

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 027059

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2017.06.30

(21) Номер заявки
201491321

(22) Дата подачи заявки
2013.01.23

(51) Int. Cl. C07D 401/12 (2006.01)
C07D 403/12 (2006.01)
C07D 413/12 (2006.01)
A61K 31/535 (2006.01)
A61K 31/5355 (2006.01)

(54) ФТОРМЕТИЛ-5,6-ДИГИДРО-4Н-[1,3]ОКСАЗИНЫ

(31) 12152686.7

(32) 2012.01.26

(33) EP

(43) 2014.11.28

(86) PCT/EP2013/051166

(87) WO 2013/110622 2013.08.01

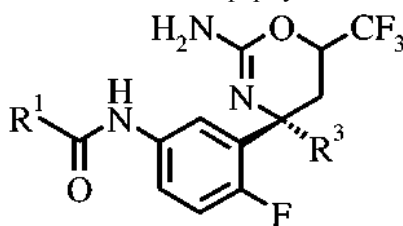
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
Ф.ХОФФМАНН-ЛЯ РОШ АГ (CH);
СИЕНА БИОТЕК С.П.А. (IT)

(72) Изобретатель:
Хильперт Ханс (CH), Хумм Роланд,
Волтеринг Томас (DE)

(74) Представитель:
Хмара М.В., Рыбаков В.М., Липатова
И.И., Новоселова С.В., Дощечкина
В.В. (RU)

(56) WO-A1-2011069934
WO-A1-2011009943
WO-A1-2011020806
WO-A1-2010128058

(57) Настоящее изобретение предлагает соединения формулы Ia-1



Ia-1,

обладающие активностью ингибитора β-секретазы 1 (BACE1), их получение, фармацевтические композиции, содержащие такие соединения, и их применение в качестве терапевтически активных веществ для лечения и/или профилактики заболеваний и расстройств, характеризующихся повышенным уровнем β-амилоида, и/или олигомеров β-амилоида, и/или β-амилоидных бляшек и прочих отложений, например болезни Альцгеймера.

B1

027059

027059

B1

Предшествующий уровень техники

Болезнь Альцгеймера (БА) представляет собой нейродегенеративное заболевание центральной нервной системы и является основной причиной прогрессирующего слабоумия у пожилых людей. Ее клиническими симптомами являются нарушение памяти, когнитивных функций, ориентации во времени и пространстве, помутнение сознания и нарушение интеллектуальной деятельности, а также серьезные эмоциональные расстройства. В настоящее время не существует эффективной терапии для профилактики возникновения или прогрессирования данного заболевания или же стабильной ремиссии его клинических симптомов. БА стала главной медицинской проблемой во всех социумах с высоким показателем средней продолжительности жизни, а также значительным экономическим бременем для их систем здравоохранения.

БА характеризуется двумя основными патологиями в центральной нервной системе (ЦНС): возникновением амилоидных бляшек и нейрофибриллярных клубков (Hardy et al., *The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics*, *Science*. 2002 Jul 19; 297(5580):353-6, Selkoe, *Cell biology of the amyloid beta-protein precursor and the mechanism of Alzheimer's disease*, *Annu Rev Cell Biol*. 1994; 10:373-403). Обе патологии часто выявляются у пациентов с синдромом Дауна (трисомия 21), у которых в молодости развиваются симптомы, сходные с симптомами болезни Альцгеймера. Нейрофибриллярные клубки представляют собой внутриклеточные агрегаты ассоциированного с микротрубочками тау-белка (МАРТ). Амилоидные бляшки встречаются в экстраклеточном пространстве; их основными компонентами являются Аβ-пептиды. Последние представляют собой группу протеолитических фрагментов, которые образуются из предшественника белка бета-амилоида (APP) в несколько стадий протеолитического расщепления. Идентифицировано несколько форм APP, из которых наиболее распространены белки длиной 695, 751 и 770 аминокислот. Они все происходят из одного и того же гена за счет дифференциального сплайсинга. Аβ-пептиды образуются из одного и того же домена APP, но различаются на N- и C-концах, при этом преобладающие молекулы имеют длину 40 и 42 аминокислот. Имеется целый ряд данных, отчетливо указывающих на то, что агрегированные Аβ-пептиды представляют собой молекулы, играющие ключевую роль в патогенезе БА: 1) амилоидные бляшки, образованные Аβ-пептидами, представляют собой неотъемлемую часть патологии БА; 2) Аβ-пептиды токсичны для нейронов; 3) при наследственной болезни Альцгеймера (НБА) мутации в генах предрасположенности к заболеванию APP, PSN1, PSN2 приводят к повышенному уровню Аβ-пептидов и раннему амилоидозу головного мозга; 4) у трансгенных мышей, экспрессирующих такие гены НБА, развивается патология, которая во многом напоминает болезнь человека. Аβ-пептиды образуются из APP за счет последовательного действия двух протеолитических ферментов, обозначаемых как β- и γ-секретаза. Под действием β-секретазы вначале происходит расщепление во внеклеточном домене APP, на расстоянии примерно 28 аминокислот от трансмембранного домена (ТМ), с образованием С-концевого фрагмента APP, содержащего трансмембранный и цитоплазматический домен (СТFβ). Домен СТFβ представляет собой субстрат для γ-секретазы, которая осуществляет расщепление по нескольким смежным положениям внутри ТМ с образованием Аβ-пептидов и цитоплазматического фрагмента. γ-Секретаза представляет собой комплекс, состоящий по меньшей мере из четырех различных белков; ее каталитическая субъединица очень близка по структуре к белку пресенилину (PSEN1, PSEN2). β-Секретаза (BACE1, Asp2; BACE обозначает β-сайт APP-расщепляющего фермента) представляет собой аспартил-протеазу, которая зафиксирована на мембране за счет трансмембранного домена (Vassar et al., *Beta-secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by the transmembrane aspartic protease BACE*, *Science*. 1999 Oct 22; 286(5440):735). Она экспрессируется во многих тканях человеческого организма, но ее уровень особенно высок в ЦНС. Путем генетического удаления гена BACE1 у мышей было четко показано, что активность этого гена играет ключевую роль в процессировании APP, которое приводит к образованию Аβ-пептидов; в отсутствие BACE1 Аβ-пептиды не продуцируются (Luo et al., *Mice deficient in BACE1, the Alzheimer's beta-secretase, have normal phenotype and abolished beta-amyloid generation*, *Nat Neurosci*. 2001 Mar; 4(3):231-2, Roberds et al., *BACE knockout mice are healthy despite lacking the primary beta-secretase activity in brain: implications for Alzheimer's disease therapeutics*, *Hum Mol Genet*. 2001 Jun 1; 10(12):1317-24). У мышей, которые были генетически модифицированы таким образом, чтобы они экспрессировали человеческий ген APP, и у которых с возрастом образуются обширные амилоидные бляшки и развиваются патологии, сходные с болезнью Альцгеймера, этого не происходит, если активность β-секретазы снижена за счет генетического удаления одного из аллелей BACE1 (McConlogue et al., *Partial reduction of BACE1 has dramatic effects on Alzheimer plaque and synaptic pathology in APP Transgenic Mice*. *J Biol Chem*. 2007 Sep 7; 282(36):26326). В связи с этим предполагают, что ингибиторы активности BACE1 могут представлять собой эффективные агенты для терапевтического лечения болезни Альцгеймера (БА).

Кроме того, предложенные соединения ингибируют образование или же образование и отложение β-амилоидных пептидов в, на или в окрестности нервной ткани (например, в головном мозге), т.е. они ингибируют продукцию Аβ-пептидов из APP или фрагмента APP.

Помимо этого, ингибиторы BACE1 можно применять для лечения следующих заболеваний:

IBM (миозит с включенными тельцами) (Vattemi G. et al., *Lancet*. 2001 Dec 8; 358(9297): 1962-4),

синдром Дауна (Barbiero L. et al., Exp Neurol. 2003 Aug; 182(2):335-45), болезнь Вильсона (Sugimoto I. et al., J Biol Chem. 2007 Nov 30; 282(48):34896-903), болезнь Уиппла (Desnues B. et al., Clin Vaccine Immunol. 2006 Feb; 13(2):170-8), спиноцеребеллярная атаксия 1 и спиноцеребеллярная атаксия 7 (Gatchel J.R. et al., Proc Natl Acad Sci U S A 2008 Jan 29; 105(4):1291-6), дерматомиозит (Greenberg S.A. et al., Ann Neurol. 2005 Can; 57(5):664-78; Greenberg S.A. et al., Neurol 2005 Can; 57(5):664-78), саркома Капоши (Lagos D. et al., Blood, 2007 Feb 15; 109(4):1550-8), мультиформная глиобластома (E-MEXP-2576, <http://www.ebi.ac.uk/microarray-as/aer/result?queryFor=PhysicalArrayDesign&aAccession=A-MEXP-258>), ревматоидный артрит (Ungethuem U. et al., GSE2053), амиотрофический боковой склероз (Koistinen H. et al., Muscle Nerve. 2006 Oct; 34(4):444-50; Li Q.X. et al., Aging Cell. 2006 Apr; 5(2):153-65), болезнь Гентингтона (Kim Y.J. et al., Neurobiol Dis. 2006 Can; 22(2):346-56. Epub 2006 Jan 19; Hodges A. et al., Hum Mol Genet. 2006 Mar 15; 15(6):965-77. Epub 2006 Feb 8), множественная миелома (Kihara Y. et al., Proc Natl Acad Sci USA. 2009 Dec 22; 106(51): 21807-12), злокачественная меланома (Talantov D. et al., Clin Cancer Res. 2005 Oct 15; 11(20):7234-42), синдром Шегрена (Basset C. et al., Scand J Immunol. 2000 Mar; 51(3): 307-11), эритематозная волчанка (Grewal P.K. et al., Mol Cell Biol. 2006, Jul; 26(13):4970-81), миофасцит макрофаговый, ювенильный идиопатический артрит, гранулематозный артрит, рак молочной железы (Hedlund M. et al., Cancer Res. 2008 Jan 15; 68(2):388-94; Kondoh K. et al., Breast Cancer Res Treat. 2003 Mar; 78(1):37-44), заболевания желудочно-кишечного тракта (Hoffmeister A. et al., JOP. 2009 Sep 4; 10(5): 501-6), аутоиммунные/воспалительные заболевания (Woodard-Grice A.V. et al., J Biol Chem. 2008 Sep 26; 283(39): 26364-73. Epub 2008 Jul 23), ревматоидный артрит (Toegel S. et al., Osteoarthritis Cartilage. 2010 Feb; 18(2): 240-8. Epub 2009 Sep 22), воспалительные реакции (Lichtenthaler S.F. et al., J Biol Chem. 2003 Dec 5; 278(49): 48713-9. Epub 2003 Sep 24), артериальный тромбоз (Merten M. et al., Z Kardiol. 2004 Nov; 93(11): 855-63), сердечно-сосудистые заболевания, такие как инфаркт миокарда и инсульт (Maugeri N. et al., Srp Arh Celok Lek. 2010 Jan; 138 Suppl 1:50-2) и базедова болезнь (Kiljariski J. et al., Thyroid. 2005 Jul; 15(7): 645-52).

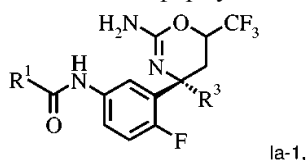
Настоящее изобретение предлагает новые соединения формулы Ia-1, их получение, лекарственные средства на основе соединений по изобретению и их изготовление, а также применение соединений формулы Ia-1 для лечения и/или профилактики заболеваний и расстройств, характеризующихся повышенным уровнем β -амилоида и/или олигомеров β -амилоида и/или β -амилоидных бляшек и прочих отложений, таких как болезнь Альцгеймера. Кроме того, предложено применение соединений формулы Ia-1 для лечения и/или профилактики амиотрофического бокового склероза (ALS), аутоиммунных/воспалительных заболеваний, таких как базедова болезнь, эритематозная волчанка, синдром Шегрена, воспалительные реакции, рака, такого как рак молочной железы, мультиморфная глиобластома, саркома Капоши, злокачественная меланома и множественная миелома, сердечно-сосудистых заболеваний, таких как артериальный тромбоз, инфаркт миокарда и инсульт, дерматомиозита, синдрома Дауна, заболеваний желудочно-кишечного тракта, болезни Гентингтона, миозита с включенными тельцами (IBM), болезни Костманна, миофасцита макрофагового, ювенильного идиопатического артрита, гранулематозного артрита, ревматоидного артрита, спиноцеребеллярной атаксии 1, спиноцеребеллярной атаксии 7, болезни Уиппла или болезни Вильсона. Новые соединения формулы Ia-1 обладают улучшенными фармакологическими свойствами.

Область техники

Настоящее изобретение предлагает фторметил-5,6-дигидро-4H-[1,3]оксазин-2-иламины, обладающие свойствами ингибиторов BACE1, их получение, фармацевтические композиции, содержащие такие соединения, а также их применение в качестве терапевтически активных веществ.

Сущность изобретения

Настоящее изобретение предлагает соединение формулы Ia-1



в котором заместители и переменные описаны ниже, а также в формуле изобретения, или их фармацевтически приемлемые соли.

Заявленные соединения обладают активностью ингибиторов Asp2 (β -секретазы, BACE1 или Мемплазина-2), и поэтому их можно применять для лечения и/или профилактики заболеваний и расстройств, которые характеризуются повышенным уровнем β -амилоида, и/или олигомеров β -амилоида, и/или β -амилоидных бляшек и прочих отложений, в частности болезни Альцгеймера.

Подробное описание изобретения

Настоящее изобретение предлагает соединение формулы Ia-1 и его фармацевтически приемлемые соли, получение вышеупомянутых соединений, содержащие их лекарственные средства и изготовление, а также применение вышеупомянутых соединений для лечения и/или профилактики заболеваний и расстройств, которые связаны с ингибированием BACE1, например болезни Альцгеймера. Кроме того, обра-

зование или же образование и отложение β -амилоидных бляшек в, на или в окрестности нервной ткани (например, в головном мозге) ингибируются предложенными соединениями за счет ингибирования продукции А β -пептидов из APP или фрагмента APP.

Нижеперечисленные определения общих терминов, используемых в настоящем описании, применяются независимо от того, встречается ли обсуждаемый термин в отдельности или в сочетании с другими группами.

Если не указано иное, нижеперечисленные термины, используемые в настоящей заявке, включая описание и формулу изобретения, имеют значения, раскрытые ниже. Следует заметить, что используемые в настоящем описании и прилагаемой формуле изобретения формы единственного числа включают ссылку на формы множественного числа, кроме тех случаев, когда из контекста не следует противоположное.

Термин "C₁₋₆-алкил", в отдельности или в сочетании с другими группами, обозначает углеводородный радикал, который может быть линейным или разветвленным, с единственным или несколькими разветвлениями, причем указанный алкил в общем случае включает от 1 до 6 атомов углерода, например, метил (Me), этил (Et), пропил, изопропил, н-бутил, изобутил, 2-бутил (втор-бутил), трет-бутил, изопентил, 2-этилпропил (2-метилпропил), 1,2-диметилпропил и т.п. В частности, "C₁₋₆-алкил" представляет собой "C₁₋₃-алкил". В частном случае, такими группами являются метил и этил. Частным примером является метил.

Термин "галоген-C₁₋₆-алкил", отдельно или в сочетании с другими группами, обозначает C₁₋₆-алкил, раскрытый в настоящем описании, который замещен одним или несколькими атомами галогена, в частности 1-5 атомами галогена, в частном случае 1-3 атомами галогена. В частности, галоген представляет собой фтор. В частном случае, "галоген-C₁₋₆-алкил" представляет собой фтор-C₁₋₆-алкил, и в частном случае, "галоген-C₁₋₃-алкил" представляет собой фтор-C₁₋₃-алкил. Примерами являются трифторметил, дифторметил, фторметил и т.п. В частном случае, такой группой является трифторметил.

Термин "циано", отдельно или в сочетании с другими группами, обозначает группу N \equiv C-(NC-).

Термин "галоген", отдельно или в сочетании с другими группами, обозначает хлор (Cl), иод (I), фтор (F) и бром (Br). В частности, "галоген" представляет собой Cl и F. В частном случае, такой группой является атом F.

