



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

A61K 31/53 (2022.05); A61P 31/14 (2022.05); C07D 215/28 (2022.05); C07D 215/38 (2022.05)

(21)(22) Заявка: 2021112722, 30.04.2021

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
30.04.2021

Дата регистрации:  
21.09.2022

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 30.04.2021

(45) Опубликовано: 21.09.2022 Бюл. № 27

Адрес для переписки:

119192, Москва, ул. Ломоносовский проспект,  
27, стр. 1, Московский государственный  
университет имени М.В. Ломоносова, Фонд  
"Национальное интеллектуальное развитие"

(72) Автор(ы):

Шихалиев Хидмет Сафарович (RU),  
Медведева Светлана Михайловна (RU),  
Зорина Анна Вячеславовна (RU),  
Стопковская Надежда Владимировна (RU),  
Сулимов Владимир Борисович (RU),  
Сулимов Алексей Владимирович (RU),  
Кутов Данил Константинович (RU),  
Пьянков Олег Викторович (RU),  
Щербаков Дмитрий Николаевич (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное бюджетное учреждение науки  
"Государственный научный центр  
вирусологии и биотехнологии "Вектор"  
Федеральной службы по надзору в сфере  
защиты прав потребителей и благополучия  
человека (ФБУН ГНЦ ВБ "Вектор"  
Роспотребнадзора) (RU),  
Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего  
образования "Московский государственный  
университет имени М.В. Ломоносова" (МГУ)  
(RU),  
Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего  
образования "Воронежский государственный  
университет" (ФГБОУ ВО "ВГУ") (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете  
о поиске: RU 2745985 C1, 05.04.2021. EA 35093  
B1, 27.04.2020. WO 2017155909 A1, 14.09.2017.  
US 3202661 A, 28.08.1965.

(54) ПРИМЕНЕНИЕ КИСЛОРОДСОДЕРЖАЩЕГО ПРОИЗВОДНОГО 6-ГАЛОГЕНХИНОЛИНА  
ДЛЯ ИНГИБИРОВАНИЯ РЕПЛИКАЦИИ БЕТА-КОРОНАВИРУСОВ, ВКЛЮЧАЯ SARS-COV-2, И  
СПОСОБ ЕГО ПОЛУЧЕНИЯ

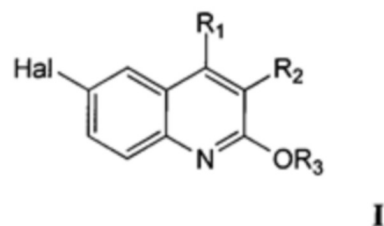
(57) Реферат:

Изобретение относится к области  
фармакологии и медицины и направлено на  
лечение заболеваний, вызванных бета-  
коронавирусами, включая SARS-CoV-2. Описано

применение кислородсодержащего производного  
6-галогенхинолина общей формулы I, где Hal  
представляет собой заместитель, выбранный из  
брома, фтора, хлора; R1 - заместитель,

выбранный из водорода, алкила (C1-C10), нормального или разветвленного строения, арила без заместителей или замещенного по положениям 2, 3, 4, 5, 6; R2 - заместитель, выбранный из водорода, NАлкил-, NАрил-, NHгетарил-, пирролидинил-, пиперидинил-, морфолинил-, пиперазинил-, гомопиперазинил-, тетрагидрохинолинил-, тетрагидроизохинолинил-, гексаметилениминил-; -SC(S)X, где X=NАлкил-, NАрил-, NH-гетарил-, пирролидинил-, пиперидинил-, морфолинил-, пиперазинил-, гомопиперазинил-, тетрагидрохинолинил-, тетрагидроизохинолинил-, гексаметилениминил-; R3 - заместитель, выбранный из водорода, алкила (C1-C10), нормального или разветвленного строения, алкиларила, арила без заместителей или

замещенного по положениям 2, 3, 4, 5, 6 для подавления репликации бета-коронавируса. Технический результат: обеспечение эффективного подавления репликации бета-коронавируса, включая SARA-CoV-2, при низких значениях эффективной концентрации EC<sub>50</sub>, низкой цитотоксичности и высоком значении индекса селективности. 4 з.п. ф-лы, 1 табл., 8 пр.



RU 2780245 C1

RU 2780245 C1



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.

A61K 31/53 (2006.01)

A61P 31/14 (2006.01)

C07D 215/28 (2006.01)

C07D 215/38 (2006.01)

## (12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC

A61K 31/53 (2022.05); A61P 31/14 (2022.05); C07D 215/28 (2022.05); C07D 215/38 (2022.05)

(21)(22) Application: 2021112722, 30.04.2021

(24) Effective date for property rights:  
30.04.2021Registration date:  
21.09.2022

Priority:

(22) Date of filing: 30.04.2021

(45) Date of publication: 21.09.2022 Bull. № 27

Mail address:

119192, Moskva, ul. Lomonosovskij prospekt, 27,  
str. 1, Moskovskij gosudarstvennyj universitet  
imeni M.V. Lomonosova, Fond "Natsionalnoe  
intellektualnoe razvitie"

(72) Inventor(s):

Shikhaliev Khidmet Safarovich (RU),  
Medvedeva Svetlana Mikhajlovna (RU),  
Zorina Anna Vyacheslavovna (RU),  
Stolpovskaya Nadezhda Vladimirovna (RU),  
Sulimov Vladimir Borisovich (RU),  
Sulimov Aleksej Vladimirovich (RU),  
Kutov Danil Konstantinovich (RU),  
Pyankov Oleg Viktorovich (RU),  
Shcherbakov Dmitrij Nikolaevich (RU)

(73) Proprietor(s):

Federalnoe byudzhethnoe uchrezhdenie nauki  
"Gosudarstvennyj nauchnyj tsentr virusologii i  
biotekhnologii "Vektor" Federalnoj sluzhby po  
nadzoru v sfere zashchity prav potrebitelej i  
blagopoluchiya cheloveka (FBUN GNTS VB  
"Vektor" Rospotrebnadzora) (RU),  
Federalnoe gosudarstvennoe byudzhethnoe  
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego  
obrazovaniya "Moskovskij gosudarstvennyj  
universitet imeni M.V. Lomonosova" (MGU)  
(RU),  
Federalnoe gosudarstvennoe byudzhethnoe  
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego  
obrazovaniya "Voronezhskij gosudarstvennyj  
universitet" (FGBOU VO "VGU") (RU)

(54) APPLICATION OF AN OXYGEN-CONTAINING DERIVATIVE OF 6-HALOQUINOLINE FOR INHIBITING  
THE REPLICATION OF BETACORONAVIRUSES, INCLUDING SARS-COV-2, AND METHOD FOR  
PRODUCTION THEREOF

(57) Abstract:

FIELD: pharmaceuticals.

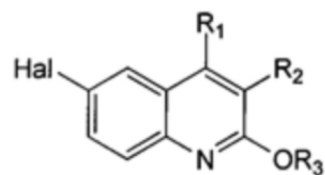
SUBSTANCE: invention relates to the field of  
pharmacology and medicine and is aimed at treating  
diseases caused by betacoronaviruses, including SARS-  
CoV-2. Described is an application of an oxygen-  
containing derivative of 6-haloquinoline by the general  
formula I, wherein Hal constitutes a substituent selected  
from bromine, fluorine, chlorine; R1 constitutes a  
substituent selected from hydrogen, an alkyl (C1-C10)

of a normal or branched structure, an aryl without  
substituents or substituted in positions 2, 3, 4, 5, 6; R2  
constitutes a substituent selected from hydrogen,  
NHalkyl-, NHaryl-, NHhetaryl-, pyrrolidinyl-,  
piperidinyl-, morpholinyl-, piperazinyl-,  
homopiperazinyl-, tetrahydroquinolinyl-,  
tetrahydroisoquinolinyl-, hexamethyleneiminyl-, -SC  
(S)X, wherein X=NHalkyl-, NHaryl-, NHhetaryl-,  
pyrrolidinyl-, piperidinyl-, morpholinyl-, piperazinyl-,

homopiperazinyl-, tetrahydroquinolinyl-, tetrahydroisoquinolinyl-, hexamethyleneinyl-; R3 constitutes a substituent selected from hydrogen, alkyl (C1-C10) of a normal or branched structure, alkylaryl, aryl without substituents or substituted in positions 2, 3, 4, 5, 6, for suppressing the replication of betacoronaviruses.

EFFECT: ensured effective suppression of the replication of betacoronaviruses, including SARA-CoV-2, at low values of the effective concentration of EC<sub>50</sub>,

low cytotoxicity, and high value of selectivity index.



**I**

5 cl, 1 tbl, 8 ex

R U 2 7 8 0 2 4 5 C 1

R U 2 7 8 0 2 4 5 C 1

## Область техники

Изобретение относится к области фармакологии и медицины, а именно, к применению известного соединения - кислородсодержащего производного 6-галогенхинолина формулы I для лечения заболеваний, вызванных бета-коронавирусами, включая SARS-CoV-2. Изобретение может быть использовано для производства фармацевтической композиции для лечения указанных заболеваний.

## Уровень техники

Вспышка COVID-19, вызванная SARS-CoV-2, по всему миру и связанные с ней последствия, являются угрозой для общественного здравоохранения и экономики многих стран. Отсутствие специальной терапии против нового вируса требует поиска лекарственных средств, противодействующих инфекции.

