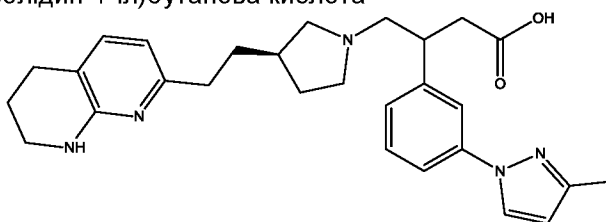
трет-Бутил3-(3-(3,5-діетил-1H-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутаноат (116 мг, 0,203 ммоль) розчиняли в 1,4-діоксані (5 мл) та потім обробляли конц. HCl (0,033 мл, 0,406 ммоль), та реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 18 год. Реакційну суміш концентрували в вакуумі, та залишок розчиняли в ДМСО (1 мл) та чистили мас-спрямованою авто-препаративною ВЕРХ (Спосіб А) на колонці Xbridge, застосовуючи ацетонітрил – вода з амонійкарбонатним буфером. Розчинник сушили під струменем азоту в апараті Рідлі з продувочною лінією, одержуючи бажану сполуку (27 мг, 26 %): РХ-МС (Система А) RT=0,94 хв., ES+ve m/z 516 (M+H)⁺; ¹H ЯМР δ (CD₃OD; 600 МГц) 7,49 (т, J=8,0 Гц, 1H), 7,37 (д, J=8,0 Гц, 1H), 7,34 (br. s, 1H), 7,31 (шд, J=8,0 Гц, 1H), 7,14 (д, J=7,3 Гц, 1H), 6,38 (д, J=7,3 Гц, 1H), 6,14 (с, 1H), 3,57 (дд, J=12,5, 9,4 Гц, 1H), 3,53 – 3,47 (м, 1H), 3,39 – 3,33 (м, 3H), 3,32 – 3,29 (м, 2H), 3,25 (дд, J=12,6, 3,6 Гц, 1H), 3,10 – 3,01 (м, 1H), 2,86 (дд, J=16,4, 10,4 Гц, 1H), 2,68 (т, J=6,2 Гц, 2H), 2,67 – 2,61 (м, 1H), 2,66 – 2,58 (м, 4H), 2,56 (т, J=7,8 Гц, 2H), 2,38 – 2,28 (м, 1H), 2,21 (д, J=6,8 Гц, 1H), 1,88 – 1,83 (м, 2H), 1,83 – 1,72 (м, 2H), 1,67 (дд, J=13,0, 8,4 Гц, 1H), 1,25 (т, J=7,7 Гц, 3H), 1,17 (т, J=7,6 Гц, 3H)

Приклад 6: 3-(3-(4-флуор-3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутанова кислота



трет-Бутил3-(3-(4-флуор-3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутаноат (Проміжна сполука 28) (70 мг, 0,125 ммоль) розчиняли в ацетонітрилі (1 мл), та додавали 4M HCl в діоксані (0,093 мл, 0,37 ммоль). Реакційну суміш перемішували при температурі навколишнього середовища протягом 2 год. РХ-МС в цій точці показала дуже низьке перетворення в продукт, та додавали більше 4M HCl в діоксані (0,093 мл, 0,37 ммоль), та реакційну суміш перемішували протягом додаткових 8 год. Реакційну суміш концентрували під зниженим тиском, розчиняли в MeOH-ДМСО (1:1; 2 мл) та чистили MDAР (Спосіб А). Відповідні фракції об'єднували та концентрували під азотом в апараті з продувочною лінією, одержуючи бажану сполуку (30 мг, 48 %) у вигляді помаранчевої смоли: РХ-МС (Система А) RT=0,90 хв, 98,5 %, ES+ve m/z 506 (M+H)⁺; ¹H ЯМР δ (CD₃OD; 400 МГц) 7,49 (т, J=8 Гц, 1H), 7,40 – 7,31 (м, 3H), 7,13 (т, J=8 Гц, 1H), 6,38 (м, 1H), 3,61 – 3,46 (м, 3H), 3,44 – 3,32 (м, 4H), 3,28 – 3,21 (м, 2H), 2,90 – 2,80 (м, 2H), 2,74 – 2,50 (м, 5H), 2,41 – 2,28 (м, 1H), 2,25 (д, J=9 Гц, 6H), 2,22 – 2,14 (м, 1H), 1,90 – 1,66 (м, 4H).

Приклад 7: 3-(3-(3-Метил-1Н-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутанова кислота

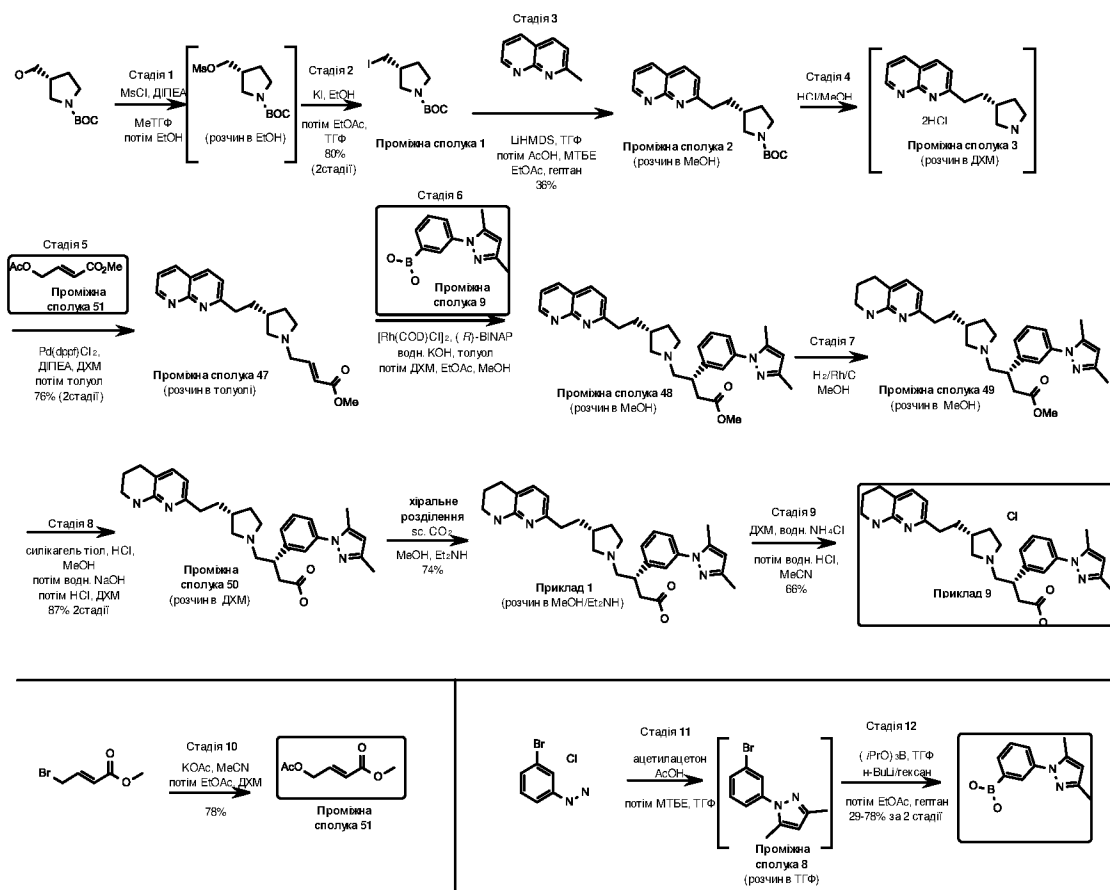


5 трет-Бутил3-(3-(3-метил-1Н-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутаноат (Проміжна сполука 32) (92 мг, 0,17 ммоль) розчиняли в 1,4-діоксані (5 мл), та потім обробляли конц. HCl (0,029 мл, 0,35 ммоль), та реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 18 год. Реакційну суміш концентрували в вакуумі, та залишок розчиняли в ДМСО (1 мл) та чистили застосовуючи мас-спрямовану авто-препаративну ВЕРХ (Спосіб А). Відповідні фракції об'єднували та випаровували під струменем газоподібного азоту в апараті Рідлі з продувочною лінією, одержуючи бажану сполуку (18 мг, 22 %): РХ-МС (Система А) RT=0,84 хв., ES+ve m/z 474 (M+H)⁺; ¹H ЯМР δ (CD₃OD; 400 МГц) 9,15 (д, J=2,5 Гц, 1H), 8,46 (т, J=1,5Hz, 1H), 8,40 (дд, J=8, 1,5 Гц, 1H), 8,16 (т, J=8 Гц, 1H), 7,93 (щд, J=8 Гц, 1H), 7,81 (д, J=7,5 Гц, 1H), 7,11 (д, J=2 Гц, 1H), 7,09 – 7,06 (м, 1H), 7,04 (д, J=7,5 Гц, 1H), 4,11 – 4,00 (м, 3H), 3,72 – 3,57 (м, 3H), 3,54 – 3,46 (м, 1H), 3,45 – 3,32 (м, 4H), 3,29 – 3,16 (м, 3H), 3,15 – 3,09 (м, 1), 3,07 (с, 3H), 2,87 – 2,77 (м, 1H), 2,75 – 2,65 (м, 1H), 2,58 – 2,50 (м, 2H), 2,46 – 2,35 (м, 2H), 2,19 – 2,09 (м, 1H).

15 Приклад 8: (S)-3-(3-(3,5-диметил-1Н-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутанова кислота, гідрохлоридна сіль
3-(3-(3,5-диметил-1Н-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутанову кислоту (Приклад 1) (37,89 г, 78 ммоль) далі чистили, застосовуючи препаративну хіральну ВЕРХ. Її розчиняли в етанолі (4 мл), та розчин розбавляли гептаном (6 мл). Розчин залишали стояти протягом 30 хвилин та потім фільтрували. Фільтрат впорскували (1 г на впорскування) в Chiralpak AD колонку (20 мікрон, 75 мм × 250 мм), елюючи ізократно 30 % етанолу (що містить 0,1 % ізопропіламіну) - 70 % гептану (що містить 0,1 % ізопропіламіну). Відповідні фракції об'єднували та випаровували в вакуумі, одержуючи чистий Приклад 1 (31,87 г) у вигляді майже білої пни. Різні інші партії чистили аналогічним чином та

20 Великомасштабне одержання прикладу 8: (S)-3-(3-(3,5-диметил-1Н-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутанова кислота, гідрохлоридна сіль

30 Великомасштабне одержання прикладу 8 здійснювали за схемою нижче:



Проміжна сполука 1 (R)-трет-бутил 3-(йодметил)піролідін-1-карбоксилат Стадії 1 та 2. (альтернативний спосіб)

- 5 В реактор в атмосфері азоту, завантажували 2-метилтетрагідрофуран (145 кг), N, N-діізопропілетиламін (16,6 кг) та (R)-трет-бутил 3-(гідроксиметил)піролідін-1-карбоксилат (16,5 кг). Серію охолоджували до 0-10 °C та додавали метансульфонілхлорид (11,6 кг), потім 2-метилтетрагідрофуран (8 кг), та реакційну суміш перемішували протягом приблизно 5 годин.
- 10 Потім додавали метансульфонілхлорид (2,4 кг), потім 2-метилтетрагідрофуран (5,2 кг), та реакційну суміш перемішували протягом приблизно 4,5 годин. Реакційну суміш промивали послідовно 10 % водним розчином гідроксиду натрію (80 кг), водою (85 кг), 1N водним розчином амонію хлориду (101 кг), водою (100 кг) та 25 % водн. NaCl (100 кг). Органічну фазу дистилювали до 2-3 об'ємів під зниженим тиском та розбавляли етанолом (78 кг). Суміш дистилювали до 2-3 об'ємів під зниженим тиском та розбавляли етанолом (72 кг). Суміш дистилювали до 2-3 об'ємів під зниженим тиском та розбавляли етанолом (77 кг). До суміші додавали етанол (72 кг) та калію йодид (70 кг), та реакційну суміш нагрівали до 70-80 °C протягом 16 годин, перед тим, як охолоджували до 40-50 °C. Реакційну суміш нагрівали до 70-80 °C протягом 8 годин, перед тим, як охолоджували до 40-50 °C. Реакційну суміш нагрівали до 70-80 °C протягом 4 годин, перед тим, як охолоджували до 40-50 °C. Суміш дистилювали до 2-3 об'ємів під зниженим тиском. До концентрату додавали воду (180 кг) та етилацетат (80 кг), та органічний шар промивали послідовно водою (90 кг) та 25 % водним розчином натрію хлориду (98 кг). Органічну фазу, що залишилась, дистилювали до 1-3 об. під зниженим тиском та розбавляли ТГФ (76 кг). Суміш дистилювали до 1-3 об. під зниженим тиском та розбавляли ТГФ (76 кг). Суміш дистилювали до 1-3 об. під зниженим тиском та розбавляли ТГФ (33 кг). Суміш дистилювали до 1-3 об. під зниженим тиском та розбавляли ТГФ (34 кг). Суміш розбавляли ТГФ (31 кг), одержуючи розчин продукту, який безпосередньо використовували на наступній стадії (89,6 кг, 22,4 % мас./мас. за аналізом, 80 % від теоретичного).