Термин "фармацевтически приемлемые соли" обозначает соли, которые подходят для применения в контакте с тканями человека или животного. Примерами подходящих солей с неорганическими и органическими кислотами являются, без ограничения, соли уксусной кислоты, лимонной кислоты, муравьиной кислоты, фумаровой кислоты, хлороводородной кислоты, молочной кислоты, малеиновой кислоты, яблочной кислоты, метансульфоновой кислоты, азотной кислоты, фосфорной кислоты, п-толуолсульфоновой кислоты, янтарной кислоты, серной кислоты (сернистой кислоты), винной кислоты, трифторуксусной кислоты и т.п. В частности, такая кислота представляет собой муравьиную кислоту, трифторуксусную кислоту и хлороводородную кислоту. В частности, такой кислотой является хлороводородная кислота, трифторуксусная кислота и фумаровая кислота.

Термины "фармацевтически приемлемый носитель" и "фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество" обозначают носители и вспомогательные вещества, такие как разбавители или наполнители, совместимые с другими компонентами лекарственной формы.

Термин "фармацевтическая композиция" включает продукт, содержащий указанные ингредиенты в предварительно определенных количествах или пропорциях, а также любой продукт, который можно получить, прямо или опосредованно, путем комбинации указанных ингредиентов в заданных количествах. В частности, он охватывает продукт, включающий один или более активных ингредиентов и, возможно, носитель, включающий инертные ингредиенты, а также любой продукт, который можно получить, прямо или опосредованно, в результате сочетания, комплексования или агрегирования любых двух или более ингредиентов или в результате диссоциации одного или более ингредиентов или за счет других типов реакций или взаимодействий одного или более ингредиентов.

Термин "ингибитор" обозначает соединение, которое конкурирует за связывание, снижает связывание или препятствует связыванию конкретного лиганда с заданным рецептором или которое снижает или препятствует ингибированию функции конкретного белка.

Термин "полумаксимальная ингибирующая концентрация" (IC₅₀) обозначает концентрацию конкретного соединения, которая необходима для достижения 50% ингибирования биологического процесса *in vitro*. Величины IC₅₀ можно логарифмически преобразовывать в величины pIC₅₀ (-log IC₅₀), для которых более высокие значения соответствуют большей активности, по экспоненциальной зависимости. Величина IC₅₀ является не абсолютной величиной, но зависит от экспериментальных условий, например от используемых концентраций. Величину IC₅₀ можно преобразовать в абсолютную константу ингибирования (K_i) с помощью уравнения Ченга-Прусоффа (Biochem. Pharmacol. (1973) 22:3099). Термин "константа ингибирования" (K_i) обозначает абсолютную степень сродства конкретного ингибитора к рецептору. Ее определяют количественно с помощью конкурентного анализа связывания, и она равна концентрации, при которой конкретный ингибитор связал бы 50% рецепторов в отсутствие конкурирующего

лиганда (например, радиолиганда). Величины K_i можно логарифмически преобразовать в величины pK_i ($-\log K_i$), для которых более высокие значения соответствуют большей активности, по экспоненциальной зависимости.

"Терапевтически эффективное количество" обозначает такое количество соединения, которое при введении его субъекту с целью лечения болезненного состояния оказывается достаточным для проведения лечения данного болезненного состояния. "Терапевтически эффективное количество" варьируется в зависимости от соединения, болезненного состояния, на которое направлено лечение, тяжести заболевания, на которое направлено лечение, возраста и относительного здоровья субъекта, способа и формы введения, мнения лечащего врача или ветеринара и других факторов.

Термины "раскрытый в данном описании" и "описанный в данном тексте" в случаях, когда они относятся к переменной, включают посредством ссылки широкое определение этой переменной, а также конкретное, более конкретное и наиболее конкретное определение, если такие имеются.

Термины "обработка", "введение в контакт" и "введение в реакцию" в тех случаях, когда они относятся к химической реакции, означают добавление или смешение двух или более реагентов в подходящих условиях с получением указанного и/или желаемого продукта. Следует понимать, что реакция, которая приводит к указанному и/или желаемому продукту, не всегда является непосредственным результатом сочетания двух реагентов, которые были изначально добавлены, т.е. возможно образование в реакционной смеси одного или более промежуточных продуктов, что в конечном итоге приводит к получению указанного и/или желаемого продукта.

Термин "защитная группа" обозначает группу, которая селективно блокирует реакционноспособный сайт в соединении с несколькими функциональными группами таким образом, чтобы можно было селективно провести химическую реакцию на другом незащищенном реакционноспособном сайте, в общепринятом значении, относящемся к области синтетической химии. Защитные группы можно удалять в нужный момент. Примерами защитных групп являются аминопротекторные группы, карбокси- и гидроксипротекторные группы или гидроксипротекторные группы. Термин "аминопротекторная группа" (здесь также P^1) обозначает группы, предназначенные для защиты аминогруппы, и включает следующие примеры: бензил, бензилоксикарбонил (карбобензилокси, CBZ), 9-флюоренилметилоксикарбонил (FMOC), п-метоксибензилоксикарбонил, п-нитробензилоксикарбонил, трет-бутоксикарбонил (BOC) и трифторацетил. Дополнительные примеры таких групп можно найти в литературе (T. W. Greene and P. G. M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", 2nd ed., John Wiley & Sons, Inc., New York, NY, 1991, chapter 7; E. Haslam, "Protective Groups in Organic Chemistry", J. G. W. McOmie, Ed., Plenum Press, New York, NY, 1973, Chapter 5; T.W. Greene, "Protective Groups in Organic Synthesis", John Wiley and Sons, New York, NY, 1981). Термин "защищенная аминогруппа" обозначает аминогруппу, содержащую в качестве заместителя аминопротекторные группы. В частности, аминопротекторными группами являются трет-бутоксикарбонильная группа и диметокситритил.

Термин "уходящая группа" обозначает группу в общепринятом значении, относящемся к области синтетической химии, т.е. атом или группу, которые можно заместить в условиях реакции замещения. Примерами уходящих групп являются: атом галогена, в частности брома, алкан- или ариленсульфонилокси-группа, например метансульфонилокси-, этансульфонилокси-, тиометил, бензолсульфонилокси-, тозилокси-, дигалогенфосфиноилокси-, возможно, замещенная бензилокси-, изопропилокси- и ацилокси-группа.

Термин "ароматический" связан с общепринятым понятием ароматичности, раскрытым в литературе, в частности, в IUPAC - Compendium of Chemical Terminology, 2nd, A. D. McNaught & A. Wilkinson (Eds). Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997).

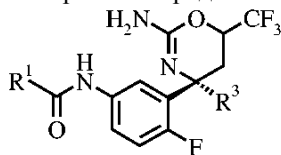
Термин "фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество" обозначает любой ингредиент, не обладающий терапевтической активностью и не обладающий токсичностью, например разрыхлители, связующие вещества, наполнители, растворители, буферы, вещества, регулирующие тоничность, стабилизаторы, антиоксиданты, поверхностно-активные вещества или лубриканты, применяемый при изготовлении лекарственных форм фармацевтических продуктов.

Во всех случаях, когда в химической структуре присутствует хиральный атом углерода, подразумевается, что данной структурой охвачены все стереоизомеры, связанные с этим хиральным атомом углерода, в виде чистых стереоизомеров, а также их смесей.

Настоящее изобретение предлагает также фармацевтические композиции, способы применения и способы получения упомянутых выше соединений.

Отдельные варианты осуществления можно комбинировать.

В одном воплощении настоящего изобретения предложено соединение формулы Ia-1



Ia-1

N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-(дифторметил)пиразин-2-карбоксаимд,

N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-4-хлор-1-(дифторметил)-1Н-пиразол-3-карбоксаимд,

N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-2-(фторметил)оксазол-4-карбоксаимд,

N-(3-((4S,6R)-2-амино-4-(дифторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-цианопиколинамид и

N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-(дифторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-цианопиколинамид

или его фармацевтически приемлемая соль.

В частном воплощении настоящего изобретения предложено соединение, раскрытое в настоящем описании, выбранное из группы, состоящей из следующих соединений:

N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-цианопиколинамид,

N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-хлорпиколинамид,

N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-цианопиколинамид,

N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-хлорпиколинамид,

N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-метоксипиразин-2-карбоксаимд,

N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-(2,2-дифторэтокси)пиразин-2-карбоксаимд и

N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-(2,2,2-трифторэтокси)пиразин-2-карбоксаимд,

или его фармацевтически приемлемая соль.

В частном воплощении настоящего изобретения предложено соединение, раскрытое в настоящем описании, которое представляет собой N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-цианопиколинамид;

в частном воплощении настоящего изобретения предложено соединение, раскрытое в настоящем описании, которое представляет собой N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-хлорпиколинамид;

в частном воплощении настоящего изобретения предложено соединение, раскрытое в настоящем описании, которое представляет собой N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-цианопиколинамид;

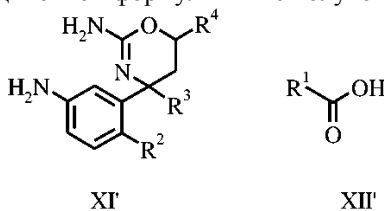
в частном воплощении настоящего изобретения предложено соединение, раскрытое в настоящем описании, которое представляет собой N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-хлорпиколинамид;

в частном воплощении настоящего изобретения предложено соединение, раскрытое в настоящем описании, которое представляет собой N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-метоксипиразин-2-карбоксаимд;

в частном воплощении настоящего изобретения предложено соединение, раскрытое в настоящем описании, которое представляет собой N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-(2,2-дифторэтокси)пиразин-2-карбоксаимд; и

в частном воплощении настоящего изобретения предложено соединение, раскрытое в настоящем описании, которое представляет собой N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-(2,2,2-трифторэтокси)пиразин-2-карбоксаимд.

В частном воплощении настоящего изобретения предложен способ, включающий введение в реакцию соединения формулы XI' с соединением формулы XII' с получением соединения формулы Ia-1.



где R¹ и R³ раскрыты выше в настоящем описании, R² представляет собой F, R⁴ представляет собой

CF₃.

В частном воплощении настоящего изобретения предложено соединение формулы Ia-1, раскрытое в настоящем описании, во всех случаях, когда оно получено способом, определенным выше.

В частном воплощении настоящего изобретения предложено применение соединения формулы Ia-1, раскрытого в настоящем описании, в качестве ингибитора активности β-секретазы 1 (BACE1).

В частном воплощении настоящего изобретения предложено применение соединения формулы Ia-1, раскрытого в настоящем описании, в качестве терапевтически активного вещества для лечения и/или профилактики заболеваний и расстройств, характеризующихся повышенным уровнем β-амилоида и/или олигомеров β-амилоида и/или β-амилоидных бляшек и прочих отложений.

В частном воплощении настоящего изобретения предложено применение соединения формулы Ia-1, раскрытого в настоящем описании, в качестве терапевтически активного вещества для лечения и/или профилактики болезни Альцгеймера.

В частном воплощении настоящего изобретения предложено применение соединения формулы Ia-1, раскрытого в настоящем описании, в качестве терапевтически активного вещества для лечения и/или профилактики бокового амиотрофического склероза (ALS), аутоиммунных/воспалительных заболеваний, таких как базедова болезнь, эритематозная волчанка, синдром Шегрена, воспалительные реакции, рака, такого как рак молочной железы, мультиформная глиобластома, саркома Капоши, злокачественная меланома и множественная миелома, сердечно-сосудистых заболеваний, таких как артериальный тромбоз, инфаркт миокарда и инсульт, дерматомиозита, синдрома Дауна, заболеваний желудочно-кишечного тракта, болезни Гентингтона, миозита с включенными тельцами (IBM), болезни Костманна, миофасцита макрофагового, ювенильного идиопатического артрита, гранулематозного артрита, ревматоидного артрита, спиноцереbellарной атаксии 1, спиноцереbellарной атаксии 7, болезни Уиппла или болезни Вильсона.

В частном воплощении настоящего изобретения предложена фармацевтическая композиция, обладающая способностью ингибировать активность β-секретазы 1 (BACE1), включающая соединение формулы Ia-1, раскрытое в настоящем описании, и фармацевтически приемлемый носитель и/или фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

В частном воплощении настоящего изобретения предложено применение соединения формулы Ia-1, раскрытого в настоящем описании, для изготовления лекарственного средства для лечения и/или профилактики заболеваний и расстройств, характеризующихся повышенным уровнем β-амилоида и/или олигомеров β-амилоида и/или β-амилоидных бляшек и прочих отложений.

В частном воплощении настоящего изобретения предложено применение соединения формулы Ia-1, раскрытого в настоящем описании, для изготовления лекарственного средства для лечения и/или профилактики болезни Альцгеймера.

В частном воплощении настоящего изобретения предложено применение соединения формулы Ia-1, раскрытого в настоящем описании, для изготовления лекарственного средства для лечения и/или профилактики амиотрофического бокового склероза (ALS), аутоиммунных/воспалительных заболеваний, таких как базедова болезнь, эритематозная волчанка, синдром Шегрена, воспалительные реакции, рака, такого как рак молочной железы, мультиформная глиобластома, саркома Капоши, злокачественная меланома и множественная миелома, сердечно-сосудистых заболеваний, таких как артериальный тромбоз, инфаркт миокарда и инсульт, дерматомиозита, синдрома Дауна, заболеваний желудочно-кишечного тракта, болезни Гентингтона, миозита с включенными тельцами (IBM), болезни Костманна, миофасцита макрофагового, ювенильного идиопатического артрита, гранулематозного артрита, ревматоидного артрита, спиноцереbellарной атаксии 1, спиноцереbellарной атаксии 7, болезни Уиппла или болезни Вильсона.

В частном воплощении настоящего изобретения предложен способ лечения и/или профилактики болезни Альцгеймера или амиотрофического бокового склероза (ALS), аутоиммунных/воспалительных заболеваний, таких как базедова болезнь, эритематозная волчанка, синдром Шегрена, воспалительные реакции, рака, такого как рак молочной железы, мультиформная глиобластома, саркома Капоши, злокачественная меланома и множественная миелома, сердечно-сосудистых заболеваний, таких как артериальный тромбоз, инфаркт миокарда и инсульт, дерматомиозита, синдрома Дауна, заболеваний желудочно-кишечного тракта, болезни Гентингтона, миозита с включенными тельцами (IBM), болезни Костманна, миофасцита макрофагового, ювенильного идиопатического артрита, гранулематозного артрита, ревматоидного артрита, спиноцереbellарной атаксии 1, спиноцереbellарной атаксии 7, болезни Уиппла или болезни Вильсона, включающий введение соединения формулы Ia-1, раскрытого в настоящем описании, человеку или животному.

В частном воплощении настоящего изобретения предложен способ лечения и/или профилактики болезни Альцгеймера, включающий введение соединения формулы Ia-1, раскрытого в настоящем описании, человеку или животному.

В частном воплощении настоящего изобретения предложен способ лечения и/или профилактики амиотрофического бокового склероза (ALS), аутоиммунных/воспалительных заболеваний, таких как базедова болезнь, эритематозная волчанка, синдром Шегрена, воспалительные реакции, рака, такого как

рак молочной железы, мультиморфная глиобластома, саркома Капоши, злокачественная меланома и множественная миелома, сердечно-сосудистых заболеваний, таких как артериальный тромбоз, инфаркт миокарда и инсульт, дерматомиозита, синдрома Дауна, заболеваний желудочно-кишечного тракта, болезни Гентингтона, миозита с включенными тельцами (IBM), болезни Костманна, миофасцита макрофагового, ювенильного идиопатического артрита, гранулематозного артрита, ревматоидного артрита, спиноцеребеллярной атаксии 1, спиноцеребеллярной атаксии 7, болезни Уиппла или болезни Вильсона, включающий введение соединения формулы Ia-1, раскрытого в настоящем описании, человеку или животному.

Соединения формулы Ia-1 могут содержать один или более асимметрических центров и поэтому они могут существовать в виде рацематов, рацемических смесей, отдельных энантиомеров, диастереомерных смесей и индивидуальных диастереомеров. В зависимости от природы различных заместителей в молекуле, возможно наличие дополнительных асимметрических центров. Каждый такой асимметрический центр независимо будет давать два оптических изомера, и подразумевается, что все возможные оптические изомеры и диастереомеры в виде смесей, а также в виде чистых или частично очищенных веществ, охвачены настоящим изобретением. Подразумевается, что данное изобретение охватывает все подобные изомерные формы таких соединений. Независимые синтезы этих диастереомеров или их хроматографическое разделение можно осуществить способами, известными в данной области техники, путем подходящей модификации методологии, раскрытой в данном описании. Их абсолютную стереохимию можно определить с помощью рентгеноструктурного анализа кристаллических продуктов или кристаллических промежуточных веществ, которые по необходимости дериватизируют с помощью реагента, содержащего асимметрический центр с известной абсолютной конфигурацией. По желанию, рацемические смеси соединений можно разделять с тем, чтобы выделить индивидуальные энантиомеры. Разделение можно проводить способами, которые хорошо известны в данной области техники, такими как сочетание рацемической смеси соединений с энантиомерно чистым соединением, приводящее к смеси диастереомеров, с последующим разделением индивидуальных диастереомеров стандартными способами, такими как дробная кристаллизация или хроматография.