Коронавирусы (Coronaviridae) - это большое семейство РНК-содержащих вирусов, способных инфицировать человека и некоторых животных. Современная классификация включает четыре группы - альфа-, бета-, гамма- и дельта-коронавирусы [Helena Jane Maier, Erica Bickerton, Paul Britton / Coronaviruses: An Overview of Their Replication and Pathogenesis // Coronaviruses - 2015; 1282: 1-23]. Род Betacoronavirus считается наиболее опасным для человека. У людей коронавирусы могут вызывать целый ряд заболеваний - от легких форм острой респираторной инфекции до тяжелого острого респираторного синдрома. В частности, три коронавируса из известных  $\beta$ -коронавирусов - SARS-CoV-1, MERS-CoV и SARS-CoV-2 (источник пандемии COVID-19), вызывают более тяжелые симптомы и приводят к более высокому уровню смертности. При этом отсутствуют специфические высокоэффективные терапевтические средства, проявляющие высокую биологическую активность в ингибировании репродукции бета-коронавируса.

Во всем мире ведется интенсивный поиск терапевтических средств для профилактики и лечения COVID-19. В этой связи Всемирная организация здравоохранения и национальные министерства здравоохранения выпускают постоянно обновляющиеся методические рекомендации по профилактике, диагностике и лечению коронавирусной инфекции с использованием существующих терапевтических средств, ранее предназначенных для других вирусных инфекций (грипп, СПИД, Эбола и др.).

Наиболее широкое распространение при лечении COVID-19 на сегодняшний день получил препарат Фавипиравир (ФВП) [[https://static-0.rosminzdrav.ru/system/attachments/attaches/000/050/584/original/03062020\\_%D0%9CR\\_COVID-19\\_v7.pdf](https://static-0.rosminzdrav.ru/system/attachments/attaches/000/050/584/original/03062020_%D0%9CR_COVID-19_v7.pdf)], где в качестве действующего вещества использован 6-фторо-3-гидрокси-2-пиразинкарбоксамид, а также Ремдесивир (РМД) [<https://nypost.com/2020/05/01/fda-approves-remdesivir-as-emergency-coronavirus-treatment/>], и Апротинин (АПР) [A. Azimi. TMPRSS2 inhibitors, Bromhexine, Aprotinin, Camostat and Nafamostat as potential treatments for COVID-19, 10.31226/osf.io/a3rvy].

Известно применение даларгина (диацетата гексапепида) для лечения коронавирусной инфекции COVID-19 [RU2728939, 2020], который входит в состав коммерчески доступных средств, используемых ранее для лечения язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, панкреатита и панкреонекроза. Препарат может быть использован в форме ингаляций или инъекций, при этом лекарственное средство содержит даларгин в количестве от 0,1 до 50 мг в одной дозе.

Известно применение статинов, используемых для снижения и контроля уровня холестерина, снижения смертности, вероятности развития и тяжести сердечно-сосудистых катастроф - таких, как инфаркт миокарда и инсульт, в терапии коронавирусной инфекции [CN111603465, 2020; CN111632053, 2020; CN111588720, 2020; CN111617065, 2020; CN111588719, 2020]. Лекарственное средство находится в форме геля, мягкой капсулы,

перорального препарата, инъекции, лиофилизированного порошка для инъекций или раствора для инфузии.

Однако известные до сих пор соединения и средства, предлагаемые для лечения COVID-19, имеют несколько недостатков, которые препятствуют их широкому применению. Так, Фавипиравир показал в экспериментах на культурах клеток Vero E6 почти полную неспособность подавлять репликацию коронавируса SARS-CoV-2, так как его эффективная концентрация 50% подавления репликации этого коронавируса равна всего лишь  $EC_{50}=61.88 \mu M$ , а индекс селективности (отношение цитотоксичности к  $EC_{50}$ ) весьма невысок  $SI>6.46$  [M. Wang, R. Cao, T. Zhang, X. Yang, J. Liu, M. Xu, Z. Shi, Z. Hu, W. Zhong, G. Xiao / Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro // Cell Res. - 2020; 30; 269-271. <https://doi.org/10.1038/s41422-020-0282-0>]; кроме того, Фавипиравир показал низкую эффективность лечения в клинических испытаниях, и для него нет пока надежных доказательств отсутствия побочных эффектов [Annoor Awadasseid, Yanling Wu, Yoshimasa Tanaka, Wen Zhang / Effective drugs used to combat SARS-CoV-2 infection and the current status of vaccines // Biomedicine & Pharmacotherapy. - 2021; 137; 111330; <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111330>]. То есть Фавипиравир обладает достаточно высокой цитотоксичностью, недостаточно эффективно подавляет репликацию коронавируса SARS-CoV-2, обладает низким индексом селективности.

Известен ряд публикаций, в которых представлены данные о SARS - CoV, касающиеся пространственной атомистической модели его основной протеазы [Anand, K., Ziebuhr, J., Wadhwani, P., et al. / Coronavirus main proteinase (3CLpro) structure: basis for design of anti-SARS drugs // Science (New York, N.Y.). - 2003; 300 (5626); 1763-1767 ()], экспериментальной кристаллической структуры [Yang, H., Yang, M., Ding, Y., et al. / The crystal structures of severe acute respiratory syndrome virus main protease and its complex with an inhibitor // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. - 2003; 100 (23); 13190-13195()], и ключевой роли  $M^{pro}$  в репликации SARS - CoV и MERS - CoV [Anand, K., Yang, H., Barflam, M., et al. / Coronavirus main proteinase: target for antiviral drug therapy BT - Coronaviruses with Special Emphasis on First Insights Concerning SARS, Birkhäuser Basel - 2005; pp.173-199()]. В 2003-2015 гг. были найдены обратимые и необратимые ингибиторы основной протеазы SARS - CoV [Pillaiyar, T., Manickam, M., Namasivayam, V., et al. / An Overview of Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus (SARS-CoV) 3CL Protease Inhibitors: Peptidomimetics and Small Molecule Chemotherapy// Journal of Medicinal Chemistry - 2016; 59 (14), 6595-6628], однако большинство из них были слабыми ингибиторами, и ни один из них не прошел клинических испытаний. Основная протеаза и несколько других белков SARS-CoV-2 были идентифицированы в качестве терапевтической мишени для препаратов против COVID - 19. Высококачественные 3D-структуры SARS - CoV - 2  $M^{pro}$  в форме апо с различными ингибиторами депонированы в Protein Data Bank [Berman, H.M., Westbrook, J., Feng, Z., et al. / The Protein Data Bank // Nucleic Acids Research. - 2000; 28 (1), 235-242]. Выявлено, что SARS-CoV-2  $M^{pro}$  имеет каталитическую диаду цистеин-гистидин: Cys145 и His41. Данные сведения были использованы при поиске соединений среди известных, в качестве основных ингибиторов протеазы SARS, которые можно было бы отнести к группе соединений-кандидатов, обладающих потенциальной противовирусной биологической активностью в отношении бета-коронавирусов для дальнейшей экспериментальной проверки.

Недостатком всех вышеперечисленных соединений является их низкая эффективность связывания с указанной мишенью, быстрое снижение концентрации с периодом

полувыведения около 1 часа и, как следствие, необходимость использования доставляемых препаратов в более высоких концентрациях, что может вызывать нежелательные реакции у пациентов, перечисленные ранее.

Заявляемое изобретение основано на использовании известного соединения -  
5 кислородсодержащего производного 6-галогенхинолина, для лечения заболеваний, вызванных бета-коронавирусами, в т.ч. SARS-CoV-2, которое продемонстрировало ингибирование репликации бета-коронавирусов, и может быть рекомендовано для использования в терапии COVID - 19.

Из уровня техники известны соединения, представляющие собой кислородсодержащие  
10 производные 6-галогенхинолина, и способы их получения, основанные на различных вариантах циклизации с образованием замещенных 6-галогенхинолинов и/или на участии различных реакционных центров, имеющих в молекуле 6-галогенхинолина, описанные ниже.