ВЕРХ RT=15,15 хв., 86,1 %

Колонка: 150 мм × 4,6 мм ID, 3,5 мкм Agilent Zorbax SB-C8

30 Швидкість потоку: 1,0 мл/хв.

Температура: 40 °C

Довжина хвилі детектування: 210 нм

Розчинники А 0,05% об /об розчин трифлуороцтової кислоти у воді
В 0,05% об /об розчин трифлуороцтової кислоти в ацетонітрилі

Градiєнт	Час (хв)	A%	B%
	0,01	95	5
	15,0	5	95
	18,0	5	95
	18,0	95	5

Проміжна сполука 2. (R)-трет-Бутил 3-(2-(1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-карбоксилат
Стадія 3

5 Одержання розчину 1: Розчин (R)-трет-бутил 3-(йодметил)піролідин-1-карбоксилат (Проміжна сполука 1) (89,6 кг, 22,4 % за аналізом, 20,1 кг активного) дистилювали під зниженим тиском в 1-2 ази та розбавляли ТГФ (180 кг) та додавали 2-метилнафтиридин (9,2 кг), та розчин охолоджували до 5-7 °С в атмосфері азоту.

10 Одержання розчину 2: Розчин літій біс(триметилсиліл)аміду в ТГФ (59,2 кг) охолоджували до 5-7 °С в атмосфері азоту.

Реакцію проводили при прокачуванні розчинів 1 та 2, одержаних вище через статичну суміш та реактор проточного типу відповідно до умов, наведених нижче, де реакційну суміш на виході гасили розчином води (80 кг) та оцтової кислоти (42 кг).

Час перебування	Температура	Довжина трубопроводу	Об'єм трубопроводу	Об'єм змішувача	Внутрішній діаметр труби
12хв	5~7 °С	48,05м	564мл	1~2мл	0,386см
Насосна головка трубопроводу	Матеріал трубопроводу	Змішувач	Швидкість потоку насосу 1	Швидкість потоку насосу 2	Загальний час реакції
Тефлон в силіконі	Тефлон	Нержавіюча сталь статичний змішувач *2	35,945 мл/хв	11,054 мл/хв	96 год.

15

Виділення продукту реакції:

Суміш обробляли 2N розчином NaOH (347 кг) та екстрагували МТБЕ (160 кг). МТБЕ фази обробляли 1N розчином HCl (196 кг) при 0-10 °С та органічний шар відкидали. Підкислений водний шар двічі промивали МТБЕ (142 кг та 146 кг) та потім регулювали до pH5-6 додаванням 2N водного NaOH (80 кг). Водну фазу екстрагували етилацетатом (162 кг), та водну фазу регулювали до pH5-6 додаванням NaOH (14 кг). Водну фазу екстрагували етилацетатом (166 кг), та водну фазу регулювали до pH5-6 додаванням NaOH (10 кг). Водну фазу екстрагували етилацетатом (176 кг) та об'єднані EtOAc фази промивали водою (210 кг) та 25 % водн. розчином натрію хлориду (210 кг) Органічний розчин дистилювали під зниженим тиском до 2-4 об'ємів та розбавляли МТБЕ (80 кг). Суміш дистилювали під зниженим тиском до 2-4 об'ємів та розбавляли н-гептаном (80 кг). Суміш дистилювали під зниженим тиском до 2-4 об'ємів та розбавляли н-гептаном (80 кг). Суміш дистилювали під зниженим тиском до 2-4 об'ємів та розбавляли МТБЕ (16 кг). Суміш охолоджували до 5-10 °С та обробляли н-гептаном (40 кг). Твердий продукт збирали фільтруванням (центрифугуванням), промивали н-гептаном (10 кг) та сушили при 50-60 °С в вакуумі, одержуючи названий продукт у вигляді твердої речовини (4,3 кг).

30 Фільтрат обробляли ЕдоАс (203 кг) та дистилювали до 100-150 л під зниженим тиском. Суміш розбавляли МТБЕ (80 кг) та дистилювали до 80 л під зниженим тиском. Суміш розбавляли н-гептаном (60 кг) та дистилювали до 60 л під зниженим тиском. Суміш розбавляли н-гептаном (23 кг) та дистилювали до 60 л під зниженим тиском. Суміш розбавляли МТБЕ (16 кг) та дистилювали до 80 л під зниженим тиском. Суміш розбавляли МТБЕ (8 кг) та дистилювали до 60-80 л під зниженим тиском. Суміш розбавляли МТБЕ (8 кг) та охолоджували до 5-10 °С в атмосфері азоту. Суміш обробляли н-гептаном (21 кг) та перемішували протягом приблизно години. Твердий продукт збирали фільтруванням (центрифугуванням), промивали н-гептаном (5 кг) та сушили при 50-60 °С в вакуумі, одержуючи другу порцію названого продукту у вигляді

40

тврдої речовини (3,65 кг).
Всього 7,95 кг, 36 % від теоретичного,

- 5 ВЕРХ 1^{ша} порція RT=9,33 хв., 97,6 %,
 ВЕРХ 2^{га} порція RT=9,27 хв., 99,1 %,
 Колонка: 150 мм × 4,6 мм ID, 3,5 мкм Agilent Zorbax SB-C8
 Швидкість потоку: 1,0 мл/хв.
 Температура: 40 °C
 Довжина хвилі детектування: 210 нм
- Розчинники: А: 0,05% об./об. розчин трифлуороцтової кислоти у воді
 В: 0,05% об./об. розчин трифлуороцтової кислоти в ацетонітрилі
- | Градiєнт: | Час (хв.) | A% | B% |
|-----------|-----------|----|----|
| | 0,01 | 80 | 20 |
| | 15,0 | 5 | 95 |
| | 18,0 | 5 | 95 |
| | 18,1 | 80 | 20 |

- 10 Хіральна ВЕРХ об'єднані RT=28,95 хв., 98,8 %,
 Колонка: 250 мм × 4,6 мм ID, Chiralpak IC
 Швидкість потоку: 1,0 мл/хв.
 Температура: 30 °C
 Довжина хвилі детектування: 218 нм
- Розчинники: А: 0,1% об./об. розчин ізобутиламіну в н-гептані
 В: 0,1% об./об. розчин ізобутиламіну в етанолі

Градiєнт	Час (хв.)	A%	B%
	0,01	70	30
	40	70	30

- 15 Проміжна сполука 51. (E)-Метил 4-ацетоксибут-2-еноат Стадія 10
 В реактор завантажували ацетонітрил (140 кг), калію ацетат (10 кг), (E)-метил 4-бромбут-2-еноат (18 кг, 1мас.) та ацетонітрил (3 кг). Суміш перемішували при 45-55 °C протягом приблизно 12,5 год. та охолоджували до 20-30 °C. Суміш фільтрували та відфільтрований корж промивали етилацетатом (14 кг). Фільтрат концентрували під зниженим тиском до 2-3 об'ємів та розбавляли етилацетатом (90 кг). Розчин промивали водою 4 рази (2 × 91 кг, 2 × 92 кг) та 11 % водн. розчином натрію хлориду (99 кг). Органічну фазу концентрували під зниженим тиском до 1-2 об'ємів та додавали ДХМ (80 кг). Органічну фазу концентрували під зниженим тиском до 1-2 об'ємів та додавали ДХМ (80 кг). Органічну фазу концентрували під зниженим тиском до 1-2 об'ємів, одержуючи розчин бажаної сполуки в ДХМ (14,8 кг, 53,4 % за аналізом, 78 %).
- 20 ВЕРХ RT=10,37 хв., 83,9 %,
 Колонка: 150 мм × 4,6 мм ID, 3,5 мкм Agilent Zorbax SB-C8
 Швидкість потоку: 1,0 мл/хв.
 Температура: 40 °C
 Довжина хвилі детектування: 210 нм

Розчинники А 0,05% об./об. розчин трифлуороцтової кислоти у воді
 В 0,05% об./об. розчин трифлуороцтової кислоти в ацетонітрилі

Градiєнт	Час (хв.)	A%	B%
	0,01	95	5
	15,0	5	95
	18,0	5	95
	18,1	95	5

- 30 Проміжна сполука 47. (R, E)-Метил 4-(3-(2-(1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бут-2-еноат. Стадії 4 та 5
 Розчин HCl в MeOH одержували барботуванням газоподібного HCl в метанол (40 кг) при -10 до 0 °C до досягнення концентрації 4,6 моль/л. До даного розчину додавали розчин проміжної сполуки 2 (8 кг, 1мас.) в MeOH (24 кг) та нагрівали до 35-45 °C протягом приблизно 4,5 годин в атмосфері азоту. Реакційну суміш дистильовали під зниженим тиском до 2-3 об'ємів. Додавали MeOH (21 кг), та суміш концентрували під зниженим тиском до 2-3 об'ємів. Додавали MeOH (24
- 35

кг), та суміш концентрували під зниженим тиском до 2-3 об'ємів. Додавали ДХМ (64 кг), та суміш концентрували під зниженим тиском до 2-3 об'ємів. Додавали ДХМ (64 кг), та суміш концентрували під зниженим тиском до 2-3 об'ємів. Додавали ДХМ (64 кг), та суміш регулювали до 10-20 °С та обробляли по краплям N, N-діізопропілетиламіном (20 кг), підтримуючи температуру <30 °С, одержуючи розчин (R)-2-(2-(піролідин-3-іл)етил)-1,8-нафтиридину дигідрохлоридної солі (Проміжна сполука 3). В інший реактор завантажували ДХМ (61 кг), (E)-метил 4-ацетоксибут-2-еноат (Проміжна сполука 51) (53 % мас./мас. розчин в ДХМ, 8,8 кг, 4,7 кг активного), та 1,1'-[біс(дифенілфосфіно)фероцен]паладію (II) хлорид (2,1 кг), та верхній простір реактора продували азотом, та перемішували при 20-30 °С протягом 30 хв. До даної суміші додавали розчин (R)-2-(2-(піролідин-3-іл)етил)-1,8-нафтиридину дигідрохлоридної солі (Проміжна сполука 3), одержаної вище, та суміш перемішували при 20-30 °С протягом приблизно 22 год. Реакційну суміш обробляли водою (85 кг) та фільтрували через діатоміт (6 кг; попередньо зволожений ДХМ (22 кг)), промиваючи ДХМ (19 кг). Органічну фазу промивали водою (80 кг), охолоджували до 5-10 °С та підкислювали 0,5N HCl (204 кг). Водний шар промивали ДХМ (60 кг), розбавляли ДХМ (123 кг) та нейтралізували 1N розчином NaOH (78 кг). Водний шар екстрагували ДХМ (59 кг). Об'єднані фази ДХМ промивали 25 % розчином NaCl (46 кг) та концентрували під зниженим тиском до 1-2 об'ємів. Додавали толуол (34 кг), та суміш концентрували під зниженим тиском до 35-45 л, одержуючи розчин бажаної сполуки (42,15 кг, 13,4 % за аналізом, 76 % вихід). Аналіз в даному випадку не проводили, оскільки речовина була нестабільною, тому її безпосередньо використовували на наступній стадії.

