

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 043804

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.06.26

(21) Номер заявки
202190077

(22) Дата подачи заявки
2019.07.12

(51) Int. Cl. C07D 401/12 (2006.01)
C07D 401/14 (2006.01)
C07D 413/14 (2006.01)
C07D 417/14 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)

(54) ИНГИБИТОРЫ ГИСТОНДЕАЦЕТИЛАЗЫ

(31) 62/697,498

(32) 2018.07.13

(33) US

(43) 2021.08.30

(86) PCT/US2019/041592

(87) WO 2020/014605 2020.01.16

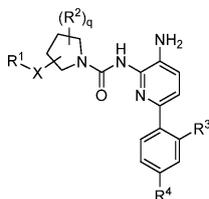
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
АЛКЕРМЕС, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Фуллер Нейтан Оливер, Лове Джон А.
III (US)

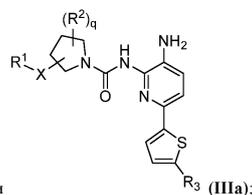
(74) Представитель:
Костюшенкова М.Ю., Угрюмов В.М.,
Гизатуллин Ш.Ф., Гизатуллина Е.М.,
Джермакян Р.В., Пармонова К.В.,
Лебедев В.В., Христофоров А.А. (RU)

(56) WO-A1-2017007756
US-A1-2016347761

(57) Представлены соединения формулы III или IIIa



(III); или



и их фармацевтически приемлемые соли и композиции, которые применимы для лечения различных состояний, связанных с гистондеацетилазами (HDAC).

B1

043804

043804

B1

Родственные заявки

Настоящая заявка испрашивает приоритет на основании предварительной заявки на патент США № 62/697498, поданной 13 июля 2018 г., полное содержание которой включено в настоящую заявку посредством ссылки.

Уровень техники

Ингибиторы гистондеацетилазы (HDAC), как было показано, модулируют транскрипцию и вызывают остановку роста, дифференцировку и апоптоз клеток. Ингибиторы HDAC также усиливают цитотоксические эффекты терапевтических агентов, используемых при лечении рака, включая лучевые и химиотерапевтические препараты. Marks, P., Rifkind, R.A., Richon, V.M., Breslow, R., Miller, T., Kelly, W.K., Histone deacetylases and cancer: causes and therapies, *Nat. Rev. Cancer*, 1, 194-202, (2001); и Marks, P.A., Richon, V.M., Miller, T., Kelly, W.K., Histone deacetylase inhibitors, *Adv. Cancer Res.*, 91, 137-168, (2004). Более того, недавние данные показывают, что нарушение регуляции транскрипции может способствовать молекулярному патогенезу некоторых нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Хантингтона, спинальная мышечная атрофия, боковой амиотрофический склероз и ишемия. Langley, B., Gensert, J.M., Beal, M.F., Ratan, R.R., Remodeling chromatin and stress resistance in the central nervous system: histone deacetylase inhibitors as novel and broadly effective neuroprotective agents, *Curr. Drug Targets CNS Neurol. Disord.*, 4, 41-50, (2005). В недавнем обзоре обобщены доказательства того, что aberrantная активность гистонацетилтрансферазы (HAT) и гистондеацетилаз (HDAC) может представлять собой общий основной механизм, способствующий нейродегенерации. Более того, используя модель депрессии на мышцах, Nestler недавно подчеркнул терапевтический потенциал ингибиторов деацетилирования гистонов (HDAC5) при депрессии. Tsankova, N.M., Berton, O., Renthal, W., Kumar, A., Neve, R.L., Nestler, E.J., Sustained hippocampal chromatin regulation in a mouse model of depression and antidepressant action, *Nat. Neurosci.*, 9, 519-525 (2006).