В тех воплощениях, где предложены оптически чистые энантиомеры, термин "оптически чистый энантиомер" означает, что данное соединение содержит > 90 мас.% желаемого изомера, в частности > 95 мас.% желаемого изомера или, в частном случае, > 99 мас.% желаемого изомера, при этом указанная масса выражена в процентах от общей массы изомера(ов) данного соединения. Хирально чистые или хирально обогащенные соединения можно получить хирально-селективным синтезом или разделением энантиомеров. Разделение энантиомеров можно проводить на стадии конечного продукта или, как вариант, на стадии подходящего промежуточного продукта.

Соединения формулы Ia-1 можно получить в соответствии со следующими схемами. Исходные вещества имеются в продаже или их можно получить известными способами. Любые ранее определенные остатки и переменные сохраняют свое раскрытое ранее значение, если не указано иное.

Алкил-2-хлор-2-(гидроксиимино)ацетат вводят в реакцию с олефином в присутствии основания, такого как алкиламин, в частности ТЕА (триэтиламин), или карбонат щелочного металла, в частности NaHCO₃ (гидрокарбонат натрия), в растворителе, таком как хлорированные алканы, в частности CH₂Cl₂ (дихлорметан), или эфир, в частности AcOEt (этилацетат), с получением эфира II.

Эфир II восстанавливают гидридом, в частности NaBH₄ (борогидридом натрия), в растворителе, таком как спирт, в частности EtOH (этанол), с получением спирта III.

Нитросоединение вводят в реакцию с олефином в присутствии активирующего реагента, такого как, например, изоцианат, в частности фенилизотиоцианат, и каталитического количества основания, в частности алкиламина, в частном случае ТЕА, в растворителе, таком как бензол или толуол, в частности бензол, или алкиловый эфир, в частности диэтиловый эфир, с получением дигидроизоксазола IV, где R³ представляет собой C₁₋₆-алкил, в частности метил.

Дигидроизоксазолы IV, где R³ представляет собой галоген-C₁₋₆-алкил, в частности фторметил, можно получить из спиртов III реакцией с фторирующим агентом, таким как, например, трифторид морфолиносеры, в инертном растворителе, таком как галогеналканы, предпочтительно дихлорметан, при температуре между -78°C и комнатной.

Арирование дигидроизоксазола IV арилбромидом V с получением изоксазолидина VI осуществляют с помощью реакции арилгалогенида, в частности арилбромида, с алкиллитиевым реагентом, в частности с n-BuLi, с получением ариллитиевых соединений, которые можно вводить в реакцию с дигидроизоксазолом IV в присутствии основания Льюиса, предпочтительно эфира трифтористого бора, в смеси растворителей, состоящей из эфира, в частности THF (тетрагидрофуран), и толуола, при температуре от -100°C до -20°C, в частности при -78°C.

Разделение рацемического изоксазолидина VI с получением хирального изоксазолидина VII можно осуществить с помощью хиральной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием колонки Chiralpack AD или Reprosil NR, в смеси n-гептана и этанола или изопропанола в качестве элюента.

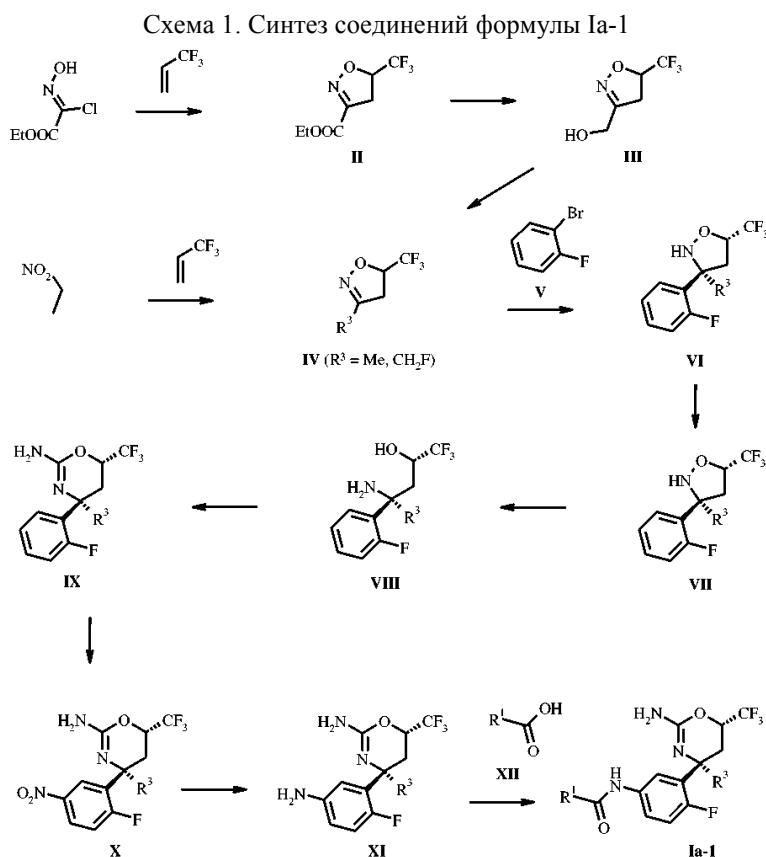
Гидрогенолиз хирального изоксазолидина VII до аминокспирта VIII лучше всего осуществлять путем гидрогенолиза с переносом водорода, с помощью палладиевого катализатора, в частности Pd на угле, и источника водорода, например соли муравьиной кислоты, в частности формиата аммония, в протонном растворителе, таком как спирт, в частности этанол.

Оксазин IX можно получить реакцией аминокспирта VIII бромцианом в растворителе, таком как спирт, в частности этанол, при повышенной температуре. Как вариант, эту реакцию можно проводить в две последовательные стадии с использованием бромциана и буфера, такого как, например, ацетат натрия, в присутствии растворителя, такого как, например, CH_3CN , с последующей циклизацией промежуточного продукта в присутствии минеральной кислоты, в частности хлороводородной кислоты, в растворителе, таком как эфир, в частности 1,4-диоксан.

Нитрование оксазина IX с получением нитрооксазина X осуществляют стандартным способом с использованием чистой серной кислоты и дымящей азотной кислоты без растворителя.

Восстановление нитрогруппы в промежуточном продукте X с получением анилина XI можно осуществить гидрированием с помощью катализатора, такого как Pd на угле, в протонных растворителях, таких как спирты, в частности этанол или метанол.

Селективную амидную конденсацию анилина XI и карбоновой кислоты XII с получением амида I можно осуществить с помощью 4-(4,6-диметокси[1.3.5]триазин-2-ил)-4-метилморфолина гидрохлорида (DMTMM) гидрата в качестве конденсирующего агента в растворителе, таком как спирт, в частности метанол.



Соединения формулы Ia-1 можно получить в соответствии с ниже следующей схемой 2.

Сульфинилимины общей формулы XIV можно получить по аналогии со способом, описанным в литературе (T.P. Tang & J.A. Ellman, *J. Org. Chem.* 1999, 64, 12), путем конденсации арилкетона XIII и сульфинамида, например алкилсульфинамида, в частном случае (R)-трет-бутилсульфинамида или (S)-трет-бутилсульфинамида, в присутствии кислоты Льюиса, такой как, например, алкоксид титана(IV), в частном случае этоксид титана(IV), в растворителе, таком как эфир, например диэтиловый эфир или, в частном случае, тетрагидрофуран.

Превращение сульфинилимина XIV в сульфинамидный эфир XV протекает стереоселективно за счет хирально-направляющей группы, как описано в литературе (Tang & Ellman). Сульфинилимин XIV можно вводить в реакцию Реформатского с енолятом цинка, генерируемым из алкилацетата, замещенного галогеном, например из этилбромацетата, и активированной цинковой пыли, при температуре от комнатной до повышенной, в частности от 23 до 60°C, в растворителе, таком как эфир, например диэтиловый эфир или, в частном случае, тетрагидрофуран, в присутствии соли меди(I), предпочтительно хлорида меди(I).

Альдегиды формулы XVI можно получить восстановлением этилового эфира формулы XV гидридом щелочного металла, например алюмогидридом лития, в присутствии диэтиламина или дигидробис(2-метоксиэтокси)алюмината натрия (Red-Al), предпочтительно с помощью гидроксида диизобутилалюминия (DIBALH), в инертном растворителе, таком как эфир, например диэтиловый эфир или, в частном случае, тетрагидрофуран, или в хлорированном растворителе, таком как дихлорметан, при температуре между -78°C и комнатной.

Спирты формулы XVII можно получить реакцией альдегидов формулы XVI с трифторметилирующим агентом, предпочтительно с трифторметилтриметилсиланом (реагент Рупперта-Пракаша), в присутствии фторида тетрабутиламмония в растворителе, таком как эфир, например диэтиловый эфир или, в частном случае, тетрагидрофуран, при температуре между -10°C и комнатной.

Гидролиз хирально-направляющей группы в сульфинамидоспирте формулы XVII с получением аминокислоты формулы XVIII можно осуществить с помощью минеральной кислоты, например серной кислоты или, в частности, хлороводородной кислоты, в растворителе, таком как эфир, например диэтиловый эфир, тетрагидрофуран или, в частном случае, 1,4-диоксан.

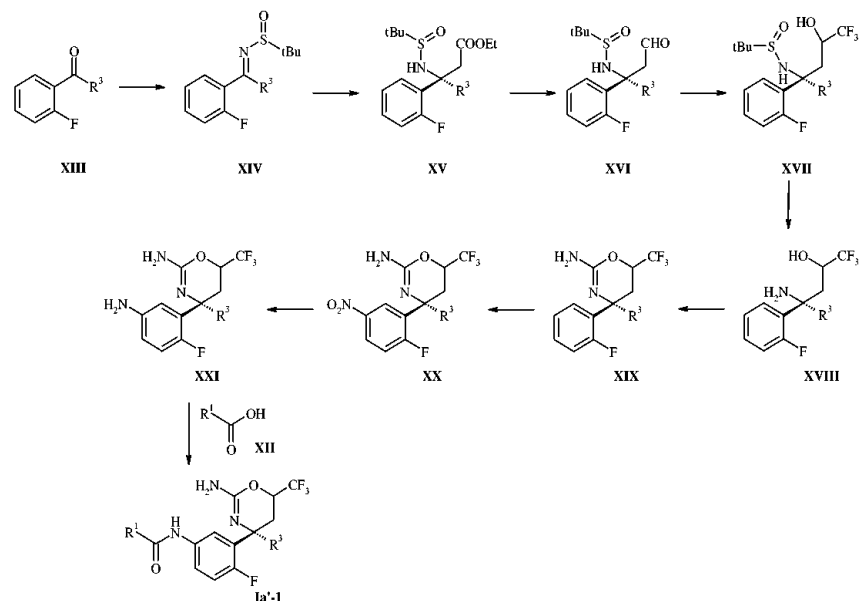
Аминооксазин формулы XIX можно получить реакцией аминокислоты формулы XVIII с бромцианом в растворителе, таком как спирт, в частности этанол.

Нитропроизводное формулы XX можно получить нитрованием оксазина XIX стандартным способом с помощью чистой серной кислоты и дымящей азотной кислоты, без растворителя.

Восстановление нитрогруппы в соединении формулы XX с получением анилинов формулы XXI можно осуществить гидрированием с помощью катализатора, такого как палладий на угле, в протонных растворителях, таких как спирты, в частности этанол или метанол.

Селективную реакцию анилинов формулы XXI с карбоновой кислотой формулы XII с получением амидов формулы Ia'-1 можно осуществить с помощью 4-(4,6-диметокси[1.3.5]триазин-2-ил)-4-метилморфолина гидрохлорида (DMTMM) в качестве конденсирующего агента в растворителе, таком как метанол, при температуре между 0°C и комнатной. Как вариант, 2,4,6-трипропил-1,3,5,2,4,6-триоксафосфоринан-2,4,6-триоксид ($\text{T}_3\text{P}^{\text{®}}$) можно использовать в качестве конденсирующего агента в инертном растворителе, таком как, например, этилацетат, при температуре между 0°C и комнатной.

Схема 2. Синтез соединений формулы Ia'-1 (где $\text{R}^3 = \text{CH}_3, \text{CH}_2\text{F}, \text{CHF}_2$)



Соответствующие фармацевтически приемлемые соли, образованные кислотами, можно получить стандартными способами, известными специалисту в данной области техники, например путем растворения соединения формулы Ia-1 в подходящем растворителе, таком как, например, диоксан или тетрагидрофуран, и добавления надлежащего количества соответствующей кислоты. Такие продукты обычно можно выделить с помощью фильтрации или хроматографии. Переведение соединения формулы Ia-1 в фармацевтически приемлемую соль, образованную основанием, можно осуществить путем обработки указанного соединения таким основанием. Один из возможных способов получения такой соли представляет собой, например, добавление 1/n эквивалентов основной соли, такой как, например, $\text{M}(\text{OH})_n$, где M = катион металла или аммония, а n = число гидроксидных анионов, к раствору соединения в подходящем растворителе (например, в этаноле, смеси этанол-вода, смеси тетрагидрофуран-вода), и удаление растворителя путем выпаривания или лиофилизации. В частности, такие соли могут представлять собой гидрохлорид, формиат и трифторацетат; в частном случае - гидрохлорид.

Если получение соединений не описано в примерах, то такие соединения формулы Ia-1, равно как и

все промежуточные продукты, можно получить аналогичными способами или способами, представленными в настоящем описании. Исходные вещества имеются в продаже, известны в данной области техники или могут быть получены способами, известными в данной области техники, или аналогичными им.

Следует понимать, что соединения общей формулы Ia-1 по настоящему изобретению можно дериватизировать по функциональным группам с получением производных, которые способны превращаться обратно в исходное соединение *in vivo*.

Фармакологические тесты

Соединения формулы Ia-1 и их фармацевтически приемлемые соли обладают ценными фармакологическими свойствами. Обнаружили, что соединения по настоящему изобретению связаны с ингибированием активности BACE1. Эти соединения были исследованы в соответствии с ниже описанным тестом.

Клеточный анализ снижения концентрации β -амилоида

Можно использовать набор реагентов для анализа A β 40 AlphaLISA. Клетки HEK293 APP высевали на 96-луночных планшетах Microtiter в среде для культивирования (среда Iscove, с добавлением 10% (об./об.) фетальной сыворотки коровы, пенициллин/стрептомицин) примерно до 80% слияния и внесли соединения в 3-кратной концентрации в 1/3 объема среды для культивирования (конечную концентрацию DMSO выдерживали при 1% об./об.). Через 18-20 ч инкубации при 37°C и 5% CO₂ в инкубаторе с увлажнением культуральные супернатанты собирали для определения концентраций A β 40 с помощью набора реагентов Perkin-Elmer Human Amyloid beta 1-40 (высокой специфичности) (кат. № AL275C).