Проміжна сполука 9 (3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)боронова кислота. Стадія 11 та 12

В реактор, завантажували 3-бромфенілгідазину гідрохлорид (6 кг), ацетилацетон (4031,7 г) та крижану оцтову кислоту (18 л), та суміш нагрівали до 90-100 °С та перемішували протягом 3-4 год. Реакційну суміш концентрували до олії, розбавляли водою (20 л), з регулюванням до pH~7 5,5M водним NaOH (10 л) та екстрагували МТБЕ (20 л). МТБЕ шар промивали водою (15 л) та насиченим сольовим розчином (10 л) та концентрували, одержуючи олію. До олії додавали ізопропілборат (B(OiPr)₃) (6058,6 г) та ТГФ (40 л), та суміш охолоджували до -75 - -60 °С. n-BuLi (2,5M, 12,9 л) додавали по краплям при -70 - -60 °С та перемішували протягом ночі. Реакційну суміш нагрівали до -10-0 °С та додавали воду (24 л), потім конц. HCl (4 л), та суміш перемішували протягом 10 хв та розділяли. Водну фазу регулювали до pH5-6 1N розчином NaOH та екстрагували EtOAc (2 × 10 л). Об'єднані органічні фази промивали розчином NaHCO₃ та насиченим сольовим розчином, та концентрували, одержуючи олію. Дану олію розбавляли гептанами (20 л) та охолоджували до 0-10 °С, одержуючи білу тверду речовину, яку виділяли фільтруванням, одержуючи бажану сполуку (4530 г, 71 %).

ВЕРХ RT=6,53 хв., 98,7 %,

Колонка: 150 мм × 4,6 мм ID, 3,5 мкм Agilent Zorbax Bonus RP

Швидкість потоку: 1,0 мл/хв.

Температура: 40 °С

Довжина хвилі детектування: 220 нм

Розчинники А 0,05% об /об розчин трифлуороцтової кислоти у воді

В 0,05% об /об розчин трифлуороцтової кислоти в ацетонітрилі

Градiєнт	Час (хв)	A%	B%
	0,01	90	10
	15,0	5	95
	18,0	5	95
	18,1	90	10

Проміжна сполука 48. Метил 4-((R)-3-(2-(1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)-3-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)бутаноат. Стадія 6.

В реактор завантажували толуол (25 кг), (R, E)-метил 4-(3-(2-(1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бут-2-еноат (Проміжна сполука 47 в толуолі (42,15 кг, 13,4 % за аналізом, 5,6 кг (1мас.) активного), 17 % мас./мас. водн. КОН розчин (10 кг), (3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)боронову кислоту (Проміжна сполука 9) (8,4 кг), димер хлор-(1,5-циклооктадієн)родію (I) (0,433 кг) та (R)-(+)-2,2'-біс(дифенілфосфіно)-1,1'-бінафтил (1,3 кг). Реактор продували азотом, нагрівали до 75-85 °С та перемішували в атмосфері азоту протягом приблизно 5 год. Суміш дистильовали під зниженим тиском до 1-3 об. та охолоджували до 20-30 °С. Суміш обробляли ДХМ (166 кг) та водою (57 кг), перемішували, та водну фазу відкидали. Органічну

фазу підкислювали 0,5N водн. розчином HCl (141 кг), розділяли, та водну фазу промивали двічі ДХМ (45 та 43 кг). Етилацетат (57 кг) додавали у водну фазу, та суміш нейтралізували до pH7-8 1N водн. NaOH (56 кг). Органічний шар збирали, та водний шар екстрагували двічі етилацетатом (2 × 28 кг). Об'єднані EtOAc екстракти промивали 25 % водн. NaCl (32 кг) та дистилювали під зниженим тиском до 1-2 об'ємів Суміш розбавляли MeOH (25 кг) та дистилювали під зниженим тиском до 1-2 об'ємів Залишок розбавляли MeOH (29 кг), одержуючи розчин бажаної сполуки в MeOH (~9:1 др, 49,4 кг, 9,0 % за аналізом, 51 % вихід).

ВЕРХ RT=11,68 хв., 90,9 %,

Колонка: 150 мм × 4,6 мм ID, 3,5 мкм Agilent Zorbax SB-C8

Швидкість потоку: 1,0 мл/хв.

Температура: 40 °C

Довжина хвилі детектування: 210 нм

Розчинники: А: 0,05% об./об. розчин трифлуороцтової кислоти у воді

В: 0,05% об./об. розчин трифлуороцтової кислоти в ацетонітрилі

Градiєнт:	Час (хв.)	A%	B%
	0,0	95	5
	15,0	30	70
	18,0	5	95
	20,0	5	95
	20,1	95	5

Хіральна ВЕРХ RT=10,27 хв., 90,0 %,

Колонка: 250 мм × 4,6 мм ID, 5 мкм CHIRALPAK AD-H

Швидкість потоку: 1,0 мл/хв.

Температура: 40 °C

Довжина хвилі детектування: 248 нм

Розчинники: А: 0,1% об./об. розчин діетиламіну в н-гексані

В: 0,1% об./об. розчин діетиламіну в етанолі

Градiєнт:	Час (хв.)	A%	B%
	0,01	80	20
	40	80	20

Проміжна сполука 49. Метил 3-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідін-1-іл)бутаноат. Стадія 7

В ємність для гідрогенування додавали розчин метил 4-((R)-3-(2-(1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідін-1-іл)-3-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)бутаноату (Проміжна сполука 48) в MeOH (49,4 кг, 9,0 % за аналізом, 4,4 кг (1мас.) активного) та Rh/C (1,1 кг) та ємність продували азотом. Реакційну суміш поміщали в атмосферу водню (0,3МПа) та перемішували при 35-45 °C протягом приблизно 26 год. Атмосферу реакційної суміші заміняли на азот та охолоджували до 20-30 °C. Реакційну суміш фільтрували, та твердий залишок промивали MeOH (3 × 13 кг). Об'єднані фільтрати концентрували під зниженим тиском до 100-200 л, фільтрували, промиваючи MeOH (20 кг) та далі концентрували, одержуючи розчин бажану сполуку в метанолі (27,2 кг).

ВЕРХ RT=23,63 хв., 85,4 %,

Колонка: 150 мм × 4,6 мм ID, 2,5 мкм Waters XSELECT HSS C18

Швидкість потоку: 0,6 мл/хв.

Температура: 40 °C

Довжина хвилі детектування: 245 нм

Розчинники: А: 0,2% об./об. розчин трифлуороцтової кислоти у воді
 В: 0,2% об./об. розчин трифлуороцтової кислоти в ацетонітрилі

Градiєнт:	Час (хв.)	A%	B%
	0,0	90	10
	25,0	50	50
	35,0	5	95
	40,0	5	95
	40,1	90	10

Проміжна сполука 50. 3-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідін-1-іл)бутанова кислота. Стадія 8

5 Розчин метил 3-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідін-1-іл)бутаноату (Проміжна сполука 50) в метанолі (27,2 кг, 4,4 кг (1мас.) активного), одержаний на стадії 7, дистилювали до 1-2 об'ємів під зниженим тиском та розбавляли MeOH (26 кг). До даного розчину додавали силікагелевий тіол (0,5 кг) та рН суміші регулювали до ~1 HCl/MeOH (3,5M, 8 кг). Суміш перемішували при 60-70 °C протягом 10 год., охолоджували до 20-30 °C та фільтрували. Відфільтрований корж промивали метанолом (4 кг потім 2 × 5 кг). Фільтрат концентрували до ~6-8 об'ємів, розбавляли MeOH (4 кг) та завантажували силікагелевий тіол (0,5 кг). Після регулювання рН до ~1 HCl/MeOH (3,5M, 2 кг), розчин перемішували при 60-70 °C протягом 10 год. Суміш охолоджували до 20-30 °C, фільтрували та відфільтрований корж промивали метанолом (5 кг, потім 2 × 4 кг) та фільтрат концентрували до ~6-8 об'ємів при ≤45 °C під зниженим тиском. Залишок розбавляли MeOH (13 кг) та далі концентрували до 1-2 об'ємів при ≤45 °C під зниженим тиском. Залишок розбавляли MeOH (13 кг) та додавали 2M водн. розчин NaOH (22 кг), одержуючи суміш рН>14, яку перемішували при 30-40 °C протягом 11 год. Перед тим, як розбавляли MeOH (4 кг) та концентрували до 4-5 об. при ≤45 °C під зниженим тиском. рН регулювали до 8-9 HCl (3M водн., 6 кг), та суміш обробляли ДХМ (20 кг), та рН водної фази регулювали до рН 8-9 додаванням NaOH (2M водн., 5,7 кг). Водну фазу екстрагували чотири рази ДХМ (2 × 30 кг, 31 кг, 30 кг). Об'єднану органічну фазу промивали сумішшю води (10 кг) та HCl (3M водн., 6 кг), та водну фазу екстрагували двічі ДХМ (30 кг, 31 кг). Об'єднані органічні фази концентрували до 1-2 об'ємів при ≤40 °C під зниженим тиском та розбавляли ДХМ (10 кг), одержуючи розчин бажаної сполуки в ДХМ (16,8 кг, 22,4 % за аналізом, 87 % за дві стадії).

25 ВЕРХ RT=20,69 хв., 87,8 %,

Колонка: 150 мм × 4,6 мм ID, 2,5 мкм Waters XSELECT HSS C18

Швидкість потоку: 0,6 мл/хв.

Температура: 40 °C

Довжина хвилі детектування: 245 нм

Розчинники: А: 0,2% об./об. розчин трифлуороцтової кислоти у воді

В: 0,2% об./об. розчин трифлуороцтової кислоти в ацетонітрилі

Градiєнт:	Час (хв.)	A%	B%
	0,0	90	10
	25,0	50	50
	35,0	5	95
	40,0	5	95
	40,1	90	10

30

Хіральне розділення

35 Розчин 3-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідін-1-іл)бутанової кислоти (Проміжна сполука 50) в ДХМ, одержаний зі стадії 8, концентрували під зниженим тиском, та додавали MeOH, одержуючи 100 мг/мл розчину, який фільтрували. Розчин застосовували до надкритичної рідинної хроматографії (SFC) для хірального розділення. Параметри SFC розділення були наступними:

Препаративна Колонка	CHIRALPAK OJ, 250*50мм (В.Д.), 10um
Рухома фаза А	надкритичний CO ₂
Рухома фаза В	MeOH (0,1 %ДЕА, об./об.)
А:В співвідношення	70:30
Швидкість потоку	250 г/хв
Довжина хвилі детектування	220 нм
Колонка	40 °С
Фоновий тиск	100,0 бар
Об'єм введення (кількість)	~0,5 г
Інтервал між введенням	4,5 хв
Пік потрібного продукту	Другий основний пік

Фракції, що містить потрібний ізомер, концентрували при 30°C під зниженим тиском, одержуючи (S)-3-(3-(3,5-диметил-1Н-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутанову кислоту (Приклад 1) у вигляді розчину в MeOH/діетиламіні (12,2 кг, 22,9 % за аналізом, 74 %).

Приклад 9. (S)-3-(3-(3,5-диметил-1Н-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутанова кислота, гідрохлоридна сіль. Стадія 9.