В настоящее время известно несколько способов синтеза 6-фенил-4-хлорхинолина,  
15 основанных на модификации 4-хлоранилина, 2-винил-4-хлоранилина, 3-фенил-5-хлорантранила и 2-амино-5-хлорбензофенона. Кроме того, 6-фенил-4-хлорхинолин можно получить из 4-фенил-6-хлор-1,2,3,4-тетрагидрохинолина в результате окислительного дегидрирования в растворе диметилсульфоксида, промотированного трет-бутоксидом натрия, при 60°C в течение 4 часов под давлением в 1000 атмосфер  
20 [Cai Hu; Tan Wei; Xie Yongfa; Yang Ruchun; Yue Shusheng // Journal of Organic Chemistry. - 2020; 85 (11); 7501-7509]. Основным недостатком данного способа является проведение реакции под давлением. При взаимодействии смеси 4-хлоранилина, ацетофенона, метансульфоновой кислоты в диметилсульфоксиде при 130°C в течение 36 часов происходит образование 6-фенил-4-хлорхинолина [JiangTao-Shan, Wang Xi, Zhang //  
25 Tetrahedron Letters. - 2018; 59 (31); 2979-2982]. Основным недостатком данного способа является длительность проведения процесса, а также необходимость проведения очистки целевого продукта с последовательным использованием нескольких способов очистки и выделения органических соединений. В случае взаимодействия двукратного избытка 1-азидостирена с 4-хлоранилином в присутствии цинк трифторметансульфоната в  
30 ацетонитриле при 90°C в течение 5 часов в герметичной трубке был получен 6-фенил-4-хлорхинолин с выходом 40% [Cen Jinghe, Li Jianxiao, Zhang Yu, Zhu Zhongzhi, Yang Shaorong, Jiang Huanfeng // Organic Letters. - 2018; 20 (15); 4434-4438]. Основным недостатком данного способа является необходимость предварительного синтеза 1-азидостирена из 1,2-дибромэтилбензола, кроме того, некоторая аппаратная сложность  
35 проведения описанного взаимодействия. 6-Фенил-4-хлорхинолин можно получить в результате взаимодействия 4-хлоранилина с фенилацетиленом при добавлении 5 мольных процентов карбонил(пентаметилциклопентадиенил)кобальт дийодида, 20 мольных процентов трифлимида серебра (I) и полуторно кратного избытка пероксодисульфата калия в диметилсульфоксиде при 120°C в течение 8 часов [Xu Xuefeng, Yang Yurong,  
40 Zhang Xu, Yi Wei // Organic Letters. - 2018; 20 (3); 566-569]. Одним из недостатков данного способа является необходимость выделения искомого соединения с использованием хроматографических методов очистки. Кроме того, ранее эта же группа авторов показала возможность получения хинолинов, в том числе 6-фенил-4-хлорхинолина, на основе Co(III)-катализируемых активации/карбонилирования/циклизации анилинов  
45 кетонами с участием формальдегида в качестве источника карбонила при проведении процесса в метаноле при 120°C в течение 8 часов [Xu Xuefeng, Yang Yurong, Chen Xin, Zhang Xu, Yi Wei // Organic and Biomolecular Chemistry. - 2017; 15 (43); 9061-9065].

Использование микроволновой активации процесса позволяет сократить время реакции

до 20 минут и отказаться от сложных каталитических систем [Chandra Devesh, Dhiman Ankit Kumar, Kumar Rakesh, Sharma Upendra // *European Journal of Organic Chemistry*. - 2019; 16; 2753-2758]. Однако реакцию в данном случае необходимо проводить в запаянной трубке, что является недостатком этого метода синтеза.

- 5     Результатом взаимодействия 4-хлоранилина с фенилацетиленом является синтез замещенного 2-винил-4-хлоранилина, который можно использовать в качестве исходного реагента в синтезе 6-фенил-4-хлорхинолина. Показано, что аннелирование 1-фенил-1-(2-амино-5-хлорфенил)этилена с N,N-диметилсульфоксидом в присутствии 1,4-дiazобисцикло[2.2.2]октан-1,4-дий-1,4-дисульфидата (0,5 эквиволь), бис
- 10 (дифенилиденацетон)палладия (10 мольных процентов) при 140°C в течение 18 часов в атмосфере азота в запаянной трубке позволяет получить 6-фенил-4-хлорхинолин [Yuan Jin, Yu Jin-Tao, Jiang Yan, Cheng Jiang // *Organic and Biomolecular Chemistry*. - 2017; 15 (6); 1334-1337]. Основными недостатками данного способа является сложность экспериментального исполнения и использование труднодоступных активирующих
- 15 систем. При перемешивании замещенного 2-виниланилина с двукратным избытком глиоксиловой кислоты и полуторакратного избытка диацетата меди в диметилсульфоксиде в пробирке Шленка при 80°C в течение 1.5 часов образуется 6-фенил-4-хлорхинолин, выделение которого осуществляли экстракцией дихлорметана из водного раствора с последующей очисткой колоночной хроматографией с
- 20 использованием силикагеля и смеси петролейный эфир: этилацетат в объемном соотношении 1:5 [Ding Qiuping; Hao Tianxin; Luo Puying; Song Xiaolin; Xiang Yunyu; Xiong Weikang // *Tetrahedron*. - 22 January 2021; 79; 131832]. Основными недостатками данного способа является сложность экспериментального исполнения взаимодействия, а также выделения и очистки целевого продукта. Кроме того, получение 6-фенил-4-хлорхинолина
- 25 возможно за счет one-pote взаимодействия, основанного на первоначальном окислении этилового спирта *in situ* на воздухе с последующим аннелированием по Фидлендеру с 2-амино-5-хлорбензофеноном в присутствии гидроксида калия при 80°C в течение 8 часов [Anand Namrata, Koley Suvajit, Ramulu B. Janaki, Maya Shankar // *Organic and Biomolecular Chemistry*. - 2015; 13 (37); 9570-9574]. Еще одним способом синтеза 6-фенил-
- 30 4-хлорхинолина является катализируемое хлоридом кобальта (10 мольных процентов) one-pote взаимодействие алкенилцинк пивалата с 5-хлор-3-фенилантранилом, основанное на первоначальном электрофильном аминировании с последующей циклоизомеризацией, при проведении процесса в тетрагидрофуране при 23°C в течение 16 часов [Li Jie, Tan Eric, Keller Niklas, Chen Yi-Hung, Zehetmaier Peter M., Jakowetz Andreas C., Bein Thomas,
- 35 Knochel Paul // *Journal of the American Chemical Society*. - 2019; 141 (1); 98-103]. Основными недостатками данного способа являются длительность проведения процесса и использование не самых коммерчески доступных реагентов для проведения данного взаимодействия.

- Введение пиперидин-1-дитиокарбамата преимущественно реализуют на основе
- 40 замещения галогена в молекуле гетероцикла при взаимодействии с пиперидином, сероуглеродом, в присутствии триэтиламина в среде N,N-диметилформамида при комнатной температуре в течение 12 часов [He Qi, Liu Jing, Lan Jin-Shuai, Ding Jiaoli, Sun Yongbing, Fang Yuanying, Jiang Neng, Jin Yi, Xie Sai-Sai // *Bioorganic Chemistry*. - 2018; 81; 512-528].

- 45     Большое внимание уделяется способам синтеза 6-хлор-4-фенилхинолин-2(1H)-она, что обусловлено проявляемой им биологической активностью, например, способностью ингибировать вирус гепатита В [Hewawasam, P.P., Fan, W.W., Knipe, J.J., Moon, S.L., Boissard, C.G., Gribkoff, V.K., and Starrett, J.E. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* - 2002; 12 (13);

1779]. Подавляющее число способов синтеза 6-хлор4-фенилхинолин-2(1H)-она основано на реакциях 2-амино-5-хлорбензофенона. Так в результате тандема реакций амидирования и конденсации Кневенагеля 2-амино-5-хлорбензофенона с этилацетатом в присутствии бис(триметилсилил)амида лития можно получить 6-хлор4-фенилхинолин-2(1H)-она с хорошим выходом [Cheng Pi, Zhang Quan, Ma Yun-Bao, Jiang Zhi-Yong, Zhang Xue-Mei, Zhang Feng-Xue, Chen Ji-Jun // *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*. - 2008; 18 (13); 3787-3789. Cheng Pi, Gu Qiong, Liu Wei, Zou Jian-Feng, Ou Yang-Yong, Luo Zhong-Yong, Zeng Jian-Guo // *Molecules*. - 2011; 16 (9); 7649-7661]. Кроме того, предложен способ синтеза 6-хлор4-фенилхинолин-2(1H)-она на основе взаимодействия 4-хлор-2-(1-фенилвинил)анилина с трифосгеном, взятых в мольном соотношении 2:1, в дихлорметане в присутствии эквимольного количества триэтиламина в пробирке Шленка в атмосфере азота при 60°C в течение 12 часов [Du Guizhi, Wang Zixiao, Zhang Zhen // *Heterocycles*. - 2020; 100 (4); 600-608]. Недостатками данного метода являются сложность экспериментального исполнения и необходимость последующей очистки выделяемого продукта при помощи флэш-хроматографии. Синтез 2-хинолинонов возможен за счет внутримолекулярной декарбоксилирующей реакции по типу Хека 2-оксо-2-((2-винилфенил)амино)уксусной кислоты в присутствии гипервалентного йода (III) из (4-фторфенил)- $\lambda^3$ -йодандиил диацетата в хлороформе при комнатной температуре в запаянной трубке в течение 24 часов [Fan Huaqiang, Pan Peng, Zhang Yongqiang, Wang Wei // *Organic Letters*. - 2018; 20; (24); 7929-7932]. Основным недостатком данного способа является длительность протекания описанного процесса. Домино Хек реакция используется и в случае синтеза 6-хлор-4-фенилхинолин-2(1H)-она из метил 3-(2-ацетамидофенил)акрилата и 4-йод-1-хлорбензола в N,N-диметилформамиде в присутствии ацетата калия и диацетата палладия при 120°C в течение 24 часов [Bernini Roberta, Cacchi Sandro, Fabrizi Giancarlo, Sferrazza Alessio // *Heterocycles*. - 2006; 69 (1); 99-105]. Основным недостатком данного способа является длительность протекания описанного процесса.