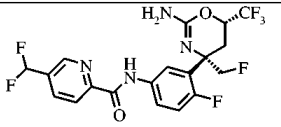
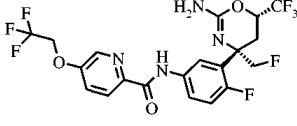
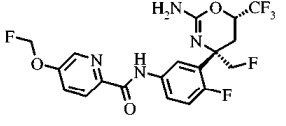
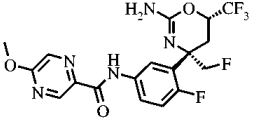
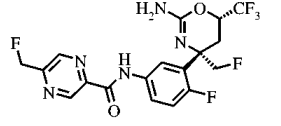
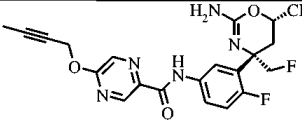
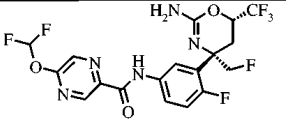
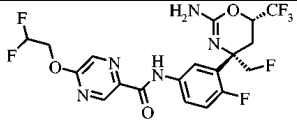
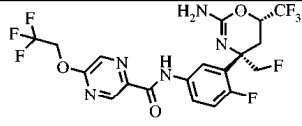
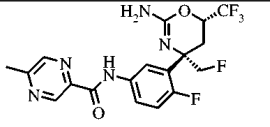
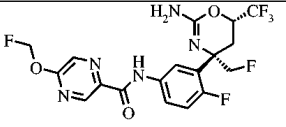
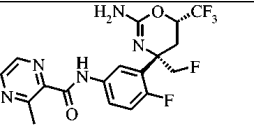
На планшетах Perkin-Elmer White Optiplate-384 (кат. № 6007290) 2 мкл культуральных супернатантов объединяли с 2 мкл 10-кратной смеси гранул AlphaLISA Anti-hA β Acceptor + Biotinylated Antibody Anti-A β 1-40 (анти-hA β -акцептор + биотинилированные антитела анти-A β 50, мкг/мл/5нМ). Через 1 ч инкубации при комнатной температуре добавляли 16 мкл 1,25-кратного препарата Стрептавидин(SA)-донорных гранул (25 мкг/мл) и инкубировали в течение 30 мин в темноте. После этого проводили считывание эмиссии при 615 нм на ридере EnVision-Alpha. Уровень A β 40 в культуральных супернатантах рассчитывали как процентную долю от максимального сигнала (клетки, обработанные 1% DMSO без ингибитора). Величины IC₅₀ рассчитывали в программной среде Excel XLfit.

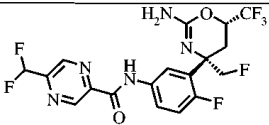
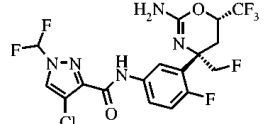
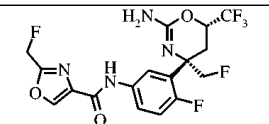
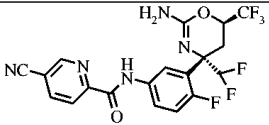
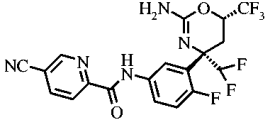
Таблица 1. Значения IC₅₀ в выбранных примерах

Пример	Структура	клеточная активность BACE1 A β 40, IC ₅₀ [нМ]
1		2
2		5
3		13
4		22
5		5
6		24
7		15
8		230

Пример	Структура	клеточная активность ВАСЕ1 Ав40, IC ₅₀ [нМ]
9		710
10		6
11		4
12		3
13		13
14		2
Пример	Структура	клеточная активность ВАСЕ1 Ав40, IC ₅₀ [нМ]
15		1
16		1
17		2
18		8
19		6
20		5

Пример	Структура	клеточная активность ВАСЕ1 Aβ40, IC ₅₀ [нМ]
21		59
22		0,2
23		1
24		3
25		0,8
26		1
27		2
28		11
29		15
30		11
31		7
32		7

Пример	Структура	клеточная активность ВАСЕ1 Aβ40, IC ₅₀ [нМ]
33		10
34		71
35		19
36		31
37		53
38		0,6
Пример	Структура	клеточная активность ВАСЕ1 Aβ40, IC ₅₀ [нМ]
39		0,4
40		29
41		17
42		64
43		3
44		-

Пример	Структура	клеточная активность ВАСЕ1 Аβ40, IC ₅₀ [нМ]
45		39
46		3
47		1
48		520
49		82

Биологические данные

Анализ Р-gp (Р-гликопротеина)

Клеточные линии и везикулы, использованные для экспериментов по транспорту

Клеточная линия LLC-PK1 (ATCC #CL-101) представляет собой линию эпителиальных клеток почек свиньи. Линии клеток, трансфицированных MDR1 (белок множественной лекарственной резистентности 1 человека), были предоставлены доктором A. Schinkel (The Netherlands Cancer Institute, Амстердам, Нидерланды). Все клеточные линии культивировали на проницаемых вставках (Costar, площадью 0,33 см², размер пор 3,0 мкм, низкой плотности) при плотности 4,5·10⁵ клеток/см². Транспортные измерения проводили на 4-й день после посева. Плотность клеточного монослоя контролировали по проницаемости внеклеточного маркера lucifer yellow (10 мкМ). Эксперименты, в которых проницаемость маркера lucifer yellow составляла выше 1%/ч, были исключены.

Эксперименты по транспорту in vitro

Двунаправленный трансцеллюлярный транспорт с использованием клеток LLC-PK1 и L-MDR1 LLC-PK1, экзогенно экспрессирующих человеческий MDR1

Метод, используемый для экспериментов по транспорту, проводили на автоматической системе транспортировки жидкостей TECAN. Вкратце, среду удаляли из всех отсеков, и среду в приемном отсеке заменяли культуральной средой. Трансцеллюлярные транспортные измерения инициировали добавлением субстрата вместе с внеклеточным маркером lucifer yellow в подающий отсек. Ингибиторы добавляли в оба отсека (1 мкМ элакридар). Эксперименты по транспорту осуществляли в обоих направлениях: базолатерально-апикальном и апикально-базолатеральном, по 3 лунки на каждое направление. Планшеты инкубировали при 37°C и 5% CO₂ в инкубаторе Liconic. Пробы отбирали из подающего и противоположного (приемного) отсеков через 2 часа инкубации. Концентрации субстрата в обоих отсеках определяли путем подсчета сцинтилляций (дигоксин) или с помощью LC-MS/MS. Внеклеточный маркер (lucifer yellow) определяли количественно на спектрофотометре для считывания планшетов SpectraFluor Plus при 430/535 нм (длина волны возбуждения/испускания). В каждом эксперименте использовали три различные вставки для каждого условия и рассчитывали среднее.

Анализ данных

Двунаправленный трансцеллюлярный транспорт с использованием клеток LLC-PK1 и L-MDR1

В случае трансцеллюлярного транспорта использовали следующее уравнение для оценки данных:

$$P_{app} = \frac{1}{A * C_0} * \frac{dQ}{dt}$$

где P_{app}, A, C₀ и dQ/dt представляют собой кажущуюся проницаемость, площадь поверхности фильтра, начальную концентрацию и количество, перенесенное за период времени, соответственно. Величины P_{app} рассчитывали на единственный момент времени (2 ч).

Транспортные соотношения эффлюкса (ER) рассчитывали следующим образом:

$$ER = \frac{P_{app,BA}}{P_{app,AB}}$$

где $P_{app,BA}$ представляет собой величину проницаемости в базолатерально-апикальном направлении, а $P_{app,AB}$ - величину проницаемости в апикально-базолатеральном направлении. P_{app} не были скорректированы по потоку внеклеточного маркера lucifer yellow, который использовали для оценки качества клеточных монослоев.

Определение конъюгатов глутатиона (GSH)

Условия анализа для определения конъюгатов глутатиона соответствуют способу, описанному в литературе (С.М. Dieckhaus et al., Chem.Res.Toxicol. 2005, 18,630-63).

Измерение силы тока hERG

Измерение силы тока hERG проводили в автоматизированной системе пэтч-кламп способом, описанным в литературе (R.E.Martin et al., Bioorg.Med.Chem.Lett 19 (2009), 6106-6113).

Эксперименты in vivo. Ингибирование Аβ40 в головном мозге мышей дикого типа.

Самкам мышей C57Bl/6J вводили различные дозы соединений, по 3-4 животных на одну группу введения. Тестируемое соединение растворяли в 5% EtOH, 10% солютол, и вводили через рот в дозе 10 мл/кг. Через 4 ч животных забивали и собирали мозг и плазму крови. Мозг разделяли на две половины и немедленно замораживали на сухом льду. Мозг использовали для измерения Аβ40, а плазму использовали для определения уровня воздействия соединения. Использовали известный из литературы способ определения Аβ40 в лизатах мозга (Lanz, T.A.; Schachter, J.B. Demonstration of common artifact in immunosorbent assays of brain extracts: Development of solid-phase extraction protocol to enable measurement of amyloid-beta from wild-type rodent brain. J. Neurosci. Methods 2006, 157, 71-81). Мозговую ткань гомогенизировали в 2% DEA буфере с помощью устройства Roche MagnaLyser (20 с, 4000 об/мин) и после этого центрифугировали в течение 1 ч при 100000 g. Концентрацию DEA снижали до 0,2% в 50 mM NaCl и одну вторую лизата DEA пропускали через планшет для экстракции Oasis Solid Phase (Waters; кат.№ 186000679), который был активирован с помощью MeOH и уравновешан в dH₂O (по 1 мл каждого). После промывок в 10% и 30% MeOH (по 1 мл каждого) элюировали Аβ-пептиды в 0,8 мл 2% NH₄OH в 90% MeOH. Элюат высушивали в токе азота и высушенный образец перерастворяли в 30 мкл буфера для анализа AlphaLISA. Аβ40 определяли с помощью анализа AlphaLISA (Perkin Elmer). На белом 96-луночном микропланшете с половинным объемом лунок (Perkin Elmer кат. № 6005561), смешивали 20 мкл восстановленного образца с 5 мкл биотинилированного ВАР-24 (специфичного к С-концу Аβ40 (Brockhaus, M.; Grunberg, J.; Rohrig, S.; Loetscher, H.; Wittenburg, N.; Baumeister, R.; Jacobsen, H.; Haass, C Caspase-mediated cleavage is not required for the activity of presenilins in amyloidogenesis and NOTCH signaling. Neuroreport 1998, 9, 1481-6), концентрация исходного раствора = 4,4 мг/мл, f.c. 5,5 мкг/мл) и 5 мкл гранул с акцептором 252Q6 (антитела к 252Q6, Invitrogen AMB0062), предварительно конъюгированных с акцепторными гранулами AlphaLISA (Perkin Elmer кат.№ 6772002); конечное разведение 1:500). Этот микс инкубировали в течение 1 ч при КТ в темноте. Затем вносили 20 мкл покрытых стрептавидином донорных гранул (Streptavidin-coated Donor Beads, Perkin Elmer кат. № 6760002, конечное разведение 1:125) и этот итоговый микс инкубировали в темноте еще в течение 30 мин при КТ, после чего измеряли флюоресценцию в отн. ед. (RFU) на ридере AlphaScreen Reader (Perkin Elmer Envision 2104).

Кинетический анализ катепсина D и катепсина E с флюоресцирующим субстратом

Общий принцип анализа

Описанные ниже методы флюоресцентного анализа MR121 основаны на следующем явлении: MR121 образует нефлюоресцирующий в основном состоянии комплекс с триптофаном. В растворе его формирование происходит при миллимолярных концентрациях триптофана. Этот механизм можно применять для разработки общего биохимического анализа для протеаз. Пептидный субстрат метят на N-конце триптофаном, а на С-конце - флюорофором MR121 (для катепсина D использовали 10-аминокислотный пептид WTSVLMAAPC-MR121; для катепсина E использовали MR121-CKLVFFAEDW). В отсутствие протеазной активности эти субстраты остаются интактными, и флюоресценция MR121 снижается под действием высоких локальных концентраций Тпр. Если субстраты расщепляются под действием ферментов, то флюоресценция MR121 восстанавливается.

Процедура анализа

Кинетический анализ катепсина D и катепсина E с флюоресцирующим субстратом проводили при комнатной температуре на 384-луночных микропланшетах (черные с прозрачным плоским дном, планшеты с несвязывающей поверхностью производства Corning) в конечном объеме 51 мкл. Тестовые соединения последовательно разводили в DMSO (15 концентраций, шаг разведения 1/3), после чего смешивали в течение 10 мин 1 мкл разведенных соединений с 40 мкл катепсина D (из человеческой печени, Calbiochem), разведенного в аналитическом буфере (100 mM ацетат натрия; 0,05% БСА; pH 5,5; конечная концентрация: 200 nM) или с 40 мкл рекомбинантным человеческим катепсином E (R&D Systems), разведенным в аналитическом буфере (100 mM ацетат натрия, 0,05% БСА, pH 4,5; конечная концентрация: 0,01 nM). После внесения 10 мкл субстрата катепсина D WTSVLMAAPC-MR121, разведенного в аналитическом буфере для катепсина D (конечная концентрация: 300 nM) или 10 мкл субстрата катепсина E

MR121-CKLVFFAEDW, разведенного в аналитическом буфере для катепсина E (конечная концентрация: 300 нМ), планшеты интенсивно встряхивали в течение 2 мин. Энзиматическую реакцию отслеживали на спектрофотометре для считывания планшетов в видимой области (Perkin Elmer) (длина волны возбуждения: 630 нм; испускания: 695 нм) в течение по меньшей мере 30 мин в режиме кинетического измерения, детектируя возрастание флюоресценции MR121 в ходе реакции. Рассчитывали наклон линейного участка кинетической кривой и определяли величины IC_{50} тестовых соединений с помощью 4-параметрического уравнения для построения кривой.

Анализ ингибирования CYP

Ингибирование цитохромов P450 (CYPs) 2C9, 2D6 и 3A4 оценивали с использованием микросом печени человека и CYP-селективных субстратных метаболических реакций. Проводили инкубации в объеме 50 мкл, содержащем (в конечном счете) 0,2 мг/мл пулированных микросом печени человека, 5 мкМ субстрата (диклофенак для CYP2C9 [4'гидроксилазы], декстрометорфан для CYP2D6 [O-деметилазы] или мидазолам для CYP3A4 [1'гидроксилазы]), 0,25 мкл DMSO, содержащего тестируемый ингибитор и НАДФН-регенерирующую систему. Тестовые концентрации ингибитора, составляющие 50; 16,7; 5,6; 1,9; 0,6 и 0,2 мкМ, оценивали в монопликатах. Предварительно нагревали инкубируемый материал до 37°C в течение 10 мин, после чего проводили инициацию путем добавления НАДФН-регенерирующей системы. Инкубационную среду гасили через 5 мин (20 мин для декстрометорфана) добавлением 50 мкл холодного ацетонитрила, содержащего 20 нг/мл 4-ОН-диклофенака-13C6, 20 нг/мл дексторфана-D3 и 20 нг/мл 1-ОН-мидазолама-D4. Инкубационный материал после погашения реакции выдерживали при -20°C в течение по меньшей мере 1 ч, после чего центрифугировали (20000 × g, 20 мин). Супернатанты отделяли и разбавляли водой 1:1, после чего проводили анализ с применением инжектора пробы RapidFire и масс-спектрометра API4000. Площади пика для субстрата, метаболита и стабильно-меченного стандарта метаболита определяли с помощью MS/MS. Отношения площадей пиков между метаболитом, генерированным в ходе энзиматической реакции, и внутренним стандартом использовали для дальнейших вычислений. Процентную долю активности контроля (DMSO) рассчитывали для каждого инкубированного материала и оценивали величины IC_{50} по нелинейной регрессии. Сульфafenазол, хинидин или кетоконазол тестировали в каждом эксперименте ингибирования CYP2C9, CYP2D6 или CYP3A4, соответственно, для контроля чувствительности и воспроизводимости анализа. (Validated assays for human cytochrome P450 activities, R.L.Walsky и R.S.Obach, Drug Metabolism and disposition 32: 647-660, 2004; S.Fowler and H.Zhang, The AAPS Journal, Vol.10, No. 2, 410-424, 2008).

Результаты

Таблица 2. Биологические данные по выбранным примерам

Пример	P-гр ¹⁾ чел.	GSH ²⁾ чел.	hERG ³⁾	Эффект in vivo ⁴⁾	Катепсин E IC_{50} [мкМ]	Катепсин D IC_{50} [мкМ]	CYP IC_{50} [мкМ]		
							3A4	2D6	2C9
1	1,90	NF	75	95	>200	>200	>50	28	>50
2	1,82	NF	84	93	>200	>200	>50	3,9	>50
3	1,61	NF	39	88	>200	>200	>50	>50	>50
11	2,30	NF	26	87	>200	>200	>50	1,6	>50
22	2,63	NF	-	83	>200	178,69	>50	13,0	33,0
35	1,50	NF	26	74	>200	>200	>50	5,2	33
36	0,71	NF	7	88	>200	>200	>50	16,0	>50
46	1,23	NF	8	61	>200	>200	>50	24,0	>50

1) Соотношение эффлюкса

2) NF = in vitro отсутствие образование аддукта, по отношению к контролю

3) Ингибирование @ 10 мкМ

4) Процентная доля контроля @ 10 мг/кг р.о.