Розчин (S)-3-(3-(3,5-диметил-1Н-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутанової кислоти (Приклад 1) в метанолі (12,1 кг, 22,9 % за аналізом, 2,8 кг (1мас.) активного) розбавляли ДХМ (3 кг) та концентрували до 1-3 об. при ≤35 °С під зниженим тиском. Одержаний в результаті розчин розбавляли ДХМ (36 кг) та промивали двічі 33 % водним розчином амонію хлориду (14 кг x 2), доки залишковий діетиламін становив <0,5 %. Органічну фазу розбавляли ДХМ (4 кг), сушили над безводним Na₂SO₄ (2,8 кг), фільтрували, та корж промивали ДХМ (5 кг x 3). Об'єднані фільтрати концентрували до 1-3 об. при ≤55 °С під зниженим тиском. Ацетонітрил (6 кг) завантажували, та суміш дистилювали до 1-3 об. при ≤45 °С під зниженим тиском, щоб видалити залишковий метанол. Залишок розбавляли ацетонітрилом (20 кг), та потім завантажували водний HCl (3М, 1,9 кг). Після перемішування протягом 40 хв. при 35 °С, суміш фільтрували в кристалізаційну ємність через картриджевий фільтр, промиваючи MeCN (3 кг). Розчин дистилювали до ~4 об. при ≤45 °С під зниженим тиском, одержуючи розчин бажаної сполуки в ацетонітрилі. Додавали чотири порції ацетонітрилу (8 кг x 2, 14 кг, 19 кг) та дистилювали до 3-5 об. при ≤45 °С під зниженим тиском, щоб видалити залишкову воду. Завантажували ацетонітрил (17 кг), щоб розбавити сирий продукт, та одержаний в результаті розчин перемішували при 50-55 °С протягом 16 годин в захисній атмосфері азоту. Серію охолоджували до 0-5 °С протягом 5 год. та перемішували при 0-5 °С протягом ~4 год. в атмосфері азоту. Серію нагрівали до 50-55 °С та перемішували при 50-55 °С протягом ~4 год. в атмосфері азоту. Серію охолоджували до -10- -8 °С протягом 6 год. та перемішували при -10- -8 °С протягом ~23 год. в атмосфері азоту. Потім форму підтверджували, застосовуючи XRPD та ДСК, суспензію фільтрували, та відфільтрований корж промивали ацетонітрилом (6 кг) в атмосфері азоту. Вологу тверду речовину сушили при 20-35 °С протягом 20 год. під зниженим тиском, потім температуру підвищували до 45-55 °С протягом додаткових 50 год. Потім речовину просіювали, сушили при 45-55 °С протягом додаткових 20 год., одержуючи бажану сполуку (1,966 кг, 66 %).

T_{пл.}: 197-202 °С

¹H ЯМР (DMCO-d₆; 500 МГц) δ м.ч. 13-11 (шс, 1 H), 7,43-7,51 (м, 2 H), 7,35-7,41 (м, 2 H), 7,18 (д, J=7,2 Гц, 1 H), 7,02 (шс, 1 H), 6,35 (д, J=7,3 Гц, 1 H), 6,07 (с, 1 H), 3,54-3,64 (м, 1 H), 3,47 (дд, J=12,8, 7,2 Гц, 1 H), 3,25-3,37 (м, 4 H), 3,18 (шс, 1 H), 3,05-3,13 (м, 1 H), 3,00 (дд, J=16,3, 5,6 Гц, 1 H), 2,86 (т, J=9,5 Гц, 1 H), 2,56-2,68 (м, 3 H), 2,41-2,49 (м, 2 H), 2,30 (с, 3 H), 2,14-2,27 (м, 1 H), 2,18 (с, 3 H), 1,98-2,10 (м, 1 H), 1,72-1,81 (м, 2 H), 1,61-1,72 (м, 2 H), 1,56 (дкв, J=12,7, 8,2 Гц, 1 H).

ВЕРХ RT=20,56 хв., 99,4 %,

Колонка: 150 мм x 4,6 мм ID, 2,5 мкм Waters XSELECT HSS C18

Швидкість потоку: 0,6 мл/хв.

Температура: 40 °С

Довжина хвилі детектування: 245 нм

Розчинники: А: 0,2% об./об. розчин трифлуороцтової кислоти у воді
 В: 0,2% об./об. розчин трифлуороцтової кислоти в ацетонітрилі

Градiєнт:	Час (хв.)	A%	B%
	0	90	10
	25	50	50
	35	5	95
	40	5	95
	40,1	90	10
	52	Stop	

Хіральна ВЕРХ RT=34,8 хв., 100 % a/a,
 Колонка: 250 мм × 4,6 мм ID, 5 мкм CHIRALPAK AS-H

Швидкість потоку: 1,0 мл/хв.

5 Температура: 40 °C

Довжина хвилі детектування: 319 нм

Розчинники: А: 0,2% об./об. розчин триетиламіну в н-гептані
 В: 0,2% об./об. розчин триетиламіну в етанолі

Градiєнт:	Час (хв.)	A%	B%
	0,01	92	8
	100	stop	

ВИЗНАЧЕННЯ АБСОЛЮТНОЇ КОНФІГУРАЦІЇ ПРИКЛАДУ 1

Відновлення Прикладу 1 та його діастереоізомеру

10 Проміжна сполука 33: ізомер 1. 3-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутан-1-ол

Суспензію 3-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутанової кислоти гідрохлориду (Приклад 8, яка представляє собою гідрохлоридну сіль Прикладу 1) (238 мг, 0,454 ммоль) в ТГФ (5 мл) обробляли при 20 °C розчином LiAlH₄ в етері (1M, 1,5 мл), та суміш перемішували в атмосфері азоту протягом 1,5 год. РХ-МС показав завершення реакції. Реакцію гасили додаванням 2M розчину NaOH (0,8 мл) та етилацетату. Суміш розподіляли, та органічний розчин промивали розчином NaHCO₃, насиченим сольовим розчином, сушили (MgSO₄) та випаровували під зниженим тиском. Залишок розчиняли в 1:1 MeOH-DMCO (2 мл) та чистили MDAР (Спосіб А) збирали фракції з RT=6,6-9,4 хв. Розчинник видаляли під зниженим тиском, одержуючи бажану сполуку (157 мг, 73 %) у вигляді безбарвної олії: ЯМР δ (DMCO-d₆, 600 МГц) δ 7,40-7,36 (м, 1H), 7,28-7,26 (м, 1H), 7,28-7,25 (м, 1H), 7,20 (д, J=7,7 Гц, 1H), 6,99 (д, J=7,3 Гц, 1H), 6,22 (д, J=7,2 Гц, 1H), 6,20 (шс, 1H), 6,05 (с, 1H), 3,32-3,28 (м, 1H), 3,25-3,21 (м, 1H), 3,24-3,18 (м, 2H), 2,97-2,90 (м, 1H), 2,71 (т, J=8,2 Гц, 1H), 2,64 (дд, J=11,8, 7,8 Гц, 1H), 2,59 (т, J=6,2 Гц, 2H), 2,57-2,53 (м, 1H), 2,54-2,50 (м, 1H), 2,39-2,34 (м, 2H), 2,37-2,32 (м, 1H), 2,26 (с, 3H), 2,17 (с, 3H), 2,07-2,01 (м, 1H), 1,94 (дд, J=13,1, 7,4 Гц, 1H), 1,97-1,88 (м, 1H), 1,87-1,79 (м, 1H), 1,74 (дт, J=11,5, 6,0 Гц, 2H), 1,67-1,59 (м, 1H), 1,60-1,53 (м, 2H), 1,31-1,24 (м, 1H); [α]_D²⁰ = + 17 (с=1,56 в CHCl₃).

20 Проміжна сполука 34. 4-((R)-3-(2-(1,8-Нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)-3-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)бутан-1-ол

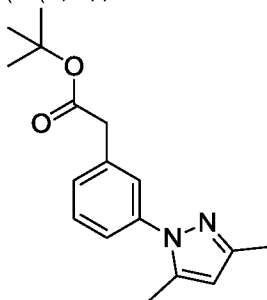
30 Розчин трет-бутил 4-((R)-3-(2-(1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)-3-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)бутаноату (Проміжна сполука 13, ізомер 2) (155 мг, 0,287 ммоль) в 2-Ме-ТГФ (3 мл) охолоджували на кризі до 5°C та потім обробляли обережно розчином літійалюмогідриду в ТГФ (1M, 1,5 мл). Суміш перемішували в атмосфері азоту протягом 2 год., РХ-МС показала завершення. Реакцію гасили додаванням 2M розчину NaOH (0,3 мл), та суміш перемішували протягом 0,5 год. Додавали етилацетат та твердий сульфат натрію, та суміш перемішували протягом 5 хв., фільтрували, тверду речовину промивали етилацетатом, та випаровували під зниженим тиском. Залишок розчиняли в DMCO-MeOH (1:1, 2 мл) та чистили MDAР (Спосіб А), збираючи фракцію з RT=5,09 хв. Розчинник випаровували під зниженим тиском, залишок розчиняли в MeOH та знову випаровували під зниженим тиском, одержуючи 40 дві забруднені фракції. Дві фракції об'єднували (31 мг) та знову чистили MDAР 25 хв проходження (високий рН), збираючи фракцію з RT=6,41 хв., m/z 470, випаровували під зниженим тиском, одержуючи бажану сполуку (16,4 мг, 12 %) у вигляді безбарвної олії: РХ-МС (Спосіб А) RT=0,94 хв., 91 %, ES+ve m/z 470 (M+H)⁺; [α]_D²⁰ = - 14 (с=1,64 в CHCl₃).

Проміжна сполука 33 ізомер 2. 3-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутан-1-ол

Розчин 4-((R)-3-(2-(1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)-3-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)бутан-1-олу (Проміжна сполука 34) (8 мг, 0,02 ммоль) в етанолі (5 мл) гідрогенували над 5 % Rh/C вологого каталізатора (5 мг) протягом 2,5 днів. Реакційну суміш фільтрували через целіт, та каталізатор промивали етанолом. Фільтрат та промиті речовини випаровували під зниженим тиском, одержуючи бажану сполуку (7 мг, 87 %) у вигляді безбарвної олії: ЯМР δ (DMSO-d₆, 600 МГц): 7,37 (т, J=7,8 Гц, 1H), 7,26-7,28 (м, 1H), 7,24-7,27 (м, 1H), 7,20 (д, J=7,7 Гц, 1H), 6,99 (д, J=7,3 Гц, 1H), 6,21 (д, J=7,2 Гц, 1H), 6,19 (шс, 1H), 6,04 (с, 1H), 4,61 (шс, 1H), 3,27-3,30 (м, 1H), 3,21-3,23 (м, 2H), 3,19-3,25 (м, 1H), 2,90-2,98 (м, 1H), 2,68 (т, J=8,1 Гц, 1H), 2,57-2,61 (м, 2H), 2,56-2,61 (м, 2H), 2,51-2,56 (м, 1H), 2,35-2,41 (м, 1H), 2,32-2,39 (м, 2H), 2,26 (с, 3H), 2,17 (с, 3H), 2,03 (дд, J=8,5, 7,1 Гц, 1H), 1,88-1,99 (м, 2H), 1,78-1,87 (м, 1H), 1,73 (квін, J=5,9 Гц, 2H), 1,60-1,66 (м, 1H), 1,51-1,58 (м, 2H), 1,24-1,30 (м, 1H); [α]_D²⁰ = -19 (с=0,689 в CHCl₃).