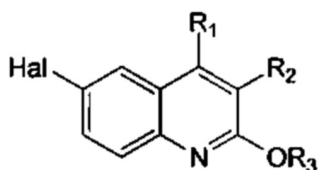
Наиболее близким к заявляемому способу является способ получения, основанный на получении 4-фенил-2(1H)-хинолонов за счет многостадийного синтеза, основанного на ацилировании 2-(аминоацетамидо)-бензофенона уксусным ангидридом в течение 3 часов с последующей циклизацией 2-(ациламиноацетамидо)-бензофенона в результате перемешивания в смеси пиридина и пиперидина около 6 часов и дальнейшем проведении гидролиза в течение 5 часов в присутствии минеральных кислот, например, серной. При этом кроме целевого 4-фенил-2(1H)-хинолона в продукте возможно присутствие интермедиата - ациламинохинолона. Данный способ синтеза реализуется лишь для 4-фенил-2(1H)-хинолонов с первичной аминогруппой в 3 положении. В случае если указанный атом азота вторичный или третичный, получение искоемых 4-фенил-2(1H)-хинолонов осуществляют через циклизацию 2-(N-замещенного аминоацетамидо) бензофенона при нагревании в присутствии эквимольного количества уксусного ангидрида в толуоле или за счет нагревания в водно-спиртовом растворе гидроксида натрия [Hoffmann-La Roche // *Chem. Abstr.* - 1966; 64; 9693a. Патент US 3202661, 1962]. Основным недостатком данного способа является многостадийность и длительность проведения реакции.

Технической проблемой, решаемой заявляемым изобретением, является поиск соединений для лечения заболеваний, вызванных бета-коронавирусом, включая SARS-CoV-2, вызвавшего пандемию COVID-19, характеризующихся высокой эффективностью за счет подавления репликации коронавируса, и обладающих низкой токсичностью.

Раскрытие изобретения

Техническим результатом изобретения является новое применение кислородсодержащего производного 6-галогенхинолина для подавления репликации бета-коронавирусов, включая SARS-CoV-2, характеризующегося высокой эффективностью подавления репликации коронавируса в культуре клеток Vero E6 при низких значениях эффективной концентрации EC50 (концентрация соединения, которая ингибирует репликацию вируса на 50% и более по сравнению с контролем)  $\wedge$  0.51 цМ, низкой цитотоксичностью и высоким значением индекса селективности SI>400. Данное соединение обладает низкой токсичностью, о чем свидетельствует отсутствие активности на клеточной линии здоровых клеток легочного эпителия человека, подтвержденное примерами.

Технический результат достигается применением кислородсодержащего производного 6-галогенхинолина общей формулы I для подавления репликации бета-коронавируса, включая SARS-CoV-2:



где Hal представляет собой заместитель, выбранный из брома, фтора, хлора;

R1 - заместитель, выбранный из водорода, алкила (C1-C10), нормального или разветвленного строения, арила без заместителей или замещенного по положениям 2, 3, 4, 5, 6;

R2 - заместитель, выбранный из водорода, NНалкил-, NНарил-, NНгетарил-, пирролидинил-, пиперидинил-, морфолинил-, пиперазинил-, гомопиперазинил-, тетрагидрохинолинил-, тетрагидроизохинолинил-, гексаметилениминил-, -SC(S)X, где X=NНалкил-, NНарил-, NН-гетарил-, пирролидинил-, пиперидинил-, морфолинил-, пиперазинил-, гомопиперазинил-, тетрагидрохинолинил-, тетрагидроизохинолинил-, гексаметилениминил-;

R3 - заместитель, выбранный из водорода, алкила (C1-C10), нормального или разветвленного строения, алкиларила, арила без заместителей или замещенного по положениям 2, 3, 4, 5, 6.

Предпочтительно, когда Hal представляет собой хлор; R1 представляет собой фенил, R2 представляет собой заместитель, выбранный из пиперидин-1-карбодитиоата, 2-метилпиперидин-1-карбодитиоата, 4-метилпиперидин-1-карбодитиоата, морфолинила;

R3 представляет собой заместитель, выбранный из водорода, 2-хлорбензоила.

Предпочтительно применение кислородсодержащего производного 6-галогенхинолина общей формулы I для лечения заболеваний, вызванных бета-коронавирусами, включая SARS-CoV-2, а также для использования в комплексной терапии заболеваний, вызванных бета-коронавирусами.

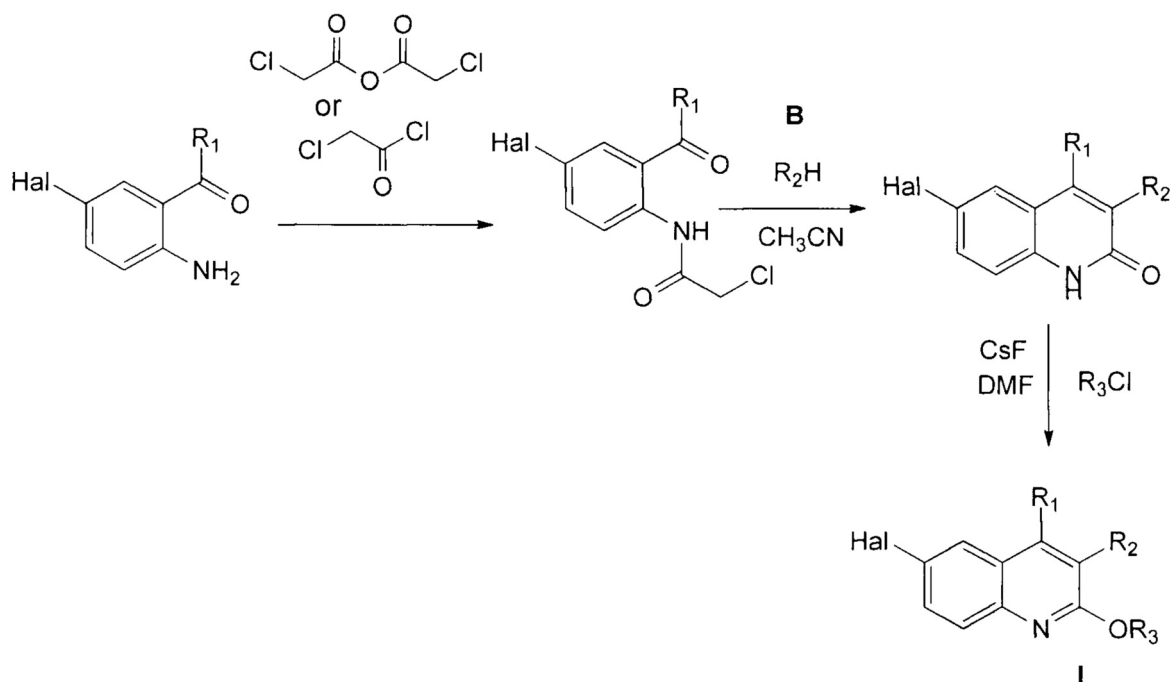
Для применения кислородсодержащего производного 6-галогенхинолина общей формулы I предпочтительно изготовление фармацевтической композиции, включающей терапевтически эффективное количество соединения формулы I и фармацевтически приемлемые добавки. При этом фармацевтическая композиция может быть представлена в виде единичной дозированной формы или в виде двух или более отдельных готовых фармацевтических форм для последовательного или одновременного введения.

Соединение формулы I может быть использовано, как в чистом виде, так и в качестве активнодействующего компонента новых лекарственных форм против коронавирусов.

Способ получения соединений общей формулы I для ингибирования репликации

бета-коронавирусов, включая SARS-CoV-2, заключается в модификации N-(2-алкил (арил)-4-галогенфенил)-2-хлорацетамида гетероциклизацией под действием различных дитиокарбаматов или аминов с последующим алкилированием по атому кислорода с последующим выливанием реакционной массы в воду и выделением продукта реакции  
 5 фильтрованием и перекристаллизацией его из диоксана. При этом синтез соединений I осуществляют гетероциклизацией N-(2-алкил(арил)-4-галогенфенил)-2-хлорацетамида под действием различных дитиокарбаматов проводят в присутствии избытка ацетата калия, взятого из расчета 2,8-3,2 эквимоль (преимущественно 3 эквимоль) по отношению к N-(2-алкил(арил)-4-галогенфенил)-2-хлорацетамиду в абсолютированном N,N-  
 10 диметилформамиде с последующим выливанием реакционной массы в воду и выделением продукта реакции фильтрованием и перекристаллизацией его из диоксана. Синтез соединений I осуществляют гетероциклизацией N-(2-алкил(арил)-4-галогенфенил)-2-хлорацетамида под действием различных аминов с последующим алкилированием по атому кислорода, при этом в качестве амина используют морфолин. Гетероциклизацию N-(2-алкил(арил)-4-галогенфенил)-2-хлорацетамида под действием морфолина проводят в абсолютированном ацетонитриле. Для полученного 4-R1-3-R2-хлорхинолин-2(1H)-она в присутствии 1-1,1 эквимоль фторида цезия по отношению к 4-R1-3-R2-хлорхинолин-2(1H)-ону (преимущественно 1 эквимоль) проводят алкилирование по атому кислорода в абсолютированном N,N-диметилформамиде с последующим  
 20 выливанием реакционной массы в воду и выделением продукта реакции фильтрованием и очисткой при помощи флэш-хроматографии.

В качестве дитиокарбамата используют пиперидин-1-илдитиокарбоновую кислоту, 2-метилпиперидин-1-илдитиокарбоновую кислоту, 4-метилпиперидин-1-илдитиокарбоновую кислоту.