Существует 18 известных человеческих гистондеацетилаз, сгруппированных в четыре класса на основе структуры их дополнительных доменов. I класс включает HDAC1, HDAC2, HDAC3 и HDAC8 и имеет гомологию с дрожжами RPD3. HDAC4, HDAC5, HDAC7 и HDAC9 относятся к классу IIa и имеют гомологию с дрожжами. HDAC6 и HDAC 10 содержат два каталитических сайта и относятся к классу IIb. Класс III (сиртуины) включает SIRT1, SIRT2, SIRT3, SIRT4, SIRT5, SIRT6 и SIRT7. HDAC11 является еще одним недавно идентифицированным членом семейства HDAC и имеет консервативные остатки в каталитическом центре, которые являются общими для деацетилаз класса I и класса II, и иногда их относят к классу IV.

Напротив, было показано, что HDAC являются мощными отрицательными регуляторами процессов долговременной памяти. Неспецифические ингибиторы HDAC улучшают синаптическую пластичность, а также долговременную память (Levenson et al., 2004, *J. Biol. Chem.*, 279:40545-40559; Lattal et al., *Behav. Neurosci.*, 121:1125-1131; Vecsey et al., 2007, *J. Neurosci.*, 27:6128; Bredy, 2008, *Learn. Mem.*, 15:460-467; Guan et al., 2009, *Nature*, 459:55-60; Malvaez et al., 2010, *Biol. Psychiatry*, 67:36-43; Rooszendaal et al., 2010, *J. Neurosci.*, 30:5037-5046). Например, ингибирование HDAC может преобразовать обучающее событие, которое не приводит к долговременной памяти, в обучающее событие, которое действительно приводит к значительной долговременной памяти (Stefanko et al., 2009, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 106:9447-9452). Кроме того, ингибирование HDAC может также генерировать форму долговременной памяти, которая сохраняется после того момента, когда нормальная память не работает. Было показано, что ингибиторы HDAC улучшают когнитивный дефицит в генетических моделях болезни Альцгеймера (Fischer et al., 2007, *Nature*, 447:178-182; Kilgore et al., 2010, *Neuropsychopharmacology*, 35:870-880). Эти данные предполагают, что модуляция памяти посредством ингибирования HDAC имеет значительный терапевтический потенциал при многих нарушениях памяти и когнитивных функций.

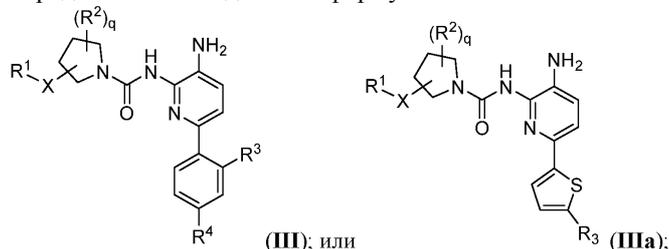
В настоящее время роль отдельных HDAC в долговременной памяти изучалась в двух недавних исследованиях. В Kilgore et al., 2010, *Neuropsychopharmacology*, 35:870-880 было показано, что неспецифические ингибиторы HDAC, такие как бутират натрия, ингибируют HDAC класса I (HDAC1, HDAC2, HDAC3, HDAC8) и при этом незначительное влияние оказывают на членов семейства HDAC класса IIa (HDAC4, HDAC5, HDAC7, HDAC9). Это говорит о том, что ингибирование HDAC класса I может иметь решающее значение для улучшения когнитивных функций, наблюдаемого во многих исследованиях. Действительно, сверхэкспрессия HDAC2, специфическая для переднего мозга и нейронов, но не HDAC1, снижает плотность дендритных шипов, синаптическую плотность, синаптическую пластичность и формирование памяти (Guan et al., 2009, *Nature*, 459:55-60). Напротив, мыши с нокаутом HDAC2 проявляли повышенную синаптическую плотность, повышенную синаптическую пластичность и повышенную плотность дендритов в нейронах. Такие мыши с дефицитом HDAC2 также продемонстрировали улучшенное обучение и память в арсенале обучающих поведенческих парадигм. Данное исследование демонстрирует, что HDAC2 является ключевым регулятором синаптогенеза и синаптической пластичности. Кроме того, Guan et al. показали, что продолжительное лечение мышей с применением SAHA (ингибитор HDAC 1, 2, 3, 6, 8) воспроизводило эффекты, наблюдаемые у мышей с дефицитом HDAC2, и устраняло когнитивные нарушения у мышей со сверхэкспрессией HDAC2.