Фармацевтические композиции

Соединения формулы Ia-1 и фармацевтически приемлемые соли можно использовать в качестве терапевтически активных веществ, например, в форме фармацевтических препаратов. Такие фармацевтические препараты можно вводить перорально, например в форме таблеток, таблеток, покрытых оболочкой, драже, твердых и мягких желатиновых капсул, растворов, эмульсий или суспензий. Кроме того, введение можно осуществлять ректально, например в форме суппозитория, или парентерально, например в форме растворов для инъекций.

Соединения формулы Ia-1 и их фармацевтически приемлемые соли можно процессировать совместно с фармацевтически инертными неорганическими или органическими носителями для получения фармацевтических препаратов. В качестве таких носителей для таблеток, таблеток, покрытых оболочкой, драже и твердых желатиновых капсул можно использовать, например, лактозу, кукурузный крахмал или его производные, тальк, стеариновые кислоты или их соли и т.п. Подходящими носителями для мягких желатиновых капсул являются, например, растительные масла, воски, жиры, полутвердые и жидкие полиолы и т.п. Однако в зависимости от природы действующего вещества, в случае мягких желатиновых

капсул носители, как правило, не требуются. Подходящими носителями для изготовления растворов и сиропов являются, например, вода, полиолы, глицерин, растительное масло и т.п. Подходящими носителями для суппозиторий являются, например, природные или отвержденные масла, воски, жиры, полутвердые или жидкие полиолы и т.п.

Кроме того, такие фармацевтические препараты могут содержать фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, например консерванты, солубилизаторы, стабилизаторы, увлажняющие агенты, эмульгаторы, подсластители, красители, ароматизаторы, соли для варьирования осмотического давления, буферы, маскирующие агенты или антиоксиданты. Они также могут содержать и другие терапевтически полезные вещества.

Объектом настоящего изобретения также являются лекарственные средства, содержащие соединения формулы Ia-1 или его фармацевтически приемлемую соль и терапевтически инертный носитель, а также способ их изготовления, включающий приведение одного или более соединений формулы Ia-1 и/или их фармацевтически приемлемых солей и, по желанию, одного или более других терапевтически ценных веществ, в галену лекарственную форму совместно с одним или более терапевтически инертным носителем.

Дозировку можно варьировать в широких пределах, и ее, разумеется, следует подбирать в соответствии с индивидуальными требованиями в каждом конкретном случае. В случае перорального введения дозировка для взрослых может варьироваться примерно от 0,01 1000 мг в сутки соединения общей формулы Ia-1 или соответствующего количества его фармацевтически приемлемой соли. Суточную дозу можно вводить в виде единственной дозы или отдельных доз, и, кроме того, верхний предел можно превышать, если к этому имеются показания.

Нижеследующие примеры являются наглядным представлением настоящего изобретения, но не ограничивают его, а лишь служат его иллюстрацией. Фармацевтические препараты в целях удобства содержат примерно 1-500 мг, в частности 1-100 мг соединения формулы Ia-1. Примеры композиций по изобретению представлены ниже.

Пример А

Таблетки следующего состава изготавливают стандартным способом.

Таблица 3. Возможный состав таблетки

Ингредиент	мг/таблетку			
	5	25	100	500
Соединение формулы Ia-1	5	25	100	500
Лактоза безводная DTG	125	105	30	150
Sta-Rx 1500	6	6	6	60
Микрокристаллическая целлюлоза	30	30	30	450
Магния стеарат	1	1	1	1
Всего	167	167	167	831

Процедура изготовления

1. Смешать ингредиенты 1, 2, 3 и 4 и гранулировать с очищенной водой.
2. Высушить гранулы при 50°C.
3. Пропустить гранулы через подходящее помольное устройство.
4. Добавить ингредиент 5 и смешивать в течение трех минут; спрессовать с помощью подходящего пресса.

Пример В-1

Изготовление капсул следующего состава.

Таблица 4. Возможный ингредиентный состав капсулы

Ингредиент	мг/капсулу			
	5	25	100	500
Соединение формулы Ia-1	5	25	100	500
Гидратированная лактоза	159	123	148	-
Кукурузный крахмал	25	35	40	70
Тальк	10	15	10	25
Магния стеарат	1	2	2	5
Всего	200	200	300	600

Процедура изготовления

1. Смешать ингредиенты 1, 2 и 3 в подходящем смесителе в течение 30 мин.
2. Добавить ингредиенты 4 и 5 и смешивать в течение 3 мин.
3. Поместить в подходящую капсулу.

Соединение формулы Ia-1, лактозу и кукурузный крахмал сначала смешивают в смесителе, а затем в измельчителе. Полученную смесь возвращают в смеситель; к ней добавляют тальк и тщательно смешивают. Смесь автоматически упаковывают в подходящие капсулы, например твердые желатиновые капсулы.

Пример В-2

Изготовление мягких желатиновых капсул следующего состава.

Таблица 5. Возможный ингредиентный состав мягких желатиновых капсул

Ингредиент	мг/капсулу
Соединение формулы Ia-1	5
Желтый воск	8
Гидрогенизированное соевое масло	8
Частично гидрогенизированные растительные масла	34
Соевое масло	110
Всего	165

Таблица 6. Возможный состав мягких желатиновых капсул

Ингредиент	мг/капсулу
Желатин	75
Глицерин 85%	32
Карион 83	8 (сухого вещества)
Диоксид титана	0,4
Желтый оксид железа	1,1
Всего	116,5

Процедура изготовления

Соединение формулы Ia-1 растворяют в теплом расплаве остальных ингредиентов, и эту смесь упаковывают в мягкие желатиновые капсулы подходящего размера. Заполненные мягкие желатиновые капсулы обрабатывают стандартными способами.

Пример С

Изготовление суппозиторий следующего состава.

Таблица 7. Возможный состав суппозиторий

Ингредиент	мг/суппозиторий
Соединение формулы Ia-1	15
Суппозиторная масса	1285
Всего	1300

Процедура изготовления

Суппозиторную массу расплавляют в стеклянном или стальном сосуде, тщательно перемешивают и охлаждают до 45°C. Затем к ней добавляют тонкоизмельченное соединение формулы Ia-1 и перемешивают до тех пор, пока оно не будет равномерно распределено. Эту смесь разливают в формы для суппозиторий подходящего размера и охлаждают; затем суппозитории извлекают из формы и упаковывают по отдельности в вошеную бумагу или металлическую фольгу.

Пример D

Изготовление растворов для инъекций следующего состава.

Таблица 6. Возможный состав раствора для инъекций

Ингредиент	мг/ раствор для инъекций
Соединение формулы Ia-1	3
Полиэтиленгликоль 400	150
Уксусная кислота	сколько требуется до pH 5,0
Вода для инъекций	до 1,0 мл

Процедура изготовления

Соединение формулы Ia-1 растворяют в смеси полиэтиленгликоля 400 и воды для инъекций (в части объема). Доводят pH до 5,0 уксусной кислотой. Объем доводят до 1,0 мл добавлением оставшегося количества воды. Этот раствор фильтруют, разливают во флаконы с допустимым избытком и стерилизуют.

Пример E

Изготовление саше следующего состава.

Таблица 7. Возможный состав саше

Ингредиент	мг/саше
Соединение формулы Ia-1	50
Лактоза, тонкоизмельченный порошок	1015
Микрокристаллическая целлюлоза (AVICEL PH 102)	1400
Na-карбоксиметилцеллюлоза	14
Поливинилпирролидон К 30	10
Магния стеарат	10
Ароматические добавки	1
Всего	2500

Процедура изготовления

Соединение формулы Ia-1 смешивают с лактозой, микрокристаллической целлюлозой и Na-карбок-

симетилцеллюлозой, и гранулируют со смесью поливинилпирролидона в воде. Полученный гранулят смешивают со стеаратом магния и ароматическими добавками и упаковывают в саше.

Экспериментальная часть

Следующие далее Примеры приведены в качестве иллюстрации настоящего изобретения. Их следует рассматривать не как ограничение объема настоящего изобретения, но лишь как его наглядное представление.

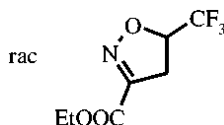
Аббревиатура

AcOEt, этилацетат; DCM, дихлорметан; DIBALH, диизобутилалюминийгидрид; EtOH, этанол; *i*-PrOH, 2-пропанол; MeOH, метанол; КТ, комнатная температура; ТВМЕ, трет-бутилметилэфир; ТЕА, триэтиламин; THF, тетрагидрофуран; T₃P[®] (2,4,6-трипропил-1,3,5,2,4,6-триоксатрифосфоринан-2,4,6-триоксид)

Общее

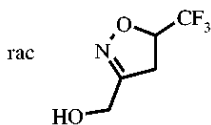
MS: Масс-спектры (MS) снимали либо с помощью метода положительного или отрицательного ионораспыления (ISP или ISN) на приборе Perkin-Elmer SCIEX API 300, или с помощью метода электронного удара (EI, 70 эВ) на спектрофотометре Finnigan MAT SSQ 7000.

Синтез промежуточного эфира II



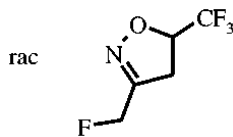
К суспензии 3,3,3-трифторпроп-1-ена (примерно 4,3 г; 45 ммоль) в AcOEt (30 мл) и бикарбоната натрия (6,3 г; 75,0 ммоль) добавляли при -78°C раствор (Z)-этил-2-хлор-2-(гидроксиимино)ацетата (2,81 г; 18,0 ммоль) в AcOEt (6 мл), эту суспензию нагревали до 22°C и продолжали перемешивать в течение 60 ч. Эту суспензию фильтровали, фильтрат выпаривали и остаток очищали хроматографией на силикагеле с использованием смеси гептан/AcOEt (10:1) с получением этил-5-(трифторметил)-4,5-дигидроизоксазол-3-карбоксилата (3,2 г) в виде бесцветного масла. MS: m/z = 211 [M]⁺.

Синтез промежуточного спирта III



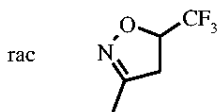
К раствору этил-5-(трифторметил)-4,5-дигидроизоксазол-3-карбоксилата (1,0 г; 4,74 ммоль) в EtOH (10 мл) медленно добавляли при 0°C борогидрид натрия (197 мг; 5,21 ммоль) и эту суспензию перемешивали при 0°C в течение 4 ч. Эту суспензию обрабатывали полунасыщенным водным раствором NH₄Cl, продолжали перемешивать в течение 10 мин, смесь экстрагировали диэтиловым эфиром, органические слои высушивали и выпаривали (70 мбар/40°C) с получением неочищенного (5-(трифторметил)-4,5-дигидроизоксазол-3-ил)метанола (803 мг) в виде бесцветного масла, которое использовали без дополнительной очистки. MS: m/z = 169 [M]⁺.

Синтез промежуточного фтордигидроизоксазола IV



К раствору неочищенного (5-(трифторметил)-4,5-дигидроизоксазол-3-ил)метанола (7,0 г; 41,4 ммоль) в дихлорметане (140 мл) добавляли при -78°C трифторид морфолиносеры (7,98 г; 45,5 ммоль) и продолжали перемешивать при -78°C в течение 15 мин, при 0°C в течение 1 ч и при 22°C в течение 30 мин. Полученный раствор обрабатывали холодным водным раствором NaHCO₃, органический слой высушивали, выпаривали (70 мбар/40°C) и остаток перегоняли из сосуда в сосуд при 100°C/0,8 мбар с получением 3-(фторметил)-5-(трифторметил)-4,5-дигидроизоксазола (2,54 г) в виде бледно-желтой жидкости. MS: m/z = 171 [M]⁺.

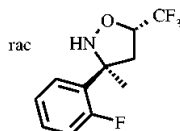
Синтез промежуточного дигидроизоксазола V



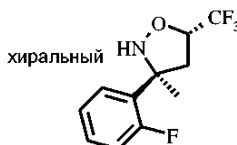
К раствору 3,3,3-трифторпроп-1-ена (примерно 18 г) в диэтиловом эфире (120 мл) последовательно добавляли при -78°C нитроэтан (5,74 г; 76,5 ммоль), ТЕА (76 мг; 0,75 ммоль) и фенол изоцианат (18,2 г; 153 ммоль), этот раствор нагревали до 22°C и продолжали перемешивать в течение 60 ч. Эту суспензию фильтровали и фильтрат перегоняли из сосуда в сосуд при 75°C/1,0 мбар с получением 3-метил-5-(трифторметил)-4,5-дигидроизоксазола (4,69 г) в виде бледно-желтой жидкости. MS: m/z = 153 [M]⁺.

Общий способ А. Синтез промежуточных изоксазолидинов VI и VII

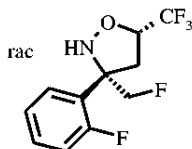
К раствору арилбромида V (8,26 ммоль) в THF (5 мл) и толуоле (15 мл) добавляли при перемешивании при -78°C $n\text{-BuLi}$ (1,6 М в гексане; 4,9 мл) в течение 10 мин и продолжали перемешивать при -78°C в течение 1 ч. К раствору дигидроизоксазола IV (3,9 ммоль) в толуоле (35 мл) добавляли при -78°C $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (7,9 ммоль), а затем добавляли фениллитиевый реагент, полученный, как описано выше, с помощью отдельной канюли в течение 10 мин, выдерживая температуру ниже -70°C . Смесь перемешивали при -78°C в течение 1 ч, гасили насыщенным водным раствором NH_4Cl и экстрагировали с помощью AcOEt . Органический слой промывали солевым раствором, высушивали, выпаривали и остаток очищали хроматографией на силикагеле с использованием смеси циклогексана и AcOEt с получением чистого изоксазолидина VI.



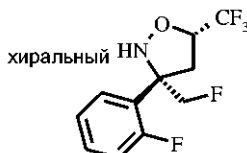
Промежуточный продукт VI-1: исходя из 3-метил-6-(трифторметил)-4,5-дигидроизоксазола, получили (3S,5S)-rel-3-(2-фторфенил)-3-метил-5-трифтор-метил-изоксазолидин в виде бледно-желтой жидкости. MS: $m/z = 250,4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.



Промежуточный продукт VII-1: (3S,5S)-rel-3-(2-фтор-фенил)-3-метил-5-трифторметилизоксазолидин разделяли на хиральной ВЭЖХ-колонке (Chiralpack AD) с использованием смеси n -гептан/ EtOH (95:5) с получением желаемого (3S,5S)-3-(2-фторфенил)-3-метил-5-трифторметилизоксазолидина как элюируемый медленнее энантиомер с положительной оптической ротацией и (3R,5R)-3-(2-фторфенил)-3-метил-5-трифторметилизоксазолидин как быстрее элюируемый энантиомер с отрицательной оптической ротацией.



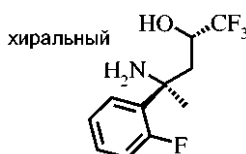
Промежуточный продукт VI-2: исходя из 3-(фторметил)-5-(трифторметил)-4,5-дигидроизоксазола, (3S,5R)-rel-3-(фторметил)-3-(2-фторфенил)-5-(трифторметил)изоксазолидин получали в виде бледно-желтой жидкости. MS: $m/z = 268,4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.



Промежуточный продукт VII-2: (3S,5S)-rel-3-(фторметил)-3-(2-фторфенил)-5-(трифторметил)изоксазолидин разделяли на хиральной колонке (Reposil NR) с использованием смеси n -гептан/ i -PrOH (98:2) с получением желаемого (3S,5S)-3-фторметил-3-(2-фторфенил)-5-трифторметилизоксазолидина как элюируемый медленнее целевой энантиомер с положительной оптической ротацией и (3R,5R)-3-фторметил-3-(2-фторфенил)-5-трифторметилизоксазолидин как быстрее элюируемый энантиомер с отрицательной оптической ротацией.

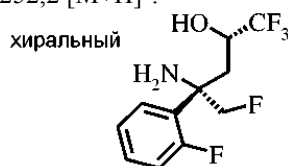
Общий способ В. Синтез промежуточного аминоспирта VIII

К раствору изоксазолидина VII (6,4 ммоль) в EtOH (40 мл) добавляли Pd/C (10%, 288 мг) и формиат аммония (3,2 г) и продолжали перемешивать эту смесь при 22°C в течение 5 ч. Суспензию фильтровали, фильтрат выпаривали и остаток делили между AcOEt и насыщенным водным раствором NaHCO_3 . Органический слой высушивали и выпаривали с получением неочищенного аминоспирта VIII, который использовали без дополнительной очистки.