Для лечения заболеваний, вызванных бета-коронавирусом, включая SARS-CoV-2, вводят фармацевтическую композицию, включающую кислородсодержащее производное  
 45 6-галогенхинолина в терапевтически эффективном количестве.

Группа изобретений расширяет арсенал средств для лечения и профилактики заболеваний, вызванных коронавирусами.

Согласно данному изобретению кислородсодержащее производное 6-

галогенхинолина может быть использовано для подавления репликации бета-коронавируса, включая SARS-CoV-2, следовательно, для лечения заболеваний, вызванных бета-коронавирусами.

Способ получения соединения формулы I, заключается во взаимодействии N-(2-алкил (арил)-4-галогенфенил)-2-хлорацетамидов с различными аминами при кипячении в абсолютированном ацетонитриле с образованием кислородсодержащих производных 6-галогенхинолина, что позволяет сократить время проведения процесса до 3-6 часов и значительно расширить спектр получаемых продуктов формулы I, в том числе в результате дальнейшей модификации алкилированием по атому кислорода.

Осуществление изобретения

Ниже приведены определения терминов, которые используются в описании настоящего изобретения.

«Лекарственное средство (препарат)» - вещество (или смесь веществ в виде фармацевтической композиции), в виде таблеток капсул инъекций, мазей и др. готовых форм предназначенное для восстановления, исправления или изменения физиологических функций у человека и животных, а также для лечения и профилактики болезней, диагностики, анестезии, контрацепции, косметологии и прочего.

«Фармацевтическая композиция» обозначает композицию, включающую в себя соединение формулы I и, по крайней мере, один из компонентов, выбранных из группы, состоящей из фармацевтически приемлемых и фармакологически совместимых наполнителей, растворителей, разбавителей, носителей, вспомогательных средств, средств доставки, консерванты, стабилизаторы, наполнители, измельчители, увлажнители, эмульгаторы, суспендирующие агенты, загустители, подсластители, отдушки, ароматизаторы. Пролонгированное действие композиции может быть обеспечено с помощью агентов, замедляющих абсорбцию активного начала, например, моностеарат алюминия и желатин. Примерами подходящих носителей, растворителей, разбавителей и средств доставки являются вода, этанол, полиспирты, а также их смеси, растительные масла (такие, как оливковое масло) и инъекционные органические сложные эфиры (такие, как этилолеат). Примерами наполнителей являются лактоза, молочный сахар, цитрат натрия, карбонат кальция, фосфат кальция и им подобные. Примерами измельчителей и распределяющих средств являются крахмал, алгиновая кислота и ее соли, силикаты. Примерами лубрикантов являются стеарат магния, лаурилсульфат натрия, тальк, а также полиэтиленгликоль с высоким молекулярным весом.

Фармацевтическая композиция для перорального, сублингвального, внутримышечного, внутривенного, подкожного, одного или в комбинации с другим активным началом, может быть введена животным и людям в стандартной форме введения, в виде смеси с традиционными фармацевтическими носителями. Пригодные стандартные формы введения включают пероральные формы, такие как таблетки, желатиновые капсулы, пилюли, порошки, гранулы, пероральные растворы или суспензии, сублингвальные и трансбуккальные формы введения, аэрозоли, имплантаты, местные, трансдермальные, подкожные, внутримышечные, внутривенные, интраназальные формы введения.

Термин «терапевтически эффективное количество» означает количество действующего вещества, которое (1) лечит или предупреждает конкретное заболевание, состояние или расстройство, (2) ослабляет, улучшает или устраняет один или более симптомов конкретного заболевания, состояния или расстройства, или (3) предупреждает или задерживает наступление одного или более симптомов конкретного заболевания, состояния или расстройства, изложенного в данном описании. Термин «терапевтически эффективное количество» означает такое количество соединения формулы I, которое

достаточно для того, чтобы обеспечить желаемый терапевтический эффект. При этом суточная доза у взрослых обычно составляет 1 ~ 500 мг, предпочтительно - 10 ~ 300 мг. Поэтому во время приготовления из фармацевтической композиции лекарственного средства по настоящему изобретению в виде единиц дозировки необходимо учитывать

вышеназванную эффективную дозировку, при этом каждая единичная дозировка препарата должна содержать 1 ~ 500 мг средства общей формулы I предпочтительно - 10 ~ 300 мг. В предпочтительном варианте, терапевтически эффективное количество составляет от 0,01 до 1 мг/кг веса тела субъекта. В соответствии с указаниями врача или фармацевта данные препараты могут приниматься несколько раз в течение

определенных промежутков времени (предпочтительно - от одного до шести раз). При этом, дозировка средства, содержащего соединение общей формулы I, у пациентов может корректироваться в зависимости от терапевтической эффективности и биодоступности активного ингредиента в организме, скорости их обмена и выведения из организма, а также в зависимости от возраста, пола и стадии заболевания пациента.

Лекарственные средства могут вводиться перорально или парентерально (например, внутривенно, подкожно, внутрибрюшинно или местно).

EC<sub>50</sub>, или концентрация полумаксимального ингибирования - показатель эффективности лиганда при ингибирующем биохимическом или биологическом взаимодействии. EC<sub>50</sub> является количественным индикатором, который показывает, сколько нужно лиганда-ингибитора для ингибирования биологического процесса на 50%, в том числе подавления репликации вируса в культуре клеток.

IC<sub>50</sub> - концентрация полумаксимального ингибирования белка-мишени в экспериментах с флюорогенным субстратом в тестовой системе белок-субстрат-ингибитор.

TC<sub>50</sub> или CC<sub>50</sub> - концентрация препарата, при которой наблюдается 50% гибель исследуемой клеточной культуры.

SI - индекс селективности, отношение токсичности соединения и ингибирующей активности против бета-коронавируса (TC<sub>50</sub> / IC<sub>50</sub>).

Каталитические количества катализатора - минимальное количество вещества, обеспечивающее проведение реакции с учетом различных технологических факторов проведения реакции, прежде всего зависимости температуры/продолжительности реакции (чем больше катализатора, тем быстрее идет реакция, чем выше температура - ускорение протекания реакции, катализатора можно брать меньше).

Биологическая активность соединения формулы I, заключающаяся в ингибировании репродукции бета-коронавируса, была предварительно выявлена при помощи метода молекулярного моделирования. На основании докинга были выявлены производные 4-алкил(арил)-6-галогенхинолин-1-она с лучшими параметрами, которые в последующем нашли экспериментальные подтверждения их ингибирующей активности. Молекулярный докинг был реализован с использованием разработанной в МГУ имени М.В. Ломоносова программы SOL [Романов А.Н., Кондакова О.А., Григорьев Ф.В., Сулимов А.В., Луцкекина С.В., Мартынов Я.Б., Сулимов В.Б. / Компьютерная разработка лекарств: программа докинга SOL // Вычислительные методы и программирование - 2008; 9 (2); 64-84. Sulimov V.B., Ilin I.S., Kutov D.C., Sulimov A.V. / Development of docking programs for Lomonosov supercomputer // Journal of the Turkish Chemical Society Section A: Chemistry - 2020; 7 (1); 259-276], определяющей энергию связывания белок-лиганд, и получившей международное признание среди аналогичных программных продуктов [Alexey V. Sulimov, Danil C.Kutov, Igor V. Oferkin, Ekaterina V. Katkova, and Vladimir B. Sulimov /

Application of the Docking Program SOL for CSAR Benchmark // J. Chem. Inf. Model. - 2013; 53; 1946-1956]. Выявленная группа соединений затем была дополнительно проверена с помощью квантово-химического полуэмпирического метода PM7 [Sulimov A.V., Kutov D.C., Taschilova A.S., Ilin I.S., Stolpovskaya N.V., Shikhaliyev Kh S., Sulimov V.B. / In search of non-covalent inhibitors of SARS-CoV-2 main protease: Computer aided drug design using docking and quantum chemistry // Supercomputing Frontiers and Innovations. - 2020; 7 (3); 41-56] с континуальной моделью растворителя: дополнительная локальная оптимизация из найденного при докинге положения лиганда в белке и вычисление энтальпии связывания белок-лиганд. Для эксперимента были отобраны соединения, молекулы которых по данной мишени имели достаточно отрицательный скор докинга и достаточно отрицательную энтальпию связывания белок-лиганд. Именно среди этих соединений, отобранных на основании их высокой энергии связывания с главной протеазой коронавируса SARS-CoV-2, были обнаружены соединения эффективно подавляющие репликацию этого коронавируса в культуре клеток Vero E6.

Соединения 4-(4-фенил-6-хлор-2-((2-хлорбензоил)оксихинолин-3-ил)морфолин Ia, 2-оксо-4-фенил-6-хлор-1,2-дигидрохинолин-3-илпиперидин-1-карбодитиоат Ib и 2-оксо-4-фенил-6-хлор-1,2-дигидрохинолин-3-ил 4-метилпиперидин-1-карбодитиоат Id подавляют репликацию коронавируса SARS-CoV-2 в культуре клеток Vero E6 с эффективной концентрацией  $EC_{50}=4,77; 7,62$  и  $5,24 \mu M$ .

Отобранные соединения эффективно подавляют репликацию бета-коронавирусов в клеточных культурах.