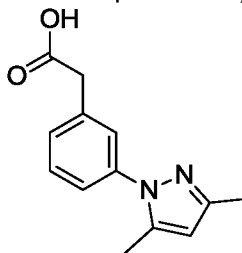
Одержання проміжної сполуки 39 ізомер 1 та ізомер 2

Проміжна сполука 35. трет-Бутил 2-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл) ацетат



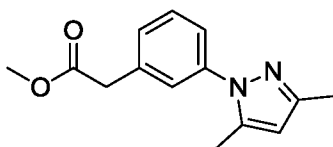
Суміш (3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)боронової кислоти (Проміжна сполука 9) (10,8 г, 50 ммоль), трет-бутил 2-бромацетату (14,6 г, 75 ммоль), три-о-толілфосфіну (1,5 г, 4,93 ммоль), Pd(OAc)₂ (700 мг, 3,12 ммоль), порошокподібного трикалію фосфату (42,5 г, 200 ммоль) та тетрагідрофурану (100 мл) дегазували циклами: атмосфера азоту/вакуум, та нагрівали при кип'ятінні зі зворотним холодильником протягом 16 год. РХ-МС аналіз показує ~ 70 % перетворення. Додавали додатковий паладію ацетат (300 мг) та трет-бутил 2-бромацетат (3 г), та суміш кип'ятили зі зворотним холодильником протягом 6 год. РХ-МС показує відсутність вихідної речовини та присутність продукту. Суміш розподіляли між водою (200 мл) та EtOAc (2 × 200 мл) та сушили (MgSO₄). Органічну фазу випаровували, та залишок чистили, застосовуючи хроматографію на силікагелевому картриджі (330 г), елюючи 0-40 % етилацетат-циклогексан (15 CV), одержуючи бажану сполуку (10,4 г, 72 %) у вигляді жовтої олії: РХ-МС (Спосіб С) RT=1,18 хв., ES+ve m/z 287 (M+H)⁺.

Проміжна сполука 36. 2-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)ацетат



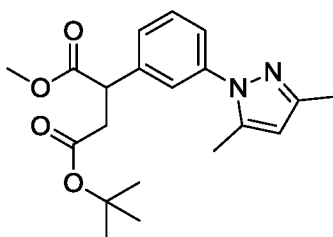
Розчин трет-бутил 2-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)ацетату (Проміжна сполука 35) (10 г, 28 ммоль) в дихлорметані (10 мл) обробляли повільно ТФО (20 мл, 260 ммоль) та перемішували при кімнатній температурі протягом 2 год. РХ-МС аналіз показав завершення реакції. Розчин випаровували під зниженим тиском, та залишок розчиняли в 2N NaOH (100 мл) та промивали діетиловим етером (2 × 100 мл). Водну фазу підкислювали 2N HCl, та охолоджену суспензію екстрагували EtOAc (2 × 150 мл). Органічний розчин сушили (MgSO₄) та випаровували. Залишок (~7 г) розтирали з діетиловим етером (40 мл) та збирали фільтруванням, одержуючи бажану сполуку (5,2 г, 81 %) у вигляді бежевої твердої речовини: РХ-МС (Спосіб С) RT=0,76 хв., 100 %, ES+ve m/z 231 (M+H)⁺; ЯМР δ (CDCl₃, 400 МГц) 7,51 – 7,44 (1H, м), 7,41 – 7,30 (3H, м), 6,08 (1H, с), 3,70 (2H, с), 2,29 (3H, с), 2,26 (3H, с).

Проміжна сполука 37. Метил 2-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)ацетат



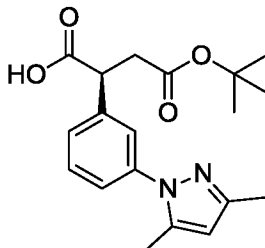
Розчин 2-(3-(3,5-диметил-1Н-піразол-1-іл)феніл)оцтової кислоти (Проміжна сполука 36) (460 мг, 2 ммоль) розчиняли в MeOH (70 мл) та обробляли розчином гідрогенхлориду в циклопентилметилловому етері (3М, 10 мл), та суміш нагрівали до кип'ятіння зі зворотним холодильником протягом 2 год. Суміш концентрували під зниженим тиском, та залишок розподіляли між етилацетатом та бікарбонатом натрію. Органічну фазу промивали насиченим сольовим розчином, сушили над MgSO₄ та випаровували під зниженим тиском. Залишок чистили, застосовуючи хроматографію на силікагелевому картриджі (20 г), елюючи градієнтом 0-25 % етилацетат-циклогексан протягом 20 хв. Відповідні фракції, що містять основний компонент, об'єднували та випаровували, одержуючи бажану сполуку (251 мг, 51 %) у вигляді безбарвної олії: ЯМР δ (CDCl₃) 7,43-7,37 (2H, м), 7,33 (1H, шд, J 8 Гц), 7,29-7,24 (1H, м перекривається з CHCl₃), 5,99 (1H, с), 3,70 (3H, с), 3,68 (2H, с), 2,31 (3H, с) та 2,30 (3H, с).

Проміжна сполука 38. 4-трет-Бутил 1-метил 2-(3-(3,5-диметил-1Н-піразол-1-іл)феніл)сукцинат



Розчин літію гексаметилдизилазиду в ТГФ (1М, 1,85 мл) охолоджували до -78 °С та обробляли розчином метил 2-(3-(3,5-диметил-1Н-піразол-1-іл)феніл)ацетату (Проміжна сполука 37) (453 мг, 1,85 ммоль) в ТГФ (2 мл). Через 5 хв. реакційну суміш обробляли трет-бутил 2-бромацетатом (0,82 мл, 5,6 ммоль) в ТГФ (2 мл), та через 30 хв. при -78 °С суміші давали нагрітися до кімнатної температури. Суміш перемішували протягом 2,5 год. та потім гасили водним розчином HCl (0,2 М, 10 мл) та екстрагували етилацетатом. Органічний розчин промивали водним розчином NaHCO₃, 0,2М HCl, насиченим сольовим розчином, сушили (MgSO₄) та випаровували під зниженим тиском. Залишок чистили, застосовуючи хроматографію на 50 г силікагелевому картриджі, елюючи 0-25 % EtOAc-циклогексан. Фракції, що містять основний пік, об'єднували та випаровували під зниженим тиском, одержуючи безбарвну олію (780 мг), яку далі чистили, застосовуючи хроматографію на 70 г силікагелевому картриджі, елюючи 0-50 % ТБМЕ-циклогексан, одержуючи бажану сполуку (479 мг, 72 %) у вигляді безбарвної олії: ЯМР δ (CDCl₃) 7,43-7,33 (3H, м), 7,29-7,25 (1H, м), 6,00 (1H, с), 4,09 (1H, дд, J 10,0, 5,5 Гц), 3,69 (3H, с), 3,13 (1H, дд, J 16,7, 10,0 Гц), 2,64 (1H, дд, J 16,7, 5,5 Гц), 2,30 (6H, с), 1,42 (9H, с). Два енантіомери даної сполука розділяли, застосовуючи препаративну хіральну ВЕРХ на Chiralcel OD-H колонці (30 мм × 250 мм), елюючи 5 % ІПС-гексан, швидкість потоку = 20 мл/хв, одержуючи ізомер 1 (267 мг) у вигляді безбарвної олії: [α]_D²²⁺⁸¹ (с=1,028 в CHCl₃); Аналітична хіральна ВЕРХ на Chiralcel OJ-H колонці (4,6 мм в.д. × 250 мм) RT=7,75 хв., 99,3 % (містить інший енантіомер, RT=9,35 хв., 0,7 %), та ізомер 2 (230 мг) у вигляді безбарвної олії: [α]_D²²⁻⁸² (с=1,016 в CHCl₃); Аналітична хіральна ВЕРХ RT=9,35 хв., 98,6 % (містить інший енантіомер, RT=7,75 хв., 1,4 %).

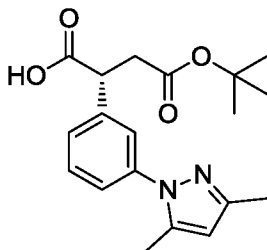
Проміжна сполука 39 ізомер 1. 4-(трет-Бутоксид)-2-(3-(3,5-диметил-1Н-піразол-1-іл)феніл)-4-оксобутанова кислота



Розчин 4-трет-бутил 1-метил 2-(3-(3,5-диметил-1Н-піразол-1-іл)феніл)сукцинату, ізомер 1 (Проміжна сполука 38, ізомер 1) (257 мг, 0,72 ммоль) розчиняли в ТГФ (2 мл) та охолоджували до 0 °С (охолодження кригою), потім додавали 30 % гідрогенпероксид (0,366 мл, 3,6 ммоль) та

1М розчин LiOH у воді (1М, 2,15 мл). Після стояння в холодильнику протягом ночі реакційну суміш обробляли водний розчином натрію метабісульфіту (1М, 3 мл) та потім підкислювали до pH 1 2М розчином HCl. Реакційну суміш екстрагували тричі етилацетатом, та органічний розчин сушили над MgSO₄. Розчин випаровували під зниженим тиском, та білу піну, що залишилась, чистили MDAP (Спосіб С). Відповідні фракції випаровували під зниженим тиском, одержуючи бажану сполуку (140 мг, 57 %) у вигляді безбарвної олії: ¹H ЯМР δ (400 МГц; CDCl₃) 7,38-7,32 (2H, м), 7,30-7,24 (2H, м), 5,98 (1H, с), 4,05 (1H, дд, J 9,5, 6 Гц), 3,09 (1H, дд, J 16,5, 9,5 Гц), 2,63 (1H, дд, J 16,5, 6 Гц), 2,31 (3H, с), 2,24 (3H, с), 1,38 (9H, с). [α]_D²⁰+42 (с=1,037 в CHCl₃).

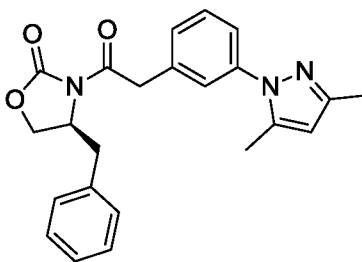
Проміжна сполука 39 ізомер 2. 4-(трет-Бутоксид)-2-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)-4-оксобутанова кислота



Розчин 4-трет-бутил 1-метил 2-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)сукцинату, ізомер 2 (Проміжна сполука 38, ізомер 2) (220 мг, 0,61 ммоль) розчиняли в 2-Ме-ТГФ (5 мл) та охолоджували до 0 °С (охолодження кригою), потім додавали 30 % гідрогенпероксид (0,313 мл, 3,1 ммоль) та 0,2М розчин LiOH у воді (0,2М, 9,21 мл, 1,84 ммоль). РХ-МС показав, що реакція дійшла до завершення через 6 днів. Реакційну суміш обробляли розчином натрію тіосульфату (1М, 3 мл) та розчином натрію бікарбонату (0,5М, 8 мл), та суміш (pH 8) перемішували протягом 10 хв, та потім підкислювали до pH 1 6М розчином HCl. Реакційну суміш екстрагували тричі етилацетатом, та органічний розчин сушили над MgSO₄. Випаровування під зниженим тиском давало білу тверду речовину, яку чистили MDAP (Спосіб С). Випаровування відповідних фракцій під зниженим тиском давало бажану сполуку (105 мг, 50 %) у вигляді безбарвної олії: ¹H ЯМР δ (400 МГц; CDCl₃) 7,38-7,32 (2H, м), 7,30-7,22 (2H, м), 5,99 (1H, с), 4,05 (1H, дд, J 9,5, 6 Гц), 3,09 (1H, дд, J 16,5, 9,5 Гц), 2,63 (1H, дд, J 16,5, 6 Гц), 2,31 (3H, с), 2,24 (3H, с), 1,38 (9H, с). [α]_D²⁰-41 (с=1,482 в CHCl₃).

Визначення абсолютної конфігурації проміжної сполуки 39 ізомер 1 у вигляді (S) (Спосіб Еванса)

Проміжна сполука 40. (S)-(+)-4-Бензил-3-(2-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)ацетил)оксазолідин-2-он

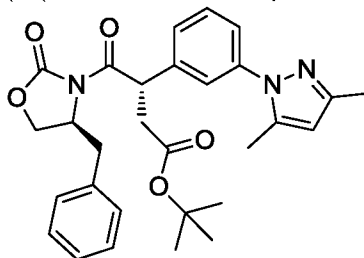


2-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)оцтову кислоту (Проміжна сполука 36) (2,3 г, 9,99 ммоль) розчиняли в ТГФ (70 мл) та обробляли ДІПЕА (2,268 мл, 12,99 ммоль). До перемішаного розчину додавали півалоїлхлорид (1,229 мл, 9,99 ммоль) з допомогою шприця в атмосфері азоту. Суміш перемішували при 0°C протягом 45 хв., та потім знову охолоджували до -78°C, що давало білу дрібнодисперсну суспензію.