Промежуточный продукт VIII-1: исходя из (3S,5S)-3-(2-фторфенил)-3-метил-5-трифторметилизоксазолидина, целевой (2S,4S)-4-амино-1,1,1-трифтор-4-(2-фторфенил)пентан-2-ол получали в виде бес-

цветного твердого вещества. MS: $m/z = 252,2 [M+H]^+$.



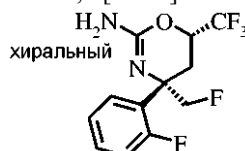
Промежуточный продукт VIII-2: исходя из (3S,5S)-3-фторметил-3-(2-фторфенил)-5-трифторметил изоксазолидина, целевой (2S,4S)-4-амино-1,1,1,5-тетрафтор-4-(2-фторфенил)пентан-2-ол получали в виде бесцветного твердого вещества. MS: $m/z = 270,4 [M+H]^+$.

Общий способ С. Синтез промежуточного оксазина IX

К раствору аминок спирта VIII (7,3 ммоль) в EtOH (38 мл) добавляли раствор бромциана (5 М в CH_3CN , 11 ммоль) и эту смесь перемешивали в запаянной трубке при $85^\circ C$ в течение 15 ч. Смесь выпаривали и остаток делили между AcOEt и насыщенным водным раствором Na_2CO_3 , органический слой высушивали, выпаривали и остаток очищали с помощью хроматографии (Si-NH₂) с использованием смеси гептан/AcOEt от 5:1 до 0:1) с получением чистого оксазина IX.



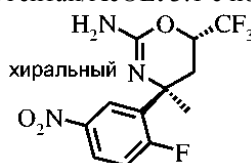
Промежуточный продукт IX-1: исходя из (2S,4S)-4-амино-1,1,1-трифтор-4-(2-фторфенил)пентан-2-ол, целевой (4S,6S)-4-(2-фторфенил)-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин получали в виде бесцветного масла. MS: $m/z = 277,1 [M+H]^+$.



Промежуточный продукт IX-2: исходя из (2S,4S)-4-амино-1,1,1,5-тетрафтор-4-(2-фторфенил)пентан-2-ола, целевой (4S,6S)-4-(фторметил)-4-(2-фторфенил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин получали в виде бесцветного масла. MS: $m/z = 295,4 [M+H]^+$.

Общий способ D. Синтез промежуточного нитрооксазина X

К концентрированной серной кислоте (13 мл) добавляли порциями оксазин IX (3,0 ммоль) при $22^\circ C$, этот полученный раствор охлаждали до $0^\circ C$ и обрабатывали с помощью буродымящей HNO_3 (0,19 мл) в течение 20 мин и продолжали перемешивать при $0^\circ C$ в течение 1 ч. Эту реакционную смесь медленно добавляли к колотому льду (60 г), доводили pH до 10 с помощью NaOH, водный слой экстрагировали с помощью AcOEt, органический слой высушивали, выпаривали и остаток очищали хроматографией на силикагеле с использованием смеси гептан/AcOEt 3:1 с получением чистого нитрооксазина X.



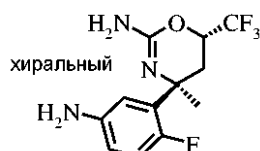
Промежуточный продукт X-1: исходя из (4S,6S)-4-(2-фторфенил)-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амина, целевой (4S,6S)-4-(2-фтор-5-нитрофенил)-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин получали в виде бледно-желтого масла. MS: $m/z = 322,5 [M+H]^+$.



Промежуточный продукт X-2: исходя из (4S,6S)-4-(фторметил)-4-(2-фторфенил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амина, целевой (4S,6S)-4-(2-фтор-5-нитрофенил)-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин получали в виде бесцветной пены. MS: $m/z = 340,4 [M+H]^+$.

Общий способ E. Синтез промежуточного анилина XI

Суспензию нитрооксазина X (2,6 ммоль) в EtOH (40 мл) и ТЕА (0,2 мл) обрабатывали с помощью Pd/C (10%, 80 мг) и эту смесь гидрировали при атмосферном давлении и $22^\circ C$ в течение 2 ч. Смесь фильтровали, фильтрат выпаривали и остаток, содержащий неочищенный анилин XI, использовали без дополнительной очистки.

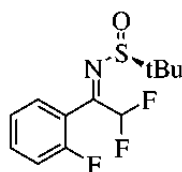


Промежуточный продукт XI-1: исходя из (4S,6S)-4-(2-фтор-5-нитрофенил)-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин, целевой продукт (4S,6S)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин получали в виде бесцветной пены. MS: $m/z = 292,5 [M+H]^+$.



Промежуточный продукт XI-2: исходя из (4S,6S)-4-(2-фтор-5-нитрофенил)-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин, целевой (4S,6S)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин получали в виде бесцветного твердого вещества. MS: $m/z = 310,4 [M+H]^+$.

Синтез промежуточного сульфинилимина XIV-1

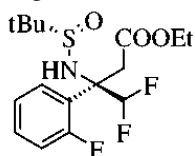


В инертной атмосфере светло-желтый раствор 2,2-дифтор-1-(2-фторфенил)этанона (8,0 г; 45,9 ммоль) в THF (280 мл) обрабатывали при КТ (S)-2-метилпропан-2-сульфинамидом (5,68 г; 45,9 ммоль), а затем этоксидом титана(IV) (21,0 г; 19,3 мл, 91,9 ммоль). Этот светло-желтый раствор нагревали до температуры флегмы и перемешивали в течение 2 ч. Реакционную смесь охлаждали до КТ, вливали в полунасыщенный солевой раствор, разбавляли с помощью AcOEt (100 мл) и интенсивно перемешивали в течение 1 ч. После фильтрации через слой Dicalite® и промывки с помощью AcOEt, водный слой отделяли и экстрагировали с помощью AcOEt (2 × 150 мл). Органические слои высушивали над MgSO₄ и выпаривали при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали флэш-хроматографией на силикагеле (элюент: гептан/AcOEt 10:1) с получением (S,Z)-N-(2,2-дифтор-1-(2-фторфенил)этилен)-2-метилпропан-2-сульфинамида (8,27 г; выход 64,9%) в виде желтого масла. MS: $m/z = 278,0 [M+H]^+$.

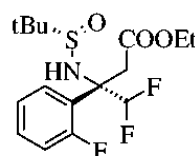
2,2-Дифтор-1-(2-фторфенил)-этанон получали следующим образом.

В сухой колбе суспензию магнезия (1,26 г; 52,0 ммоль) в THF (100 мл) обрабатывали при КТ в инертной атмосфере хлортриметилсиланом (11,3 г; 13,3 мл, 104 ммоль). Эту суспензию охлаждали до 0°C и добавляли по каплям 2,2,2-трифтор-1-(2-фторфенил)этанон (4,99 г; 26 ммоль) в течение 4 мин, при этом внутренняя температура повышалась до 13°C. По окончании внесения внутренняя температура достигала 20°C. Затем суспензию охлаждали до 0°C и перемешивали в течение 1 ч. В целях обработки полученный желтый раствор нагревали до КТ, декантировали и добавляли по каплям хлороводородную кислоту (37%; 20,5 г; 17,1 мл, 208 ммоль) в течение 30 мин при охлаждении на ледяной бане. Полученный мутный раствор перемешивали при КТ в течение 20 мин. Смесь обрабатывали соевым раствором (200 мл), водный слой отделяли и экстрагировали дважды с помощью AcOEt. Органические слои промывали насыщенным раствором NaHCO₃ и соевым раствором, затем высушивали и выпаривали с получением после выстаивания при КТ 2,2-дифтор-1-(2-фторфенил)этанона (4,292 г; выход 94,8%) в виде светло-желтого полутвердого вещества. MS: $m/z = 174 [M]^+$.

Синтез промежуточных сульфинамидных эфиров XV-1 и XV-2



XV-1

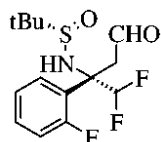


XV-2

В сухой колбе в инертной атмосфере смешивали хлорид меди(I) (2,74 г; 27,7 ммоль) с активированной цинковой пылью (14,5 г; 221 ммоль) и нагревали до 130°C. После охлаждения до КТ добавляли сухой THF (80 мл) и полученную дисперсию нагревали при перемешивании до температуры флегмы в течение 30 мин. Убирали внешнее нагревание и добавляли по каплям раствор этил-2-бромацетата (11,5 г; 7,65 мл, 69,1 ммоль) в сухом THF (40 мл) таким образом, чтобы выдерживать температуру при 55°C. По

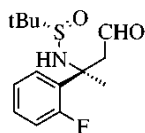
окончании внесения продолжали перемешивать при 55°C в течение 30 мин. После этого смесь охлаждали до 5°C и добавляли по каплям раствор (S,Z)-N-(2,2-дифтор-1-(2-фторфенил)этилиден)-2-метилпропан-2-сульфинамида (7,67 г; 27,7 ммоль) в сухом THF (40 мл) в течение 10 мин, при этом температуру выдерживали ниже 5°C. Для завершения реакции продолжали перемешивать при 0°C в течение 1 ч. В целях обработки реакционную смесь фильтровали через слой Dicalite®, который промывали с помощью ТВМЕ. Фильтрат экстрагировали насыщенным раствором NH₄Cl, органический слой высушивали над MgSO₄ и выпаривали при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали проведением двух последовательных хроматографии на силикагеле (элюент: гептан/АсОEt 4:1, затем 3:1 для смеси изомеров) с получением (R)-этил-3-((S)-1,1-диметилэтилсульфинамидо)-4,4-дифтор-3-(2-фторфенил)бутаноата (XV-1) (желтое масло, 5,17 г; выход 51,2%) в виде элюируемого первым изомера и (S)-этил-3-((S)-1,1-диметилэтилсульфинамидо)-4,4-дифтор-3-(2-фторфенил)бутаноата (XV-2) (оранжевое твердое вещество, 2,59 г; выход 25,7%) в виде элюируемого вторым изомера.

Синтез промежуточных альдегидов XVI



XVI-1

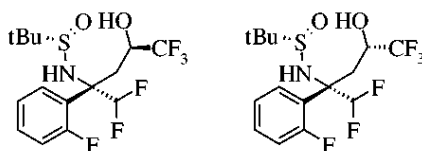
Промежуточный продукт XVI-1. В сухой колбе в инертной атмосфере светло-желтый раствор (S)-этил-3-((S)-1,1-диметилэтилсульфинамидо)-4,4-дифтор-3-(2-фторфенил)бутаноата (XV-2) (2,59 г; 7,09 ммоль) в DCM (75 мл) обрабатывали по каплям с помощью DIBAL (1M в толуоле; 10,6 мл, 10,6 ммоль), выдерживая внутреннюю температуру ниже -72°C. По окончании внесения реакционную смесь перемешивали при -78°C в течение 30 мин. В целях обработки смесь гасили насыщенным раствором NH₄Cl (10 мл), оставляли нагреваться до комнатной температуры и перемешивали в течение 30 мин. Полученную густую суспензию фильтровали через слой Dicalite®, который промывали дважды с помощью DCM. Фильтрат обрабатывали полунасыщенным раствором NH₄Cl и экстрагировали три раза с помощью DCM. Объединенные органические слои высушивали над MgSO₄ и выпаривали. Неочищенный продукт очищали хроматографией на силикагеле (элюент: гептан/АсОEt; градиент: 30-50% АсОEt) с получением (S)-N-((S)-1,1-дифтор-2-(2-фторфенил)-4-оксобутан-2-ил)-2-метилпропан-2-сульфинамида (XVI-1) (704 мг; выход 31%) в виде светло-желтого масла и исходного эфира XV-2 (1,28 г; выход 49%) в виде бесцветного масла. MS: m/z = 322,4 (M+H)⁺.



XVI-2

Промежуточный продукт XVI-2: исходя из (S)-этил-3-((R)-1,1-диметилэтилсульфинамидо)-3-(2-фторфенил)бутаноата [H. Hilpert et al. US 20120225858 (2012)] и в соответствии со способом для синтеза промежуточного продукта XVI-1, целевой продукт (R)-N-((S)-2-(2-фторфенил)-4-оксобутан-2-ил)-2-метилпропан-2-сульфинамид (XVI-2) получали в виде светло-желтого масла (выход 46,5%). MS: m/z = 286,5 (M+H)⁺.

Синтез промежуточных спиртов XVII и XVII

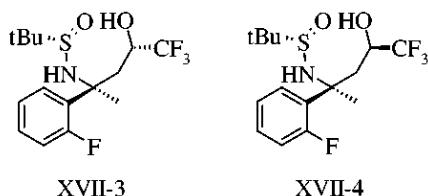


XVII-1

XVII-2

Промежуточные продукты XVII-1 и XVII-2. В сухой колбе в инертной атмосфере раствор (S)-N-((S)-1,1-дифтор-2-(2-фторфенил)-4-оксобутан-2-ил)-2-метилпропан-2-сульфинамида (XVI-1) (1,45 г; 4,51 ммоль) в THF (30 мл) обрабатывали при 0°C (трифторметил)триметилсиланом (1,28 г; 1,33 мл, 9,02 ммоль) и по каплям с помощью TBAF (1M в THF, высушивали над молекулярным ситом 4 Å; 0,451 мл, 0,451 ммоль). Слабо-экзотермическое добавление завершали через 3 мин, после чего реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 3 ч, затем оставляли нагреваться КТ и перемешивали в течение ночи. В целях обработки реакционную смесь гасили насыщенным раствором NH₄Cl и экстрагировали три раза с помощью АсОEt. Органические слои промывали солевым раствором, высушивали над MgSO₄ и выпаривали при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали хроматографией на силикагеле (элюент: гептан/АсОEt; градиент: 0-90% АсОEt) с получением (S)-2-метил-N-((2S,4R)-1,1,5,5,5-пентафтор-2-(2-фторфенил)-4-гидроксипентан-2-ил)пропан-2-сульфинамида (XVII-1) (желтое масло, 377 мг в виде

приблизительно 7:3-смеси с его *O*-триметилсилильным производным) в виде быстрее элюируемого эписмера, (S)-2-метил-N-((2S,4S)-1,1,5,5,5-пентафтор-2-(2-фторфенил)-4-гидроксипентан-2-ил)пропан-2-сульфинамид (XVII-2) (желтое твердое вещество, 209 мг; выход 12%) в виде элюируемого вторым эписмера [MS: $m/z = 392,5 (M+H)^+$] и исходного альдегида (желтого масла, кристаллизовался при выстаивании, 627 мг; выход 36%).



XVII-3

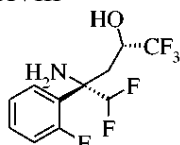
XVII-4

Промежуточные продукты XVII-3 и XVII-4: исходя из (R)-N-((S)-2-(2-фторфенил)-4-оксобутан-2-ил)-2-метилпропан-2-сульфинамида (XVI-2) и в соответствии со способом для синтеза промежуточного продукта XVII-1 и XVII-2, получали целевые продукты (R)-2-метил-N-((2S,4S)-5,5,5-трифтор-2-(2-фторфенил)-4-гидроксипентан-2-ил)пропан-2-сульфинамид (XVII-3) и (R)-2-метил-N-((2S,4R)-5,5,5-трифтор-2-(2-фторфенил)-4-гидроксипентан-2-ил)пропан-2-сульфинамид (XVII-4).

XVII-3: элюируемый первым эписмер в виде светло-желтого твердого вещества (выход 24,3%). MS: $m/z = 354,6 (M-H)^-$.

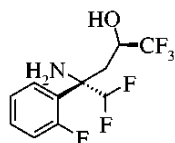
XVII-4: элюируемый вторым эписмер в виде светло-коричневого твердого вещества (выход 8,5%). MS: $m/z = 356,5 (M+H)^+$.