Далее представлено более подробное описание примеров осуществления данного изобретения с достижением заявленного результата. Приведенные ниже примеры иллюстрируют, но не ограничивают данное изобретение.

Все используемые реагенты являются коммерчески доступными, контроль за ходом реакции осуществляли при помощи тонкослойной хроматографии (ТСХ), и время реакции указано только для иллюстрации; структуру и чистоту всех выделенных соединений подтверждали, по меньшей мере, одним из следующих методов: ТСХ (пластины для ТСХ с предварительно нанесенным силикагелем 60 F<sub>254</sub> Merck), масс-спектрометрия или ядерный магнитный резонанс (NMR). Выход продукта приведен только для иллюстрации. <sup>1</sup>H NMR спектры были зарегистрированы на спектрометре Agilent MR 400+ (на рабочих частотах 400 и 100 MHz, соответственно) при нормальных условиях в растворах DMSO-D<sub>6</sub> если не указано иное, относительно тетраметилсилана (TMS) в качестве внутреннего стандарта, миллионных долях (м.д.). Хроматографический анализ проводился на приборе Agilent Technologies 1260 infinity с масс-детектором Agilent 6230 TOF LC/MS (времяпролетный детектор масс высокого разрешения), метод ионизации - двойное электрораспыление (dual-ESI). Запись и регистрация сигналов проводилась в положительной полярности; небулайзер (N<sub>2</sub>) 20 psig, газ-осушитель (N<sub>2</sub>) 6 мл/мин, 325°C; диапазон обнаружения масс составляет 50-2000 Дальтон. Напряжение на капилляре 4.0 кВ, фрагментаторе +191 В, скиммере +66 В, OctRF 750 В. Условия хроматографирования: колонка Poroshell 120 EC-C18 (4.6 × 50 мм; 2.7 мкм). Градиентное элюирование: ацетонитрил/вода (0,1% муравьиной кислоты); скорость потока 0.4 мл/мин. Программное обеспечение для обработки результатов исследований - MassHunter Workstation / Data Acquisition V.06.00. Температуры плавления определены на аппарате Stuart SMP30.

Все процедуры, если не оговорено отдельно проводили при комнатной температуре или температуре окружающей среды, т.е. в диапазоне 20-25°C.

Высушивание продуктов до постоянного веса проводили при температуре 35-45°C при атмосферном давлении или с использованием вакуум-сушильного шкафа при остаточном давлении  $0,35 \pm 0,005$  кг/см<sup>2</sup> ( $35 \pm 5$  кПа).

Для промывания осадков/фильтрата использовали дистиллированную воду, если не оговорено особо.

Целевые производные 4-алкил(арил)-6-галогенхинолина I получены многостадийным синтезом, включающим получение N-(2-алкил(арил)-4-галогенфенил)-2-хлорацетамида и дальнейшее проведение реакций его структурной модификации по двум путям (А, В), представленным на схеме 1.

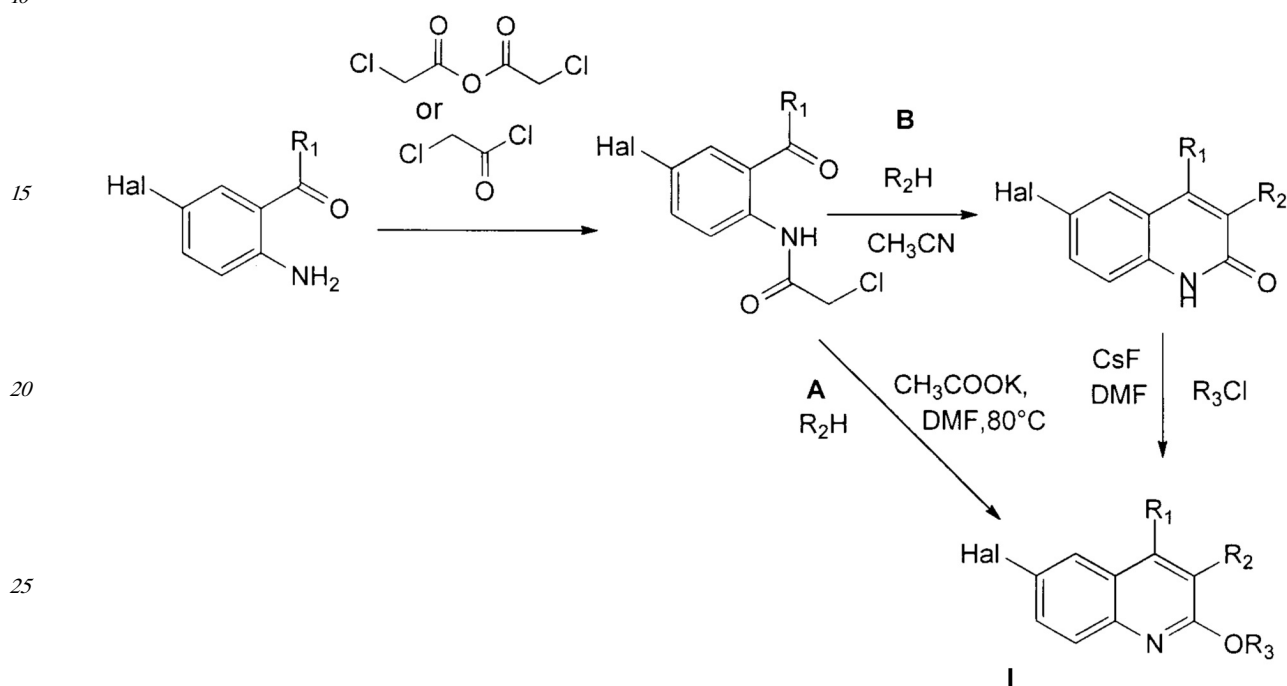


Схема 1

N-(2-Алкил(арил)-4-галогенфенил)-2-хлорацетамид получают из (2-аминофенил) (алкил(арил))метанона и ангидрида 2-хлоруксусной кислоты или 2-хлорацетил хлорида по известной методике [Agbowuro Ayodeji A., Anifowose Abiodun, Lu Wen, Tan Chalet, Tripathi Ravi, Wang Binghe, Yang Xiaoxiao // Medicinal Chemistry Research. - 2020; 29 (7); 1199-1210]. При выполнении данной стадии синтеза могут быть использованы любые известные из уровня техники способы и средства.

Далее получение искомого соединения формулы I возможно через стадию гетероциклизации, реализуемую за счет взаимодействия с различными дитиокарбаматами (путь А) или с различными аминами (путь В). В качестве дитиокарбаматов могут быть использованы соединения общей формулой  $R_2H$ , где  $R_2 = -SC(S)X$ , где  $X = N$ Алкил-,  $N$ Арил-,  $ЮТ$ гетарил-, пирролидинил-, пиперидинил-, морфолинил-, пиперазинил-, гомопиперазинил-, тетрагидрохинолинил-, тетрагидроизохинолинил-, гексаметилениминил-. В качестве аминов могут быть использованы соединения общей формулой  $R_2H$ , где  $R_2 = N$ Алкил-,  $N$ Арил-,  $NH$ -гетарил-, пирролидинил-, пиперидинил-, морфолинил-, пиперазинил-, гомопиперазинил-, тетрагидрохинолинил-, тетрагидроизохинолинил-, гексаметилениминил-.

Путь А: получение кислородсодержащего производного 6-галогенхинолина I в результате гетероциклизации N-(2-алкил(арил)-4-галогенфенил)-2-хлорацетамида с различными дитиокарбаматами.

Готовят раствор N-(2-алкил(арил)-4-галогенфенил)-2-хлорацетамида в абсолютном N,N-диметилформамиде (0,01 моль в 70-100 мл), добавляют 0,03-0,05 моль ацетата калия. К полученной суспензии при комнатной температуре порциями добавляют 0,01-0,011 дитиокарбамата с последующим нагреванием при 75-85°C в течение 3-6 часов. После завершения протекания реакции реакционную массу выливают в воду, полученный при этом осадок отфильтровывают, промывают водой, сушат, перекристаллизовывают из диоксана. Выход продуктов реакции составляет 70-80%.

Путь В: получение кислородсодержащего производного 6-галогенхинолина I в результате гетероциклизации N-(2-алкил(арил)-4-галогенфенил)-2-хлорацетамида с различными аминами.

Готовят смесь N-(2-алкил(арил)-4-галогенфенил)-2-хлорацетамида, соответствующего амина и абсолютного ацетонитрила, взятых из расчета, что на 0,01 моль N-(2-алкил(арил)-4-галогенфенил)-2-хлорацетамида берут 0,025-0,035 моль амина и 70-100 мл растворителя. Полученную смесь кипятят в течение 3-6 часов. Реакционную массу выливают в воду, полученный при этом осадок отфильтровывают, промывают водой, сушат, перекристаллизовывают из диоксана. Выход продуктов реакции составляет 80-90%.