В той же час в окремій колбі (S)-4-бензилоксазолідин-2-он (3,19 г, 17,98 ммоль) розчиняли в ТГФ (50 мл) та охолоджували до -78°C, при перемішуванні. До даного розчин додавали n-BuLi 1,6М в гексанах (11,24 мл, 17,98 ммоль), та суміш перемішували при -78°C протягом 0,5 год. Метальований оксазолідинон додавали до змішаного ангідриду, застосовуючи канюлю. Одержану в результаті дрібнодисперсну суспензію перемішували протягом 1 год. при -78°C та потім давали нагрітисся до кімнатної температури протягом вихідних. Реакційну суміш гасили водним насиченим розчином амонію хлориду (40 мл), розбавляли водою (10 мл) та екстрагували етилацетатом. Органічну фазу промивали насиченим сольовим розчином, сушили (MgSO₄), фільтрували та концентрували в вакуумі. Олію, що залишилась, розчиняли в ДХМ та чистили, застосовуючи хроматографію на 100г силікагелевому картриджі, елюючи градієнтом 0-50 % етилацетату в циклогексан протягом 40 хв. Фракції, що містять основний компонент

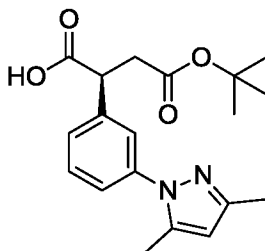
об'єднували та концентрували в вакуумі, одержуючи бажану сполуку (2,1 г, 54 %) у вигляді безбарвної олії: ^1H ЯМР δ (600 МГц, DMSO-d_6) 7,48-7,44 (м, 1H), 7,43 (с, 1H), 7,41-7,38 (м, 1H), 7,29 (д, $J=8,3$ Гц, 1H), 7,28-7,25(м, 2H), 7,25-7,21 (м, 1H), 7,17-7,13 (м, 2H), 6,07 (с, 1H), 4,69 (тт, $J=7,8$, 3,0 Гц, 1H), 4,36 (т, $J=8,5$ Гц, 1H), 4,36-4,32 (м, 1H), 4,26-4,20 (м, 1H), 4,23-4,18 (м, 1H), 3,03-2,97 (м, 1H), 2,95-2,90 (м, 1H), 2,29 (с, 3H), 2,18 (с, 3H); $[\alpha]_D^{20} = +49$ (с 1,64 в CHCl_3).

Проміжна сполука 41 (S)-трет-Бутил 4-((S)-4-бензил-2-оксооксазолідин-3-іл)-3-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)-4-оксобутаноат, та Проміжна сполука 42. (R)-трет-бутил 4-((S)-4-бензил-2-оксооксазолідин-3-іл)-3-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)-4-оксобутаноат



Розчин літію гексаметилдизилазиду в ТГФ (1М, 5,7 мл) додавали до розчину (S)-4-бензил-3-(2-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)ацетил)оксазолідин-2-ону (Проміжна сполука 40) (2,0 г, 5,14 ммоль) в ТГФ (10 мл) при -78°C , та суміш перемішували при -78°C протягом 60 хв, потім додавали трет-бутил 2-бромацетат (2,3 мл, 15 ммоль). Суміш перемішували при -78°C протягом 3 год., та потім давали нагрітися до кімнатної температури, та перемішували протягом 2 днів, перед тим, як гасили додаванням водного нас. розчину амонію хлориду. Суміш розподіляли етилацетатом, органічну фазу відокремлювали, промивали насиченим сольовим розчином (двічі), сушили над MgSO_4 та випаровували під зниженим тиском. Залишок чистили, застосовуючи хроматографію на силікагелевому (100 г) картриджі елююючи, 0-50 % етилацетат-циклогексан протягом 1 год., одержуючи продукт (1,2 г, 46 %) у вигляді жовтої олії, у вигляді суміші з двох діастереоізомерів: PX-MC (Спосіб С) $\text{RT}=1,32$ хв., 11 %, ES+ve m/z 504 та $\text{RT}=1,36$ хв., 53 %, ES+ve m/z 504 (M+H^+). Частину діастереоізомерної суміші очікуваного продукту (200 мг) далі чистили MDAF (Спосіб С), збираючи основну фракцію з $\text{RT}=9,56$ хв., одержуючи (S)-трет-бутил 4-((S)-4-бензил-2-оксооксазолідин-3-іл)-3-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)-4-оксобутаноат (Проміжна сполука 41) (69 мг) у вигляді безбарвної олії: PX-MC (Спосіб С) $\text{RT}=1,36$ хв., ES+ve m/z 504 (M+H^+); ^1H ЯМР δ (400 МГц, CDCl_3) 7,47 (1H, br c), 7,43-7,28 (8H, м), 6,00 (1H, c), 5,56 (1H, дд, $J 11$, 4 Гц), 4,67-4,59 (1H, м), 4,15-4,06 (2H, м), 3,42-3,30 (2H, м), 2,83 (1H, дд, $J 13$, 10 Гц), 2,67 (1H, дд, $J 17$, 4 Гц), 2,32 (3H, c), 2,30 (3H, c), 1,46 (9H, c); $[\alpha]_D^{20} = +102$ (с=1,20 в CHCl_3). Неосновну фракцію з очистки MDAF з $\text{RT}=9,2$ хв. випаровували під струменем азоту в апараті з лінією продувки, одержуючи (R)-трет-бутил 4-((S)-4-бензил-2-оксооксазолідин-3-іл)-3-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)-4-оксобутаноат (Проміжна сполука 42) (7 мг): PX-MC (Спосіб С) $\text{RT}=1,32$ хв., ES+ve m/z 504 (M+H^+); ^1H ЯМР δ (400 МГц, CDCl_3) 7,51 (1H, шс), 7,46-7,38 (3H, м), 7,21-7,15 (3H, м), 6,99-6,94 (2H, м), 5,97 (1H, c), 5,46 (1H, дд, $J 11$, 4 Гц), 4,81-4,73 (1H, м), 4,24 (1H, т, $J 8,5$ Гц), 4,10 (1H, дд, $J 9$, 3 Гц), 3,33 (1H, дд, $J 17$, 11 Гц), 3,08 (1H, дд, $J 13,5$, 3 Гц), 2,66-2,59 (2H, м), 2,29 (3H, c), 2,28 (3H, c), 1,43 (9H, c); $[\alpha]_D^{20} = -37$ (с=0,71 в CHCl_3).

Проміжна сполука 39 ізомер 1 (S)-(+)-4-(трет-Бутоксид)-2-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)-4-оксобутанова кислота

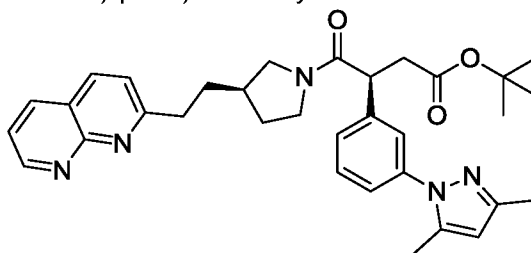


Розчин (S)-трет-бутил 4-((S)-4-бензил-2-оксооксазолідин-3-іл)-3-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)-4-оксобутаноату (Проміжна сполука 41) (69 мг, 0,14 ммоль) в ТГФ (1 мл) обробляли 30 % гідрогенпероксидом (8,8 М, 0,078 мл, 0,68 ммоль) при 4°C , потім водним гідроксидом літію (1М, 0,411 мл), та суміш перемішували на крижаній бані протягом 2 год. Реакційну суміш стояла в холодильнику протягом ночі та потім гасили додаванням водного розчину натрію метабісульфіту, потім, через 10 хв. додаванням 2М HCl . Через 2 год. суміш екстрагували етилацетатом, та водний шар екстрагували додатковим EtOAc . Об'єднані органічні розчини

промивали насиченим сольовим розчином, сушили ($MgSO_4$) та випаровували під зниженим тиском. Залишок розчиняли в ДМСО (1 мл) та чистили MDAP (Спосіб С), збираючи пік з $RT=8,3-9,9$ хв., m/z 345. Відповідні фракції випаровували під струменем азоту в апараті з лінією продувки, одержуючи бажану сполуку (22 мг, 47 %) у вигляді безбарвної олії: 1H ЯМР δ ($CDCl_3$) 7,36-7,31 (2H, м), 7,28-7,23 (2H, м), 5,96 (1H, с), 4,04 (1H, дд, J 9,5, 6 Гц), 3,08 (1H, дд, J 16,5, 9,5 Гц), 2,62 (1H, дд, J 16,5, 6 Гц), 2,29 (3H, с), 2,23 (3H, с), 1,37 (9H, с); $[\alpha]_D^{20} = +65$ ($c=2,08$ в $CHCl_3$).

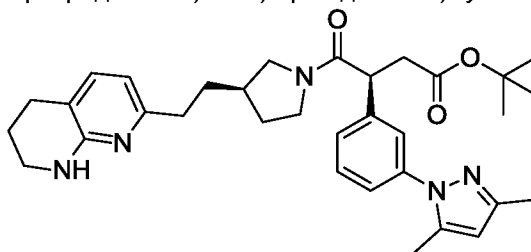
Синтез проміжної сполуки 46 та проміжної сполуки 33, ізомер 1 та, демонструючи, що вони є одним і тим самим ізомером

Проміжна сполука 43. (S)-(+)-трет-Бутил 4-((R)-3-(2-(1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)-3-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)-4-оксобутаноат



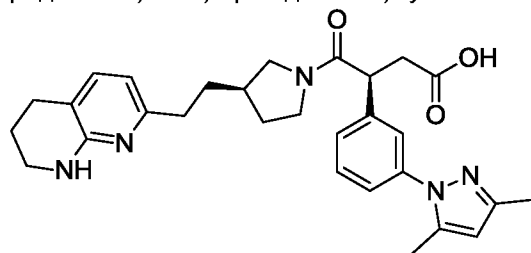
Розчин 4-трет-бутил 1-метил 2-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)сукцинату (Проміжна сполука 39 ізомер 1) (107 мг, 0,31 ммоль) в ДХМ (1 мл) обробляли N-[3-(диметиламіно)пропіл]-N'-етилкарбодііміду гідрохлоридом (77 мг, 0,40 ммоль) та N-гідроксибензтриазолу гідратом (62 мг, 0,40 ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 10 хв., потім додавали розчин (R)-2-(2-(піролідин-3-іл)етил)-1,8-нафтиридину (Проміжна сполука 3) (100 мг, 0,44 ммоль) в ДХМ (3 мл) та N-Ме-морфолін (0,102 мл, 0,93 ммоль). Суміш перемішували протягом 2 год. при кімнатній температурі. Суміш розбавляли водою та фази розділяли в фазо-розділюючій фриті, та органічну фазу випаровували під зниженим тиском. Залишок чистили MDAP (Спосіб С), збираючи фракцію з m/z 554. Розчинник видаляли під зниженим тиском, одержуючи бажану сполуку (160 мг, 93 %) у вигляді безбарвної олії: PX-МС (Спосіб С) $RT=0,99$ хв., 98,5 %, ES+ve m/z 554 ($M+H$)⁺; $[\alpha]_D^{20} = +41$ ($c=1,720$ в $CHCl_3$); Аналітична хіральна ВЕРХ Chiralcel OD-H (4,6 мм × 250 мм), елюючи 10 % EtOH-гептан, що містить 0,1 % ізопропіламіну, детектування на 235 нм, швидкість потоку=1 мл/хв, $RT=30,4$ хв., 77,3 % та $RT=37,6$ хв., 22,7 %.