Синтез промежуточных аминоспиртов XVIII



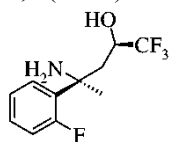
XVIII-1

Промежуточный продукт XVIII-1. В инертной атмосфере перемешивали раствор (S)-2-метил-N-((2S,4S)-1,1,5,5,5-пентафтор-2-(2-фторфенил)-4-гидроксипентан-2-ил)пропан-2-сульфинамида (XVII-2) (261 мг; 0,667 ммоль) и хлороводородную кислоту (4M в диоксане, 0,667 мл, 2,67 ммоль) в MeOH (5 мл) при 25°C. Через 4 ч растворитель удаляли при пониженном давлении. Остаток обрабатывали полунасыщенным раствором Na_2CO_3 и экстрагировали три раза с помощью AcOEt. Объединенные органические слои высушивали над $MgSO_4$ и выпаривали при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали хроматографией на силикагеле (элюент: гептан/AcOEt 10:1) с получением (2S,4S)-4-амино-1,1,1,5,5-пентафтор-4-(2-фторфенил)пентан-2-ола (XVIII-1) (168 мг; 87,7%) в виде светло-желтого твердого вещества. MS: $m/z = 288,5 (M+H)^+$.



XVIII-2

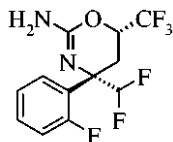
Промежуточный продукт XVIII-2: исходя из смеси (S)-2-метил-N-((2S,4R)-1,1,5,5,5-пентафтор-2-(2-фторфенил)-4-гидроксипентан-2-ил)пропан-2-сульфинамида (XVII-1) и его *O*-триметилсилильного производного и в соответствии со способом для синтеза промежуточного продукта XVIII-1, целевой (2R,4S)-4-амино-1,1,1,5,5-пентафтор-4-(2-фторфенил)пентан-2-ол (XVIII-2) получали в виде светло-желтого твердого вещества (выход 95%). MS: $m/z = 288,5 (M+H)^+$.



XVIII-3

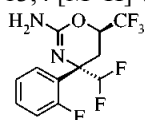
Промежуточный продукт XVIII-3: исходя из (R)-2-метил-N-((2S,4R)-5,5,5-трифтор-2-(2-фторфенил)-4-гидроксипентан-2-ил)пропан-2-сульфинамида (XVII-4) и в соответствии со способом для синтеза промежуточного продукта XVIII-1, целевой (2R,4S)-4-амино-1,1,1-трифтор-4-(2-фторфенил)пентан-2-ол (XVIII-3) получали в виде светло-желтого твердого вещества (выход 67,3%). MS: $m/z = 252,5 (M+H)^+$.

Синтез промежуточных оксазинов XIX



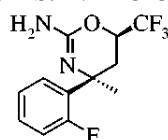
XIX-1

Промежуточный продукт XIX-1: исходя из (2S,4S)-4-амино-1,1,1,5,5-пентафтор-4-(2-фторфенил)пентан-2-ола (XVIII-1) и в соответствии с общим способом С, целевой (4S,6S)-4-(дифторметил)-4-(2-фторфенил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин (XIX-1) получали в виде бесцветного твердого вещества (выход 46,2%). MS: $m/z = 313,4 [M+H]^+$.



XIX-2

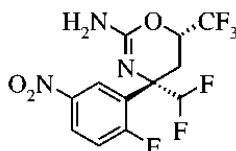
Промежуточный продукт XIX-2: исходя из (2R,4S)-4-амино-1,1,1,5,5-пентафтор-4-(2-фторфенил)пентан-2-ола (XVIII-2) и в соответствии с общим способом С, целевой (4S,6R)-4-(дифторметил)-4-(2-фторфенил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин (XIX-2) получали в виде бесцветного масла (выход 80,2%; чистота примерно 60%). MS: $m/z = 313,4 [M+H]^+$.



XIX-3

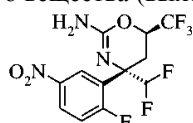
Промежуточный продукт XIX-3: исходя из (2S,4S)-4-амино-1,1,1-трифтор-4-(2-фторфенил)пентан-2-ола (XVIII-3) и в соответствии с общим способом С, целевой (4S,6R)-4-(2-фторфенил)-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин (XIX-3) получали в виде светло-коричневого масла (выход 60,6%). MS: $m/z = 277,5 [M+H]^+$.

Синтез промежуточных нитрооксазинов XX



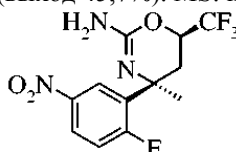
XX-1

Промежуточный продукт XX-1: исходя из (4S,6S)-4-(дифторметил)-4-(2-фторфенил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин (XIX-1) и в соответствии с общим способом D, целевой (4S,6S)-4-(дифторметил)-4-(2-фтор-5-нитрофенил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин (XX-1) получали в виде бесцветного твердого вещества (выход 73,2%). MS: $m/z = 358,4 [M+H]^+$.



XX-2

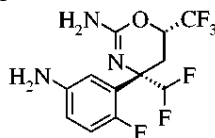
Промежуточный продукт XX-2: исходя из (4S,6R)-4-(дифторметил)-4-(2-фторфенил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин (XIX-2) и в соответствии с общим способом D, целевой (4S,6R)-4-(дифторметил)-4-(2-фтор-5-нитрофенил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин (XX-2) получали в виде бесцветной пены (выход 45,7%). MS: $m/z = 358,5 [M+H]^+$.



XX-3

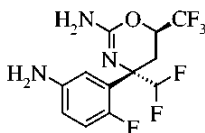
Промежуточный продукт XX-3: исходя из (4S,6R)-4-(2-фторфенил)-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин (XIX-3) и в соответствии с общим способом D, целевой (4S,6R)-4-(2-фтор-5-нитрофенил)-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин (XX-3) получали в виде светло-желтого вязкого масла (выход 54%). MS: $m/z = 322,4 [M+H]^+$.

Синтез промежуточных анилинов XXI



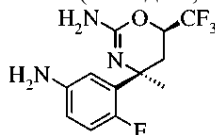
XXI-1

Промежуточный продукт XXI-1: исходя из (4S,6S)-4-(дифторметил)-4-(2-фтор-5-нитрофенил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин (XX-1) и в соответствии с общим способом Е, целевой (4S,6S)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-(дифторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин (XXI-1) получали в виде бесцветного твердого вещества (количество, выход). MS: $m/z = 328,4 [M+H]^+$.



XXI-2

Промежуточный продукт XXI-2: исходя из (4S,6R)-4-(дифторметил)-4-(2-фтор-5-нитрофенил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин (XX-2) и в соответствии с общим способом Е, целевой (4S,6R)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-(дифторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин (XXI-2) получали в виде светло-серой пены (выход 95,4%). MS: $m/z = 328,5 [M+H]^+$.



XXI-3

Промежуточный продукт XXI-3: исходя из (4S,6R)-4-(2-фтор-5-нитрофенил)-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин (XX-3) и в соответствии с общим способом Е, целевой (4S,6R)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин (XXI-3) получали в виде белого твердого вещества (выход 95,1%). MS: $m/z = 292,4 [M+H]^+$.

Общий способ F для синтеза конечных примеров формулы Ia-1

К раствору кислоты XII (0,16 ммоль) в MeOH (1 мл) добавляли при 22°C 4-(4,6-диметокси-1,3,5-триазин-2ил)-4-метил-морфолиний хлорид (0,19 ммоль) и продолжали перемешивать при 0°C в течение 30 мин. К этой смеси добавляли раствор анилина XI (0,15 ммоль) в MeOH (2 мл) и продолжали перемешивать при 0°C в течение 4 ч. Смесь выпаривали и остаток делили между насыщенным водным раствором Na₂CO₃ и этилацетатом. Органический слой высушивали, выпаривали и остаток очищали с помощью хроматографии (Si-NH₂) с использованием смеси гептан/этилацетат 1:1 с получением конечных примеров формулы Ia-1.

Общий способ G для синтеза конечных примеров формулы Ia-1

В инертной атмосфере раствор/суспензию карбоновой кислоты (1,7 ммоль) и промежуточного анилина XXI (1,62 ммоль) в AcOEt (6,7 мл) обрабатывали по каплям с помощью T₃P[®] (50% в AcOEt) (2,4 ммоль, 1,43 мл), при этом температуру выдерживали 25°C. По окончании внесения реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 20 ч. В целях обработки реакционную смесь гасили насыщенным раствором NaHCO₃ (20 мл), слои отделяли и водную фазу экстрагировали с помощью AcOEt (7 мл). Объединенные органические слои промывали солевым раствором и высушивали над Na₂SO₄. После удаления растворителя оставался неочищенный продукт, который очищали хроматографией на силикагеле с использованием смеси DCM/MeOH или гептан/AcOEt или с помощью препаративной ВЭЖХ с получением чистых амидов.

Следующие соединения получали в соответствии с общим способом F или G и, в зависимости от реакционной смеси и условий очистки, их выделяли либо в форме свободного основания, либо в виде соли. Примеры 1-7 получали по общему способу F.

Пример 1

N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-цианопиколинамид

Конденсация (4S,6S)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин и 5-цианопиридин-2-карбоновой кислоты давала указанное в заголовке соединение в виде бесцветного твердого вещества. MS: $m/z = 422,5 [M+H]^+$.

Пример 2

N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-хлорпиколинамид

Конденсация (4S,6S)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин и 5-хлорпиридин-2-карбоновой кислоты давала указанное в заголовке соединение в виде бесцветного твердого вещества. MS: $m/z = 431,4 [M+H]^+$.

Пример 3

N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-цианопиколинамид

Конденсация (4S,6S)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин и 5-цианопиридин-2-карбоновой кислоты давала указанное в заголовке соединение в виде бесцветного твердого вещества. MS: $m/z = 440,4 [M+H]^+$.

Пример 4

N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-хлорпиколинамид

Конденсация (4S,6S)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин и 5-хлорпиридин-2-карбоновой кислоты давала указанное в заголовке соединение в виде бесцветного твердого вещества. MS: $m/z = 449,4 [M+H]^+$.

Пример 5

N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-метоксипиразин-2-карбоксамид

Конденсация (4S,6S)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин и 5-метоксипиразин-2-карбоновой кислоты давала указанное в заголовке соединение в виде бесцветного твердого вещества. MS: $m/z = 428,4 [M+H]^+$.

Пример 6

N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-(2,2-дифторэтокси)пиразин-2-карбоксамид

Конденсация (4S,6S)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин и 5-(2,2-дифторэтокси)-пиразин-2-карбоновой кислоты (получали, как описано в литературе: Suzuki Y. et al., WO 2009/091016) давала указанное в заголовке соединение в виде бесцветного твердого вещества. MS: $m/z = 428,4 [M+H]^+$.

Пример 7

N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-(2,2,2-трифторэтокси)пиразин-2-карбоксамид

Конденсация (4S,6S)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин и 5-(2,2,2-трифторэтокси)-пиразин-2-карбоновой кислоты (получали, как описано в литературе: Suzuki Y. et al., WO 2009/091016) давала указанное в заголовке соединение в виде бесцветного твердого вещества. MS: $m/z = 496,4 [M+H]^+$.

Пример 8

N-(3-((4S,6R)-2-Амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-цианопиколинамид

Конденсация (4S,6R)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин (XXI-3) и 5-цианопиридин-2-карбоновой кислоты в соответствии с общим способом F давала указанное в заголовке соединение в виде светло-желтой пены. MS: $m/z = 422,4 [M+H]^+$.

Пример 9

N-(3-((4S,6R)-2-Амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-хлорпиколинамид

Конденсация (4S,6R)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин (XXI-3) и 5-хлорпиридин-2-карбоновой кислоты в соответствии с общим способом F давала указанное в заголовке соединение в виде белой пены. MS: $m/z = 431,4 [M+H]^+$.

Пример 10

N-(3-((4S,6S)-2-Амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-3,5-хлорпиколинамид

Конденсация (4S,6S)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин (XI-1) и 3,5-хлорпиридин-2-карбоновой кислоты в соответствии с общим способом F давала указанное в заголовке соединение в виде бесцветного твердого вещества. MS: $m/z = 465,4 [M+H]^+$, $467,4 [M+2H]^+$, $469,4 [M+4H]^+$.

Пример 11

N-(3-((4S,6S)-2-Амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-(фторметокси)пиколинамид

Конденсация (4S,6S)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин (XI-1) и 5-(фторметокси)пиколиновой кислоты [CAS 1174321-03-9; J.M. Ellard et al. WO 2011009898 (2011)] в соответствии с общим способом F давала указанное в заголовке соединение в виде бесцветного твердого вещества. MS: $m/z = 445,4 [M+H]^+$.

Пример 12

N-(3-((4S,6S)-2-Амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-циано-3-метилпиколинамид

Конденсация (4S,6S)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин (XI-1) и 5-циано-3-метилпиколиновой кислоты [S.Badiger et al. WO 2011009943 (2011)] в соответствии с общим способом G давала указанное в заголовке соединение в виде бесцветного аморфного твердого вещества. MS: $m/z = 436,5$ $[M+H]^+$.

Пример 13

N-(3-((4S,6S)-2-Амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-3-хлор-5-цианопиколинамид

Конденсация (4S,6S)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин (XI-1) и 3-хлор-5-цианопиколиновой кислоты в соответствии с общим способом G давала указанное в заголовке соединение в виде бесцветного аморфного твердого вещества. MS: $m/z = 456,4$ $[M+H]^+$.

Пример 14

N-(3-((4S,6S)-2-Амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-метоксипиколинамид

Конденсация (4S,6S)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин (XI-1) и 5-метоксипиколиновой кислоты в соответствии с общим способом G давала указанное в заголовке соединение в виде бесцветного аморфного твердого вещества. MS: $m/z = 427,5$ $[M+H]^+$.

Пример 15

N-(3-((4S,6S)-2-Амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-(дифторметокси)пиколинамид

Конденсация (4S,6S)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин (XI-1) и 5-(дифторметокси)пиколиновой кислоты [J.D.Scott et al. WO 2011044181 (2011)] в соответствии с общим способом G давала указанное в заголовке соединение в виде бесцветного аморфного твердого вещества. MS: $m/z = 463,4$ $[M+H]^+$.

Пример 16

N-(3-((4S,6S)-2-Амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-(трифторметокси)пиколинамид

Конденсация (4S,6S)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин (XI-1) и 5-(трифторметокси)пиколиновой кислоты [J.D. Scott et al. WO 2011044181 (2011)] в соответствии с общим способом G давала указанное в заголовке соединение в виде бесцветного аморфного твердого вещества. MS: $m/z = 481,4$ $[M+H]^+$.

Пример 17

N-(3-((4S,6S)-2-Амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-(дифторметил)пиколинамид

Конденсация (4S,6S)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин (XI-1) и 5-(дифторметил)пиколиновой кислоты [J.D.Scott et al. WO 2011044181 (2011)] в соответствии с общим способом G давала указанное в заголовке соединение в виде бесцветного аморфного твердого вещества. MS: $m/z = 447,5$ $[M+H]^+$.

Пример 18

N-(3-((4S,6S)-2-Амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-(2,2,2-трифторэтокси)пиколинамид

Конденсация (4S,6S)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин (XI-1) и 5-(2,2,2-трифторэтокси)пиколиновой кислоты [D.Banner et al. WO 2010128058 (2010)] в соответствии с общим способом G давала указанное в заголовке соединение в виде бесцветного аморфного твердого вещества. MS: $m/z = 495,4$ $[M+H]^+$.

Пример 19

N-(3-((4S,6S)-2-Амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-(фторметил)пиразин-2-карбоксамид

Конденсация (4S,6S)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин (XI-1) и 5-(фторметил)пиразин-2-карбоновой кислоты [J.M. Ellard et al. WO 2011009898 (2011)] в соответствии с общим способом F давала указанное в заголовке соединение в виде бесцветного аморфного твердого вещества. MS: $m/z = 430,5$ $[M+H]^+$.

Пример 20

N-(3-((4S,6S)-2-Амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-(дифторметил)пиразин-2-карбоксамид

Конденсация (4S,6S)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин (XI-1) и 5-(дифторметил)пиразин-2-карбоновой кислоты [J.M. Ellard et al. WO 2011009898 (2011)] в соответствии с общим способом F давала указанное в заголовке соединение в виде бесцветного твердого вещества. MS: $m/z = 448,5$ $[M+H]^+$.

Пример 21

N-(3-((4S,6S)-2-Амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-метилпиразин-2-карбоксамид

Конденсация (4S,6S)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин (XI-1) и 5-метилпиразин-2-карбоновой кислоты в соответствии с общим способом F давала указанное в заголовке соединение в виде бесцветного аморфного твердого вещества. MS: $m/z = 412,5 [M+H]^+$.