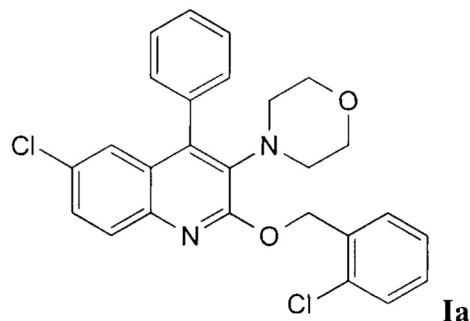
Далее готовят раствор 4-алкил(арил)-6-галоген-3-R<sub>2</sub>-хинолин-2(1H)-она и фторида цезия, взятых из расчета что на 1 моль 4-алкил(арил)-6-галоген-3-R<sub>2</sub>-хинолин-2(1H)-она берут 0,01-0,011 моль фторида цезия, в абсолютном N,N-диметилформамиде (на 0,01 моль 4-алкил(арил)-6-галоген-3-R<sub>2</sub>-хинолин-2(1H)-она берут 70-100 мл растворителя). К полученному раствору при комнатной температуре по каплям добавляют 0,01-0,11 моль соответствующего алкил(арил)хлорида с последующим кипячением в течение 3-6 часов. После завершения протекания взаимодействия реакционную массу выливают в воду, полученный при этом осадок отфильтровывают, сушат. Полученный продукт очищают при помощи флэш-хроматографии. В качестве элюирующего раствора используют смесь этилацетат: гексан в объемном соотношении 3:1. Выход продуктов реакции составляет 70-80%.

Схемы синтеза конечных соединений I, способы их получения, а также спектральные данные, физико-химические характеристики представлены в примерах ниже.

Кислородсодержащие производные 6-галогенхинолина I указанными выше способами получены впервые.

#### ПРИМЕР 1 (путь В)

Синтез 4-(4-фенил-6-хлор-2-((2-хлорбензоил)оксихинолин-3-ил)морфолина 1a



Готовят смесь 0,01 моль N-(2-бензоил-4-хлорфенил)-2-хлорацетамида, 0,03 моль морфолина и 100 мл абсолютного ацетонитрила. Полученную смесь кипятят в течение 3 часов. Реакционную массу выливают в воду, полученный при этом осадок отфильтровывают, промывают водой, сушат, перекристаллизовывают из диоксана. Выход 3-морфолин-4-фенил-6-хлорхинолин-2(1H)-она составляет 85%.

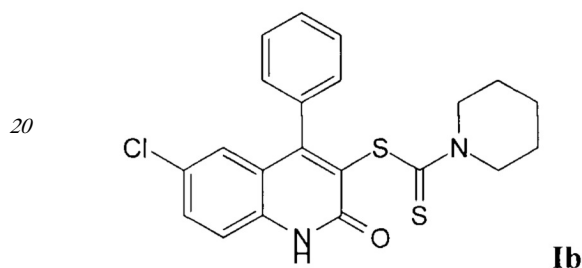
Далее готовят раствор 3-морфолин-4-фенил-6-хлорхинолин-2(1H)-она и фторида цезия, взятых в количестве 0,01 моль, в 100 мл абсолютированного N,N-диметилформамида. К полученному раствору при комнатной температуре по каплям добавляют 0,01 моль 1-хлор-2-хлорметилбензола и кипятят в течение 4 часов.

5 Реакционную массу выливают в воду, образовавшийся осадок отфильтровывают, сушат. Полученный продукт очищают при помощи флэш-хроматографии. В качестве элюирующего раствора используют смесь этилацетат: гексан в объемном соотношении 3: 1. Выход 75%.

10 Белый порошок, температура плавления 178-179°C;  $^1\text{H}$  ЯМР (ДМСО- $d_6$ , 500 Гц)  $\delta$  ppm: 2.79-2.81 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.26-3.38 (м, 8H, 4 $\text{CH}_2$ -морфолин), 5.58-5.60 (м, 1H, 1H-Ar), 7.15-7.52 (м, 12H, 12H-Ar); HPLC-HRMS (ESI) вычислено для  $\text{C}_{26}\text{H}_{22}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_2 + \text{H}^+$ , 465.1132; найдено, 465.1126.

#### ПРИМЕР 2 (путь А)

15 Синтез 2-оксо-4-фенил-6-хлор-1,2-дигидрохинолин-3-илпиперидин-1-карбодитиоата Ib

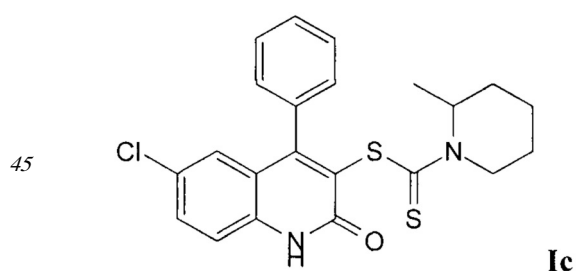


25 К раствору 0,01 моль N-(2-бензоил-4-хлорфенил)-2-хлорацетамида в 70 мл абсолютированного N,N-диметилформамида при перемешивании добавляют 0,03 моль ацетата калия. К полученной суспензии при комнатной температуре порциями добавляют 0,01 моль пиперидин-1-илдитиокарбоновой кислоты с последующим нагреванием при 80°C в течение 6 часов. Реакционную массу выливают в воду, образовавшийся осадок  
30 отфильтровывают, промывают водой, сушат, перекристаллизовывают из диоксана. Выход 78%.

Желтый порошок, температура плавления 261-262°C;  $^1\text{H}$  ЯМР (ДМСО- $d_6$ , 500 Гц)  $\delta$  ppm: 1.35-1.61 (м, 6H, 3 $\text{CH}_2$ ), 3.72-3.84 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 4.02-4.12 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6.83 (д, J= 2.3 Гц, 1H, H-Ar), 7.30-7.34 (м, 2H, 2H-Ar), 7.41 (д, J=8.8 Гц, 1H, 1H-Ar), 7.47-7.51 (м, 3H, 3H-Ar), 7.60 (м, 1H, 1H-Ar), 12.24 (с, 1H, NH); HPLC-HRMS (ESI) вычислено для  $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{ClN}_2\text{OS}_2 + \text{H}^+$ , 415.0701; найдено, 415.0719.

#### ПРИМЕР 3

40 Синтез 2-оксо-4-фенил-6-хлор-1,2-дигидрохинолин-3-ил 2-метилпиперидин-1-карбодитиоата Ic

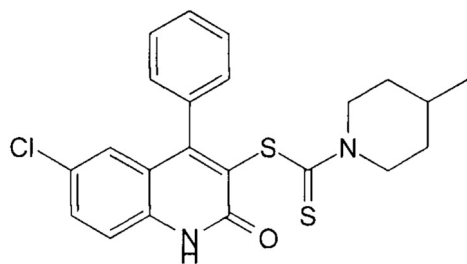


Синтез проводили аналогично примеру 2, при этом в качестве дитиокарбамата использовали 2-метилпиперидин-1-илдитиокарбоновую кислоту. Выход 75%.

Белый порошок, температура плавления 265-266°C;  $^1\text{H}$  ЯМР (ДМСО- $d_6$ , 500 Гц)  $\delta$  ppm: 1.11 (д,  $J=6.4$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.25-1.30 (м, 1H, CH), 1.48-1.53 (м, 3H, 3H- $\text{CH}_2$ ), 3.02-3.12 (м, 1H, H- $\text{CH}_2$ ), 4.09-4.12 (м, 1H, H- $\text{CH}_2$ ), 4.52-4.55 (м, 1H, H- $\text{CH}_2$ ), 5.02-5.15 (м, 1H, H- $\text{CH}_2$ ), 5.49-5.61 (м, 1H, H- $\text{CH}_2$ ), 6.83 (д,  $J=2.3$  Гц, 1H, H-Ar), 7.28-7.32 (м, 2H, 2H-Ar), 7.40 (д,  $J=8.8$  Гц, 1H, 1H-Ar), 7.42-7.50 (м, 3H, 3H-Ar), 7.60 (м, 1H, 1H-Ar), 12.23 (с, 1H, NH); HPLC-HRMS (ESI) вычислено для  $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{ClN}_2\text{OS}_2+\text{H}^+$ , 429.0858; найдено, 429.0872.

#### ПРИМЕР 4

Синтез 2-оксо-4-фенил-6-хлор-1,2-дигидрохиолин-3-ил 4-метилпиперидин-1-карбодитиоата Id



**Id**

Синтез проводили аналогично примеру 2, при этом в качестве дитиокарбамата использовали 4-метилпиперидин-1-илдитиокарбоновую кислоту. Выход 75%.

Белый порошок, температура плавления 264-265°C;  $^1\text{H}$  ЯМР (ДМСО- $d_6$ , 500 Гц)  $\delta$  ppm: 0.85 (д,  $J=6.3$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.00-1.05 (м, 1H, CH), 1.59-1.67 (м, 4H, 2 $\text{CH}_2$ ), 3.10 (т,  $J=11.2$  Гц, 1H, H- $\text{CH}_2$ ), 3.25-3.28 (м, 1H, H- $\text{CH}_2$ ), 4.25 (д,  $J=12.1$  Гц, 1H, H- $\text{CH}_2$ ), 5.06 (д,  $J=10.6$  Гц, 1H, H- $\text{CH}_2$ ), 6.82 (д,  $J=2.3$  Гц, 1H, H-Ar), 7.24-7.35 (м, 2H, 2H-Ar), 7.40 (д,  $J=8.8$  Гц, 1H, 1H-Ar), 7.42-7.49 (м, 3H, 3H-Ar), 7.60 (м, 1H, 1H-Ar), 12.25 (с, 1H, NH); HPLC-HRMS (ESI) вычислено для  $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{ClN}_2\text{OS}_2+\text{H}^+$ , 429.0858; найдено, 429.0861.