Проміжна сполука 44. (S)-трет-Бутил 3-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)-4-оксо-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутаноат



Розчин (S)-трет-бутил 4-((R)-3-(2-(1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)-3-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)-4-оксобутаноату (Проміжна сполука 43) (107 мг, 0,19 ммоль) в етанолі (20 мл) гідрогенували над 5 % Rh/C (28 мг) протягом 4 днів. Додавали додаткову кількість каталізатору (5 мг), та суміш гідрогенували протягом наступного дня. Каталізатор видаляли фільтруванням через целіт та промивали етанолом. Об'єднаний фільтрат та промиті речовини концентрували під зниженим тиском, одержуючи бажану сполуку (101 мг, 94 %): PX-МС (Спосіб С) $RT=0,86$ хв., 98 %, ES+ve m/z 558 ($M+H$)⁺.

Проміжна сполука 45. (S)-(+)-3-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)-4-оксо-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутанова кислота

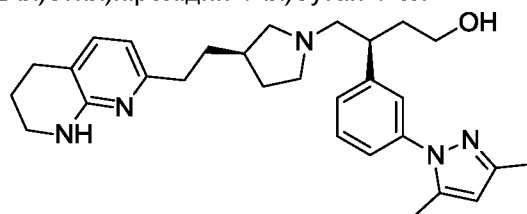


Розчин (S)-трет-бутил 3-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)-4-оксо-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутаноату (Проміжна сполука 44) (101 мг, 0,18 ммоль) в CHCl_3 (5 мл) обробляли ТФО (3 мл) при кімнатній температурі протягом 2 год. Реакційну суміш випаровували під зниженим тиском, та залишок розчиняли в ДХМ та знову

5

випаровували під зниженим тиском тричі. Залишок (200 мг) розчиняли в ацетонітрилі та пропускали через SCX-2 картридж (10 г), який попередньо обробляли MeCN. Сполуку промивали MeCN та елюювали 2M аміаком в MeOH. Аміачні фракції випаровували під зниженим тиском, одержуючи бажану сполуку (80 мг, 88 %) у вигляді білої піни: РХ-МС (Спосіб А) $RT=0,82$ хв., 90 %, $ES+ve$ m/z 502 ($M+H$)⁺; $[\alpha]_D^{20} = +34$ ($c=0,88$ в CHCl_3).

10



Розчин (S)-3-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)-4-оксо-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутаної кислоти (Проміжна сполука 45) (65 мг, 0,13 ммоль) в ТГФ (1 мл) обробляли при кімнатній температурі розчином боран-ТГФ в ТГФ (1M, 2 мл) в атмосфері азоту. Суміш перемішували при температурі навколишнього середовища протягом ночі. Ранком додавали AcOH (0,5 мл), щоб погасити надлишок борану, потім 2M розчин NaOH (1 мл), щоб зруйнувати боранові комплекси. Суміш розбавляли етером та промивали двічі 2M NaOH , потім насиченим сольовим розчином, сушили (MgSO_4) та випаровували під зниженим тиском. Сирий продукт (100 мг) розчиняли в ТГФ (1 мл) та обробляли розчином LiAlH_4 в етері (1M, 1,5 мл) при 20°C в атмосфері азоту. Суміш витримували при 20° протягом 30 хв та потім нагрівали до 50°C протягом 2 год. Додавали додаткову кількість розчину LiAlH_4 (1M, 0,7 мл), та суміш нагрівали до 60°C протягом 45 хв. РХ-МС (Спосіб А) $RT=1,12$ хв., 58 %, m/z 474 ($M+H$)⁺ для продукту та $RT=1,23$ хв., 27 %, m/z 488 ($M+H$)⁺ для аміду. Температури підвищували до 80°C протягом додаткової 1 год., однак, реакція, як здалося, зупинилась. Реакційну суміш гасили додаванням 2M розчину NaOH (1 мл) та етеру. Білу тверду речовину збирали фільтруванням, промивали етером та етилацетатом. Фільтрат та промиті речовини випаровували під зниженим тиском. Залишок (58 мг) чистили MDAP (Спосіб А), одержуючи бажану сполуку (30 мг, 49 %) у вигляді жовтої смоли: РХ-МС (Спосіб А) $RT=1,10$ хв, 93 %, $ES+ve$ m/z 474 ($M+H$)⁺; $[\alpha]_D^{20} = +7,0$ ($c=0,859$ в CHCl_3); ^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 600 МГц) δ 7,40-7,36 (м, 1H), 7,28-7,26 (м, 1H), 7,28-7,25 (м, 1H), 7,20 (д, $J=7,7$ Гц, 1H), 6,99 (д, $J=7,3$ Гц, 1H), 6,22 (д, $J=7,2$ Гц, 1H), 6,20 (шс, 1H), 6,05 (с, 1H), 3,32-3,28 (м, 1H), 3,25-3,21 (м, 1H), 3,24-3,18 (м, 2H), 2,97-2,90 (м, 1H), 2,71 (т, $J=8,2$ Гц, 1H), 2,64 (дд, $J=11,8, 7,8$ Гц, 1H), 2,59 (т, $J=6,2$ Гц, 2H), 2,57-2,53 (м, 1H), 2,54-2,50 (м, 1H), 2,39-2,34 (м, 2H), 2,37-2,32 (м, 1H), 2,26 (с, 3H), 2,17 (с, 3H), 2,07-2,01 (м, 1H), 1,94 (дд, $J=13,1, 7,4$ Гц, 1H), 1,97-1,88 (м, 1H), 1,87-1,79 (м, 1H), 1,74 (дт, $J=11,5, 6,0$ Гц, 2H), 1,67-1,59 (м, 1H), 1,60-1,53 (м, 2H), 1,31-1,24 (м, 1H). ^1H ЯМР спектр показав ~3:1 суміш близько розташованих сигналів, що відповідає суміші діастереоізомерів названої сполуки. Основний компонент відповідав Проміжній сполуці 33, ізомер 1, неосновний компонент відповідав Проміжній сполуці 33, ізомер 2. Аналітична хіральна ВЕРХ (4,6 × 250 мм Chiralpak 1 AD), елюювання 10 % EtOH-гептан, що містить 0,1 % ізопропіламіну, швидкість потоку= 1 мл/хв, впорскування 15 мкл, детектування на 235 нм $RT=22,5$ хв., 78,9 % та $RT=26,9$ хв., 21,1 %.

15

20

25

30

35

40

РОЗЧИННІСТЬ

Кінетичну розчинність за хемілюмінісцентним детектуванням азоту (CLND) вимірювали відповідно до N. Bhattachar et. al. J. Pharm. Biomed. Anal. 2006, 41, 152-157 та, як знайдено, вона становила: для прикладу 1, 504 мкМ; для прикладу 2, 249 мкМ; для прикладу 3, 276 мкМ; для прикладу 4, 388 мкМ; для прикладу 5, 470 мкМ; для прикладу 6, 437 мкМ; для прикладу 7, 349 мкМ.

45

БІОЛОГІЧНІ АНАЛІЗИ

Адгезійні аналізи: Реагенти та способи, які застосовували, були такими, як описано [Ludbrook et al, Biochem. J. 2003, 369, 311], з наступними пунктами роз'яснення. Були використані наступні клітинні лінії, з лігандами в дужках: K562- $\alpha_5\beta_1$ (Фібронектин), K562- $\alpha_v\beta_3$ (LAP- b_1), K562- $\alpha_v\beta_5$ (Вітронектин), K562- $\alpha_v\beta_6$ (LAP- b_1), K562- $\alpha_v\beta_8$ (LAP- b_1). Двовалентний катіон, який використовували для полегшення адгезії, представляв собою 2 мм MgCl_2 . Адгезію кількісно визначали маркування клітин флуоресцентним барвником BCECF-AM (Life Technologies), де

50

суспензії клітин концентрацією 6×10^6 клітин/мл інкубували з 0,66 мл/мл 30 мм BCECF-AM при 37 °C протягом 10 хвилин, перед нанесенням на аналітичний планшет. В аналітичному висновку, клітини, що адгезували, лізували, застосовуючи 50 мкл/лунку 0,5 % Тритон X-100 в H₂O, щоб викликати флуоресценцію. Інтенсивність флуоресценції детектували, застосовуючи

5 Envision® планшетний рідер (Perkin Elmer). Для активних антагоністів в аналізі, дані апроксимували за 4 параметрами логістичного рівняння для визначення IC₅₀.

Зв'язування розчинного $\alpha_v\beta_6$ протеїну людини з пептидом, що містить RGD застосовуючи флуоресцентний поляризаційний аналіз: Позаклітинні домени α_v та β_6 спільно експресували з pFastBac подвійним конструктом, застосовуючи бакуловірусну експресійну систему. Експресований протеїн, що містить амінокислоту 31-987 з α_v з наступним Tev сайтом розщеплення, Fos епітопною міткою та 6His міткою, амінокислоти 21-707 з β_6 з наступним передрозривним протеазним сайтом, Jun епітопною міткою та FLAG міткою. Протеїн секретувався в середовища для експресії; його чистили, застосовуючи подвійне фільтрування, з наступною очисткою, застосовуючи His мітку, з наступною FLAG міткою та потім гель-фільтраційну хроматографію. Даний отриманий матеріал був більше, ніж 95 % чистоти. Флуоресцентне зв'язування пептиду на основі LAP β_3 синтезували хімічно, маючи послідовність Ac-GRRGDLGRLK(Cy3B)-NH₂. Застосовували аналітичний буфер з 25 мм HEPES pH7,4, 150 мм NaCl, 1 мм CHAPS та 400 мм MgCl₂. До чорних з низьким об'ємом 384 лункових планшетів додавали 0,1 мл/лунку досліджуваної сполуки в 100 % ДМСО, потім по 3 мл/лунку 10 нм $\alpha_v\beta_6$ протеїн. Планшети інкубували при кімнатній температурі протягом 15 хвилин перед додаванням 3 мл/лунку 4 нм флуоресцентного пептиду, що містить RGD. Планшети інкубували протягом 60 хвилин при кімнатній температурі, та вимірювали флуоресцентну поляризацію, яку детектували, застосовуючи Envision® планшетний рідер (Perkin Elmer) зі збудженням на 531 нм та емісією на 590 нм. Для активних антагоністів в аналізі, дані апроксимували за 4 параметрами логістичного

25 рівняння для визначення IC₅₀.
Афінність (pIC₅₀) для $\alpha_v\beta_6$ протеїну людини в флуоресцентному поляризаційному аналізі для приклада 1 становила 8,1, тоді як його афінність в клітинному адгезійному аналізі становила для: $\alpha_v\beta_6$ pIC₅₀=8,4; $\alpha_v\beta_3$ pIC₅₀=6; $\alpha_v\beta_5$ pIC₅₀=6,9; $\alpha_v\beta_8$ pIC₅₀=7,7.

30 Афінність (pIC₅₀) для $\alpha_v\beta_6$ протеїну людини в флуоресцентному поляризаційному аналізі для приклада 2 становила 7,8, тоді як його афінність в клітинному адгезійному аналізі становила для: $\alpha_v\beta_6$ pIC₅₀=8,4; $\alpha_v\beta_3$ pIC₅₀=6; $\alpha_v\beta_5$ pIC₅₀=6,8; $\alpha_v\beta_8$ pIC₅₀=7,7.

Афінність (pIC₅₀) для $\alpha_v\beta_6$ протеїну людини в флуоресцентному поляризаційному аналізі для приклада 3 становила 8,2, тоді як його афінність в клітинному адгезійному аналізі становила для: $\alpha_v\beta_6$ pIC₅₀=8,2; $\alpha_v\beta_3$ pIC₅₀=6; $\alpha_v\beta_5$ pIC₅₀=6,9; $\alpha_v\beta_8$ pIC₅₀=7,7.

35 Афінність (pIC₅₀) для $\alpha_v\beta_6$ протеїну людини в флуоресцентному поляризаційному аналізі для приклада 4 становила 8,2, тоді як його афінність в клітинному адгезійному аналізі становила для: $\alpha_v\beta_6$ pIC₅₀=8,6; $\alpha_v\beta_3$ pIC₅₀=6,9; $\alpha_v\beta_5$ pIC₅₀=7,5; $\alpha_v\beta_8$ pIC₅₀=7,8.