Пример 22

N-(3-((4S,6S)-2-Амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-(бут-2-инилокси)пиразин-2-карбоксамид

Конденсация (4S,6S)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин (XI-1) и 5-(бут-2-инилокси)пиразин-2-карбоновой кислоты [G.Csjeņņik et al. WO 2012087237 (2012)] в соответствии с общим способом F давала указанное в заголовке соединение в виде белого твердого вещества. MS: $m/z = 466,5 [M+H]^+$.

Пример 23

N-(3-((4S,6S)-2-Амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-(фторметокси)пиразин-2-карбоксамид

Конденсация (4S,6S)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин (XI-1) и 5-(фторметокси)пиразин-2-карбоновой кислоты [J.M. Ellard et al. WO 2011009898 (2011)] в соответствии с общим способом G давала указанное в заголовке соединение в виде бесцветного аморфного твердого вещества. MS: $m/z = 446,5 [M+H]^+$.

Пример 24

N-(3-((4S,6S)-2-Амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-(дифторметокси)пиразин-2-карбоксамид

Конденсация (4S,6S)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин (XI-1) и 5-(дифторметокси)пиразин-2-карбоновой кислоты [J.M. Ellard et al. WO 2011009898 (2011)] в соответствии с общим способом G давала указанное в заголовке соединение в виде бесцветного аморфного твердого вещества. MS: $m/z = 446,5 [M+H]^+$.

Пример 25

N-(3-((4S,6S)-2-Амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-2-(фторметил)оксазол-4-карбоксамид

Конденсация (4S,6S)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин (XI-1) и 2-(фторметил)оксазол-4-карбоновой кислоты [D. Banner et al. WO 2011069934 (2011)] в соответствии с общим способом F давала указанное в заголовке соединение в виде бесцветного твердого вещества. MS: $m/z = 419,5 [M+H]^+$.

Пример 26

N-(3-((4S,6S)-2-Амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-4-хлор-1-(дифторметил)-1Н-пиразол-3-карбоксамид

Конденсация (4S,6S)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин (XI-1) и 4-хлор-1-(дифторметил)-1Н-пиразол-3-карбоновой кислоты [D. Banner et al. WO 2011069934 (2011)] в соответствии с общим способом F давала указанное в заголовке соединение в виде грязно-белого твердого вещества. MS: $m/z = 470,4 [M+H]^+$.

Пример 27

N-(3-((4S,6S)-2-Амино-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-циано-3-метилпиколинамид

Конденсация (4S,6S)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин (XI-2) и 5-циано-3-метилпиколиновой кислоты [S.Badiger et al. WO 2011009943 (2011)] в соответствии с общим способом G давала указанное в заголовке соединение в виде светло-желтого твердого вещества. MS: $m/z = 454,4 [M+H]^+$.

Пример 28

N-(3-((4S,6S)-2-Амино-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-3-хлор-5-цианопиколинамид

Конденсация (4S,6S)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин (XI-2) и 3-хлор-5-цианопиколиновой кислоты в соответствии с общим способом G давала указанное в заголовке соединение в виде светло-желтого твердого вещества. MS: $m/z = 474,4 [M+H]^+$.

Пример 29

N-(3-((4S,6S)-2-Амино-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-3,5-дихлорпиколинамид

Конденсация (4S,6S)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин (XI-2) и 3,5-дихлорпиколиновой кислоты в соответствии с общим способом G давала указанное в заголовке соединение в виде бесцветного твердого вещества. MS: $m/z = 483,3 [M+H]^+$.

[M+H]⁺.

Пример 39

N-(3-((4S,6S)-2-Амино-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-(дифторметокси)пиразин-2-карбоксамид

Конденсация (4S,6S)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амина (XI-2) и 5-(дифторметокси)-пиразин-2-карбоновой кислоты в соответствии с общим способом G давала указанное в заголовке соединение в виде бесцветного твердого вещества. MS: m/z = 482,6 [M+H]⁺.

Пример 40

N-(3-((4S,6S)-2-Амино-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-(2,2-дифторэтокси)пиразин-2-карбоксамид

Конденсация (4S,6S)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амина (XI-2) и 5-(2,2-дифторэтокси)-пиразин-2-карбоновой кислоты [Y.Suzuki et al. WO 2009091016 (2009)] в соответствии с общим способом G давала указанное в заголовке соединение в виде бесцветного твердого вещества. MS: m/z = 496,6 [M+H]⁺.

Пример 41

N-(3-((4S,6S)-2-Амино-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-(2,2,2-трифторэтокси)пиразин-2-карбоксамид

Конденсация (4S,6S)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амина (XI-2) и 5-(2,2,2-трифторэтокси)-пиразин-2-карбоновой кислоты в соответствии с общим способом G давала указанное в заголовке соединение в виде бесцветного твердого вещества. MS: m/z = 514,6 [M+H]⁺.

Пример 42

N-(3-((4S,6S)-2-Амино-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-метилпиразин-2-карбоксамид

Конденсация (4S,6S)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амина (XI-2) и 5-метилпиразин-2-карбоновой кислоты в соответствии с общим способом G давала указанное в заголовке соединение в виде бесцветного твердого вещества. MS: m/z = 430,6 [M+H]⁺.

Пример 43

N-(3-((4S,6S)-2-Амино-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-(фторметокси)пиразин-2-карбоксамид

Конденсация (4S,6S)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амина (XI-2) и 5-(фторметокси)-пиразин-2-карбоновой кислоты в соответствии с общим способом G давала указанное в заголовке соединение в виде бесцветного аморфного твердого вещества. MS: m/z = 464,4 [M+H]⁺.

Пример 44

N-(3-((4S,6S)-2-Амино-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-3-метилпиразин-2-карбоксамид

Конденсация (4S,6S)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амина (XI-2) и 3-метилпиразин-2-карбоновой кислоты в соответствии с общим способом G давала указанное в заголовке соединение в виде светло-желтого масла. MS: m/z = 430,4 [M+H]⁺.

Пример 45

N-(3-((4S,6S)-2-Амино-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-(дифторметил)пиразин-2-карбоксамид

Конденсация (4S,6S)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амина (XI-2) и 5-(дифторметил)пиразин-2-карбоновой кислоты в соответствии с общим способом F давала указанное в заголовке соединение в виде бесцветного твердого вещества. MS: m/z = 466,4 [M+H]⁺.

Пример 46

N-(3-((4S,6S)-2-Амино-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-4-хлор-1-(дифторметил)-1Н-пиразол-3-карбоксамид

Конденсация (4S,6S)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амина (XI-2) и 4-хлор-1-(дифторметил)-1Н-пиразол-3-карбоновой кислоты в соответствии с общим способом G давала указанное в заголовке соединение в виде бесцветного твердого вещества. MS: m/z = 488,5 [M+H]⁺.

Пример 47

N-(3-((4S,6S)-2-Амино-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-2-(фторметил)оксазол-4-карбоксамид

Конденсация (4S,6S)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амина (XI-2) и 2-(фторметил)оксазол-4-карбоновой кислоты в соответствии с общим способом G давала указанное в заголовке соединение в виде грязно-белого твердого вещества. MS: m/z=437,4 [M+H]⁺.

Пример 48

N-(3-((4S,6R)-2-Амино-4-(дифторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-цианопиколинамид

Конденсация (4S,6R)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-(дифторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин (XXI-2) и 5-цианопиколиновой кислоты в соответствии с общим способом F давала указанное в заголовке соединение в виде белого твердого вещества. MS: m/z = 458,6 [M+H]⁺.

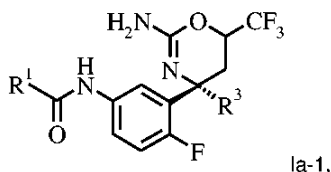
Пример 49

N-(3-((4S,6S)-2-Амино-4-(дифторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-цианопиколинамид

Конденсация (4S,6S)-4-(5-амино-2-фторфенил)-4-(дифторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-2-амин (XXI-1) и 5-цианопиколиновой кислоты в соответствии с общим способом G давала указанное в заголовке соединение в виде бесцветного твердого вещества. MS: m/z = 458,4 [M+H]⁺.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы Ia-1



в котором

R¹ представляет собой 1-(дифторметил)-1Н-пиразол-3-ил, 2-(фторметил)оксазол-4-ил, 3,5-дихлорпиридин-2-ил, 3-хлор-5-цианопиридин-2-ил, 3-метилпиразин-2-ил, 4-хлор-1-(дифторметил)-1Н-пиразол-3-ил, 5-(2,2,2-трифторэтокси)пиразин-2-ил, 5-(2,2-дифторэтокси)пиразин-2-ил, 5-(бут-2-инилокси)пиразин-2-ил, 5-(дифторметокси)пиразин-2-ил, 5-(дифторметил)пиразин-2-ил, 5-(фторметокси)пиразин-2-ил, 5-(фторметил)пиразин-2-ил, 5-хлорпиридин-2-ил, 5-циано-3-метилпиридин-2-ил, 5-цианопиридин-2-ил, 5-дифторметоксипиридин-2-ил, 5-дифторметилпиридин-2-ил, 5-фторметоксипиридин-2-ил, 5-метоксипиразин-2-ил, 5-метоксипиридин-2-ил, 5-метилпиразин-2-ил, 5-(2,2,2-трифторэтокси)пиридин-2-ил, 5-трифторметоксипиразин-2-ил или 5-трифторметоксипиридин-2-ил; и

R³ выбран из группы, состоящей из:

i) C₁₋₆-алкила и

ii) галоген-C₁₋₆-алкила,

или его фармацевтически приемлемые соли.

2. Соединение по п.1, в котором R³ представляет собой фтор-C₁₋₆-алкил.

3. Соединение по любому из пп.1-2, в котором R³ представляет собой фторметил.

4. Соединение по п.1, в котором R³ представляет собой C₁₋₆-алкил.

5. Соединение по любому из пп.1 и 4, в котором R³ представляет собой метил.

6. Соединение по любому из пп.1-5, в котором R¹ представляет собой 5-цианопиридин-2-ил, 5-хлорпиридин-2-ил, 5-(2,2-дифторэтокси)пиразин-2-ил, 5-(2,2,2-трифторэтокси)пиразин-2-ил или 5-метоксипиразин-2-ил.

7. Соединение по любому из пп.1-6, в котором R¹ представляет собой 5-цианопиридин-2-ил.

8. Соединение по любому из пп.1-5, выбранное из группы, состоящей из следующих соединений:

N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-цианопиколинамид,

N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-хлорпиколинамид,

N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-цианопиколинамид,

N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-хлорпиколинамид,

N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-метоксипиразин-2-карбоксамид,

N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-(2,2-дифторэтокси)пиразин-2-карбоксамид,

N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-(2,2,2-трифторэтокси)пиразин-2-карбоксамид,

N-(3-((4S,6R)-2-амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-цианопиколинамид,

N-(3-((4S,6R)-2-амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-хлорпиколинамид,

N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-

фенил)-5-(2,2,2-трифторэтокси)пиразин-2-карбоксамид,

N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-метилпиразин-2-карбоксамид,

N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-(фторметокси)пиразин-2-карбоксамид,

N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-3-метилпиразин-2-карбоксамид,

N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-(дифторметил)пиразин-2-карбоксамид,

N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-4-хлор-1-(дифторметил)-1Н-пиразол-3-карбоксамид,

N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-2-(фторметил)оксазол-4-карбоксамид,

N-(3-((4S,6R)-2-амино-4-(дифторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-цианопиколинамид и

N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-(дифторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-цианопиколинамид,

или его фармацевтически приемлемая соль.

9. Соединение по любому из пп.1-6 и 8, выбранное из группы, состоящей из следующих соединений:

N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-цианопиколинамид,

N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-хлорпиколинамид,

N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-цианопиколинамид,

N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-(фторметил)-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-хлорпиколинамид,

N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-метоксипиразин-2-карбоксамид,

N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-(2,2-дифторэтокси)пиразин-2-карбоксамид и

N-(3-((4S,6S)-2-амино-4-метил-6-(трифторметил)-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазин-4-ил)-4-фторфенил)-5-(2,2,2-трифторэтокси)пиразин-2-карбоксамид,

или его фармацевтически приемлемая соль.

10. Применение соединения формулы Ia-1 по любому из пп.1-9 в качестве ингибитора активности β-секретазы 1 (BACE1).

11. Применение соединения формулы Ia-1 по пп.1-9 в качестве терапевтически активного вещества для лечения и/или профилактики заболеваний и расстройств, характеризующихся повышенным уровнем β-амилоида, и/или олигомеров β-амилоида, и/или β-амилоидных бляшек и прочих отложений.

12. Применение по п.11 для лечения и/или профилактики болезни Альцгеймера.

13. Применение соединения формулы Ia-1 по пп.1-9 в качестве терапевтически активного вещества для лечения и/или профилактики бокового амиотрофического склероза (ALS), аутоиммунных/воспалительных заболеваний, рака, сердечно-сосудистых заболеваний, дерматомиозита, синдрома Дауна, заболеваний желудочно-кишечного тракта, болезни Гентингтона, миозита с включенными тельцами (IBM), болезни Костманна, миофасцита макрофагового, ювенильного идиопатического артрита, гранулематозного артрита, ревматоидного артрита, спиноцеребеллярной атаксии 1, спиноцеребеллярной атаксии 7, болезни Уиппла или болезни Вильсона.

14. Применение по п.13, где аутоиммунные/воспалительные заболевания включают базедову болезнь, эритематозную волчанку, синдром Шегрена, воспалительные реакции; сердечно-сосудистые заболевания включают артериальный тромбоз, инфаркт миокарда и инсульт; рак включает рак молочной железы, мультиморфную глиобластому, саркому Капоши, злокачественную меланому и множественную миелому.

15. Фармацевтическая композиция, обладающая способностью ингибировать активность β-секретазы 1 (BACE1), включающая соединение формулы Ia-1 по любому из пп.1-9 и фармацевтически приемлемый носитель и/или фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

16. Применение соединения формулы Ia-1 по любому из пп.1-9 для изготовления лекарственного средства для лечения и/или профилактики болезни Альцгеймера.

17. Применение соединения формулы Ia-1 по любому из пп.1-9 для изготовления лекарственного средства для лечения и/или профилактики амиотрофического бокового склероза (ALS), аутоиммунных/воспалительных заболеваний, рака, сердечно-сосудистых заболеваний, дерматомиозита, синдрома

Дауна, заболеваний желудочно-кишечного тракта, болезни Гентингтона, миозита с включенными тельцами (IBM), болезни Костманна, миофасцита макрофагового, ювенильного идиопатического артрита, гранулематозного артрита, ревматоидного артрита, спиноцеребеллярной атаксии 1, спиноцеребеллярной атаксии 7, болезни Уиппла или болезни Вильсона.

18. Применение по п.17, где аутоиммунные/воспалительные заболевания включают базедову болезнь, эритематозную волчанку, синдром Шегрена, воспалительные реакции; сердечно-сосудистые заболевания включают артериальный тромбоз, инфаркт миокарда и инсульт; рак включает рак молочной железы, мультиморфную глиобластому, саркому Капоши, злокачественную меланому и множественную миелому.

19. Способ лечения и/или профилактики болезни Альцгеймера или амиотрофического бокового склероза (ALS), аутоиммунных/воспалительных заболеваний, рака, сердечно-сосудистых заболеваний, дерматомиозита, синдрома Дауна, заболеваний желудочно-кишечного тракта, болезни Гентингтона, миозита с включенными тельцами (IBM), болезни Костманна, миофасцита макрофагового, ювенильного идиопатического артрита, гранулематозного артрита, ревматоидного артрита, спиноцеребеллярной атаксии 1, спиноцеребеллярной атаксии 7, болезни Уиппла или болезни Вильсона, включающий введение соединения формулы Ia-1 по любому из пп.1-9 человеку или животному.

20. Способ по п.19, где аутоиммунные/воспалительные заболевания включают базедову болезнь, эритематозную волчанку, синдром Шегрена, воспалительные реакции; сердечно-сосудистые заболевания включают артериальный тромбоз, инфаркт миокарда и инсульт; рак включает рак молочной железы, мультиморфную глиобластому, саркому Капоши, злокачественную меланому и множественную миелому.