Также были синтезированы соединения и с другими вариантами радикалов, приведенных в общей формуле I, которые продемонстрировали схожую активность в ингибировании репликации бета-коронавирусов, включая SARS-CoV-2.

#### ПРИМЕР 5

Исследование активности противовирусных химически синтезированных соединений против коронавируса SARS - CoV- 2 in vitro

Химически синтезированные соединения растворяли в N,N-диметилсульфоксиде (ДМСО) до концентрации 10 мг/мл (исходный раствор) и хранили при -20°C.

В этом исследовании был использован штамм коронавируса SARS-CoV-2 гомологичный вирусному изоляту, выделенному в начале пандемии в г. Ухань (КНР).

Исследование противовирусной активности проводили с использованием перевиваемой линии клеток Vero (эпителиальные из почки Африканской зеленой мартышки). Клетки выращивали в модифицированной среде Дульбеко (ДМЕМ) с 10% эмбриональной сыворотки телят, 1% смесью антибиотиков и антимикотиков и 1% глутамина (Gibco, Life Technologies, UK).

Клетки Vero высевали в 96-луночные планшеты (примерно  $2 \times 10^4$  клеток на лунку) и инкубировали в течение 24 ч при 37°C до образования конфлюэнтного монослоя. Затем среду удаляли из лунок и заменяли 200 мкл свежей среды, содержащей 0-100 мкМ

соединения, и инкубировали в течение 2 ч. Затем среду удаляли из лунок и заменяли свежей средой, содержащей вирус множественностью заражения (MOI) 0,1. После 1-часовой инкубации среду заменяли свежей средой, содержащей соединение, и инкубировали в течение 72-96 часов при 37°C до появления цитопатического действия (ЦПД) в лунках с контролем вируса (без ингибитора).

Во всех экспериментах добавляли в инфицированные вирусом клетки в качестве отрицательного контроля в концентрации, соответствующей разведению исходного раствора соединения - ДМСО.

Количество жизнеспособных клеток (защищенных от ЦПД вируса соединением) определяли с помощью 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-2Н-тетразолий бромида (МТТ). В основе теста лежит реакция превращения бледно-желтого 3-(4,5-диметилтиазолин-2)-2,5-дифенилтетразолий бромида (Sigma-Aldrich, USA) в формазан фиолетового цвета под действием фермента сукцинатдегидрогеназы.

Для этого к супернатанту клеток добавляем раствор МТТ (50 мкл, 5 мг/мл).

Планшет инкубировали в течение 90 мин при 37°C.

Супернатант полностью удаляли, а клетки фиксировали 4% - ным формальдегидом в течение 30 мин.

Кристаллы МТТ растворяли в 1 мл 96% этанола в течение 10 мин.

На многофункциональном спектрофотометре xMark (Bio-Rad, USA) измеряли значения оптической плотности (экстинкцию) в 96-луночных планшетах при длине волны 450 нм. В качестве контроля интактного монослоя клеток использовали лунки, не зараженные вирусом.

Эффективность ингибирования вирусной репродукции изучаемым соединением определяли по формуле:

$$\text{Ингибирование, \%} = \frac{100 - (ОП_{\text{опыт}} - ОП_{\text{кл. контроль}})}{(ОП_{\text{вир. контроль}} - ОП_{\text{кл. контроль}})}.$$

где ОП - оптическая плотность

На каждое разведение соединения использовали по 3 лунки планшета, по которым определяли среднее значение.

В таблице 1 приведены результаты определения активности синтезированных соединений против коронавируса SARS - CoV- 2, а также данные по аналогичным исследованиям для Фавипиравира..

Таблица 1.

| Соединение                                                                              | TC <sub>50</sub><br>мкМ | SI<br>(TC <sub>50</sub> /<br>EC <sub>50</sub> ) | EC <sub>50</sub> ,<br>мкМ |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|-------------------------------------------------|---------------------------|
| 4-(4-фенил-6-хлор-2-((2-хлорбензоил)оксихинолин-3-ил)морфолин <b>Ia</b>                 | >215                    | 45,05                                           | 4,77                      |
| 2-оксо-4-фенил-6-хлор-1,2-дигидрохинолин-3-ил пиперидин-1-карбодитиоат <b>Ib</b>        | 36,3                    | 4,76                                            | 7,62                      |
| 2-оксо-4-фенил-6-хлор-1,2-дигидрохинолин-3-ил 2-метилпиперидин-1-карбодитиоат <b>Ic</b> | 26,8                    | 1,2                                             | 22,4                      |
| 2-оксо-4-фенил-6-хлор-1,2-дигидрохинолин-3-ил 4-метилпиперидин-1-карбодитиоат <b>Id</b> | 81,2                    | 15,5                                            | 5,24                      |
| Фавипиравир*                                                                            | -                       | 6,46                                            | 61,88                     |

\*[M. Wang, R. Cao, L. Zhang, X. Yang, J. Liu, M. Xu, Z. Shi, Z. Hu, W. Zhong, G. Xiao / Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro // Cell Res. - 2020; 30; () 269-271. <https://doi.org/10.1038/s41422-020-0282-0>; Carmen Gil, Tiziana Ginex, Inés Maestro, Vanesa Nozal, Lucia Barrado-Gil, Miguel Ángel Cuesta-Gejjo, Jesús Urquiza, David Ramirez, Covadonga Alonso, Nuria E Campillo, Ana Martinez// J Med Chem. -2020. 63(21); 12359-12386, doi: 10.1021/acs.jmedchem.0c00606]

Из приведенной таблицы видно, что все соединения, существенно превосходят Фавипиравир по эффективности подавления репликации коронавируса SARS-CoV-2 при сравнимых значениях индекса селективности.

Все указанные соединения общей формулы I сохраняют стабильность в течение длительного времени (1 года) на воздухе при комнатной температуре. Анализ стабильности осуществляли на основе данных хроматографических и спектральных методов анализа.

#### ПРИМЕР 6

Для получения лекарственного средства в форме таблеток смешивают 1600 мг крахмала, 1600 мг измельченной лактозы, 400 мг талька и 1000 мг соединения Id, спрессовывают в брусок. Полученный брусок измельчают в гранулы и просеивают через сита, собирая гранулы размером 14-16 меш. Полученные гранулы таблетуют в подходящую форму таблетки весом 560 мг.

#### ПРИМЕР 7

Для получения лекарственного средства в форме капсул тщательно смешивают соединение Id с порошком лактозы в соотношении 2:1. Полученную порошкообразную смесь упаковывают по 250 мг в желатиновые капсулы подходящего размера.

#### ПРИМЕР 8

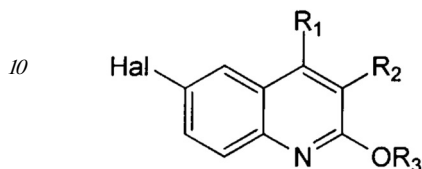
Получение лекарственного средства в форме инъекционных композиций для

внутримышечного, внутривенного или подкожного введения.

Смешивают 500 мг соединения Id с 300 мг хлорбутанола, 2 мл пропиленгликоля и 100 мл вода для инъекций. Полученный раствор фильтруют и помещают по 1 мл в ампулы и запаивают.

(57) Формула изобретения

1. Применение кислородсодержащего производного 6-галогенхинолина общей формулы I для подавления репликации бета-коронавируса:



I

15 где Hal представляет собой заместитель, выбранный из брома, фтора, хлора;

R1 - заместитель, выбранный из водорода, алкила (C1-C10), нормального или разветвленного строения, арила без заместителей или замещенного по положениям 2, 3, 4, 5, 6;

20 R2 - заместитель, выбранный из водорода, NАлкил-, NАрил-, NHгетарил-, пирролидинил-, пиперидинил-, морфолинил-, пиперазинил-, гомопиперазинил-, тетрагидрохинолинил-, тетрагидроизохинолинил-, гексаметилениминил-; -SC(S)X, где X=NАлкил-, NАрил-, NH-гетарил-, пирролидинил-, пиперидинил-, морфолинил-, пиперазинил-, гомопиперазинил-, тетрагидрохинолинил-, тетрагидроизохинолинил-, гексаметилениминил-;

25 R3 - заместитель, выбранный из водорода, алкила (C1-C10), нормального или разветвленного строения, алкиларила, арила без заместителей или замещенного по положениям 2, 3, 4, 5, 6.

2. Применение по п. 1, характеризующееся тем, что R1 представляет собой фенил, R2 представляет собой заместитель, выбранный из пиперидин-1-карбодитиоата, 2-метилпиперидин-1-карбодитиоата, 4-метилпиперидин-1-карбодитиоата, морфолинила; R3 представляет собой заместитель, выбранный из водорода, 2-хлорбензоила.

3. Применение по п. 1, характеризующееся тем, что соединение общей формулы I используют для подавления репликации SARS-CoV-2.

35 4. Применение по п. 1, характеризующееся тем, что соединение общей формулы I используют для лечения заболеваний, вызванных бета-коронавирусами.

5. Применение по п. 1, характеризующееся тем, что соединение общей формулы I используют в комплексной терапии заболеваний, вызванных бета-коронавирусами.