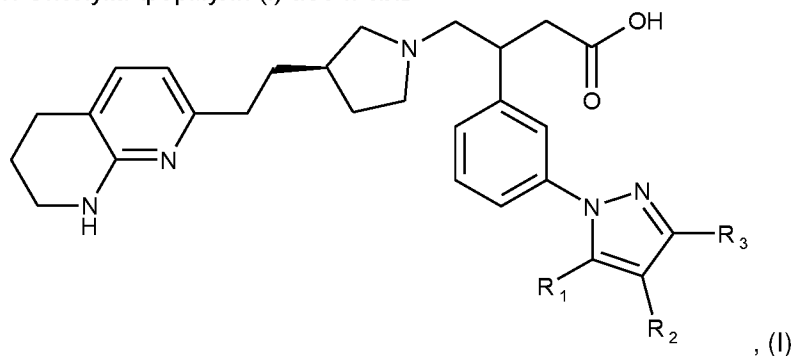
40 Афінність (pIC₅₀) для $\alpha_v\beta_6$ протеїну людини в флуоресцентному поляризаційному аналізі для приклада 5 становила 7,8, тоді як його афінність в клітинному адгезійному аналізі становила для: $\alpha_v\beta_6$ pIC₅₀=8,1; $\alpha_v\beta_3$ pIC₅₀=6,1; $\alpha_v\beta_5$ pIC₅₀=6,6; $\alpha_v\beta_8$ pIC₅₀=7,4.

Афінність (pIC₅₀) для $\alpha_v\beta_6$ протеїну людини в флуоресцентному поляризаційному аналізі для приклада 6 становила 7,7, тоді як його афінність в клітинному адгезійному аналізі становила для: $\alpha_v\beta_6$ pIC₅₀=8,1; $\alpha_v\beta_3$ pIC₅₀=5,8; $\alpha_v\beta_5$ pIC₅₀=6,6; $\alpha_v\beta_8$ pIC₅₀=7,3.

45 Афінність (pIC₅₀) для $\alpha_v\beta_6$ протеїну людини в флуоресцентному поляризаційному аналізі для приклада 7 становила 7,8, тоді як його афінність в клітинному адгезійному аналізі становила для: $\alpha_v\beta_6$ pIC₅₀=8,4; $\alpha_v\beta_3$ pIC₅₀=6,7; $\alpha_v\beta_5$ pIC₅₀=7,4; $\alpha_v\beta_8$ pIC₅₀=7,3.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Сполука формули (I) або її сіль



5

де

R₁ являє собою атом гідрогену, метильну групу або етильну групу;

R₂ являє собою атом гідрогену або атом флуору;

R₃ являє собою атом гідрогену, метильну групу або етильну групу.

10 2. Сполука за п. 1 або її сіль, де R₁ являє собою метильну групу, R₂ являє собою атом гідрогену та R₃ являє собою метильну групу.

3. Сполука за п. 1 або її сіль, де R₁ являє собою метильну групу, R₂ являє собою атом гідрогену та R₃ являє собою атом гідрогену.

15 4. Сполука за п. 1 або її сіль, де R₁ являє собою метильну групу, R₂ являє собою атом флуору та R₃ являє собою метильну групу.

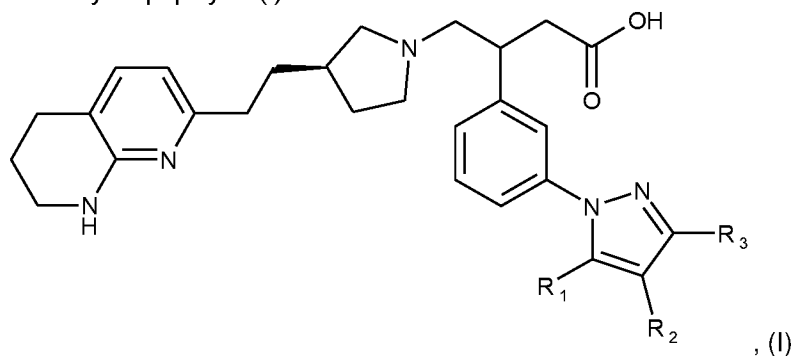
5. Сполука за п. 1 або її сіль, де R₁ являє собою атом гідрогену, R₂ являє собою атом гідрогену та R₃ являє собою атом гідрогену.

6. Сполука за п. 1 або її сіль, де R₁ являє собою етильну групу, R₂ являє собою атом гідрогену та R₃ являє собою метильну групу.

20 7. Сполука за п. 1 або її сіль, де R₁ являє собою етильну групу, R₂ являє собою атом гідрогену та R₃ являє собою етильну групу.

8. Сполука за п. 1 або її сіль, де R₁ являє собою атом гідрогену, R₂ являє собою атом гідрогену та R₃ являє собою метильну групу.

9. Сполука формули (I):



25

де

R₁ являє собою атом гідрогену, метильну групу або етильну групу;

R₂ являє собою атом гідрогену або атом флуору;

R₃ являє собою атом гідрогену, метильну групу або етильну групу.

30 10. Сполука за п. 9, вибрана з:

3-(3-(3,5-диметил-1Н-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутанової кислоти;

3-(3-(5-метил-1Н-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутанової кислоти;

35 3-(3-(5-етил-3-метил-1Н-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутанової кислоти;

3-(3-(1Н-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутанової кислоти;

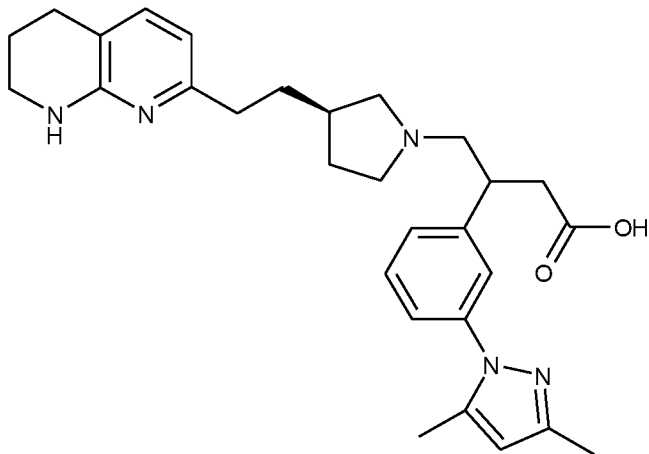
3-(3-(3,5-діетил-1H-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутанової кислоти;

3-(3-(4-флуор-3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутанової кислоти;

5 3-(3-(3-метил-1H-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутанової кислоти.

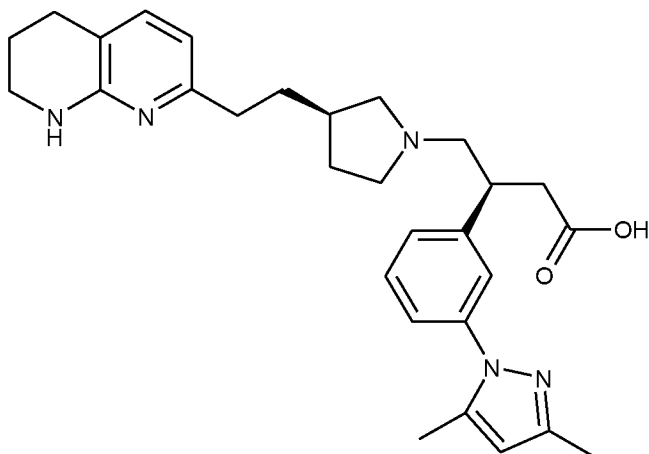
11. Сполука за п. 1, яка є:

3-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутановою кислотою:



10

12. Сполука за п. 1, яка є (S)-3-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутановою кислотою:



13. Сполука за п. 1, яка є гідрохлоридною сіллю 3-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутанової кислоти.

15

14. Сполука за п. 1, яка є гідрохлоридною сіллю (S)-3-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідин-1-іл)бутанової кислоти.

15. Сполука за будь-яким з пп. 1-14 або її фармацевтично прийнятна сіль для застосування в терапії.

20

16. Сполука за будь-яким з пп. 1-14 або її фармацевтично прийнятна сіль для застосування в лікуванні захворювання або стану, для якого показаним є антагоніст рецептора $\alpha\beta_6$.

17. Сполука за будь-яким з пп. 1-14 або її фармацевтично прийнятна сіль для застосування в лікуванні ідіопатичного легеневого фіброзу.

25

18. Спосіб лікування розладів, при яких є корисним антагонізм рецептора $\alpha\beta_6$, у людини, за яким людині, що потребує цього, вводять терапевтично ефективну кількість сполуки за будь-яким з пп. 1-14 або її фармацевтично прийнятної солі.

19. Спосіб профілактики розладів, при яких є корисним антагонізм рецептора $\alpha\beta_6$, у людини, за яким людині, що потребує цього, вводять терапевтично ефективну кількість сполуки за будь-яким з пп. 1-14 або її фармацевтично прийнятної солі.

20. Спосіб лікування фіброзних захворювань у людини, за яким людині, що потребує цього, вводять терапевтично ефективну кількість сполуки за будь-яким з пп. 1-14 або її фармацевтично прийнятної солі.

5 21. Спосіб профілактики фіброзних захворювань у людини, за яким людині, що потребує цього, вводять терапевтично ефективну кількість сполуки за будь-яким з пп. 1-14 або її фармацевтично прийнятної солі.

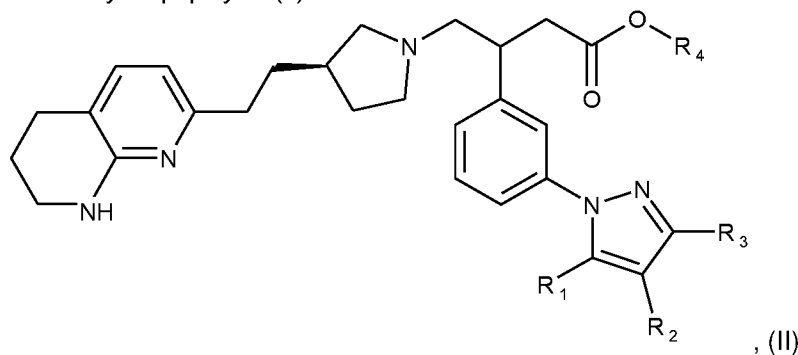
22. Спосіб лікування ідіопатичного легеневого фіброзу у людини, за яким людині, що потребує цього, вводять терапевтично ефективну кількість сполуки за будь-яким з пп. 1-14 або її фармацевтично прийнятної солі.

10 23. Спосіб профілактики ідіопатичного легеневого фіброзу у людини, за яким людині, що потребує цього, вводять терапевтично ефективну кількість сполуки за будь-яким з пп. 1-14 або її фармацевтично прийнятної солі.

15 24. Фармацевтична композиція, яка містить сполуку за будь-яким з пп. 1-14 або її фармацевтично прийнятну сіль та один або більше фармацевтично прийнятних носіїв, розріджувачів або ексципієнтів.

25. Застосування сполуки за будь-яким з пп. 1-14 або її фармацевтично прийнятної солі у виробництві лікарського засобу для лікування захворювання або стану, при якому показаним є антагоніст рецептора $\alpha_v\beta_6$.

26. Сполука формули (II) або її сіль



20

де R₁ являє собою атом гідрогену, метильну групу або етильну групу;

R₂ являє собою атом гідрогену або атом флуору;

R₃ являє собою атом гідрогену, метильну групу або етильну групу та

25 R₄ - C₁-C₆алкільна група.

27. Сполука за п. 26, де R₄ являє собою трет-Бу, ізопропілну, етильну або метильну групу.

28. Сполука за п. 27, яка є метил-3-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідін-1-іл)бутаноатом.

30 29. Сполука за п. 27, яка є трет-бутил-3-(3-(3,5-диметил-1H-піразол-1-іл)феніл)-4-((R)-3-(2-(5,6,7,8-тетрагідро-1,8-нафтиридин-2-іл)етил)піролідін-1-іл)бутаноатом.

Комп'ютерна верстка В. Мацело

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601