Ингибирование HDAC2 (селективное или в комбинации с ингибированием других HDAC класса I)

является привлекательной терапевтической мишенью. Такое ингибирование имеет потенциал для улучшения познавательной способности и облегчения процесса обучения за счет увеличения синаптической и дендритной плотности в популяциях нейрональных клеток. Кроме того, ингибирование HDAC2 также может быть терапевтически полезным при лечении широкого спектра других заболеваний и расстройств.

Раскрытие сущности изобретения

В настоящей заявке представлены соединения формулы III или IIIa



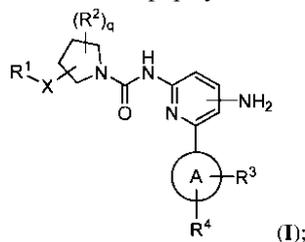
и их фармацевтически приемлемые соли и композиции, при этом X, R¹, R², R³, R⁴, и q являются такими, как описано в настоящей заявке.

Раскрыто также применение вышеуказанного соединения для ингибирования активности гистондеацетилазы (HDAC) у субъекта, а также для лечения состояния у субъекта, выбранного из неврологического расстройства, расстройства или нарушения когнитивной функции, грибковой инфекции, воспалительного заболевания, психических расстройств и неопластических заболеваний.

Подробное описание изобретения

1. Общее описание соединений.

В настоящей заявке представлено соединение формулы I



или его фармацевтически приемлемая соль,

где кольцо A представляет собой фенил или тиофенил;

X представляет собой (CR^aR^b)_t, O или NR⁵;

q и t каждый независимо представляет собой 0, 1, 2 или 3;

R¹ представляет собой фенил или гетероарил, каждый из которых необязательно замещен от 1 до 3 групп, выбранных из R^c;

R² представляет собой галоген, (C₁-C₄)алкил, (C₁-C₄)алкокси или OH;

R³ представляет собой водород или галоген;

R⁴ представляет собой галоген, если кольцо A является фенилом, и R⁴ представляет собой водород, если кольцо A является тиофенилом;

R⁵ представляет собой водород, (C₁-C₄)алкил или (C₁-C₄)алкилO(C₁-C₄)алкил;

R^a и R^b каждый независимо представляет собой водород, (C₁-C₄)алкил, галоген(C₁-C₄)алкил, (C₁-C₄)алкокси или галоген; и

R^c представляет собой галоген, (C₁-C₄)алкил, галоген(C₁-C₄)алкил, (C₁-C₄)алкокси, галоген(C₁-C₄)алкокси, (C₁-C₄)алкилO(C₁-C₄)алкил, (C₁-C₄)алкилNH(C₁-C₄)алкил, (C₁-C₄)алкилN((C₁-C₄)алкил)₂, -(C₁-C₄)алкилгетероарил или -(C₁-C₄)алкилгетероцикл, при этом указанные гетероарил и гетероцикл, каждый необязательно и независимо, замещены от 1 до 3 групп, выбранных из (C₁-C₄)алкила, галоген(C₁-C₄)алкила, (C₁-C₄)алкокси и галогена.

Раскрытые соединения и композиции модулируют гистоновые деацетилазы (HDAC) (см., например, табл. 2 и 3) и подходят для различных терапевтических применений, таких как, например, при лечении неврологических расстройств, расстройств или нарушений памяти или когнитивной функции, расстройства прекращения обучения (disorder of learning extinction), грибковых заболеваний или инфекций, воспалительных заболеваний, гематологических заболеваний, неопластических заболеваний, психических расстройств и потери памяти. Некоторые соединения, описанные в настоящей заявке, обладают повышенной ингибирующей активностью при анализе клеточного лизата по сравнению с непосредственными соединениями сравнения. Например, было обнаружено, что введение ароматических заместителей в положении 3 пирролидина (например, фенильные и гетероарильные переменные для R¹) привело к значительному увеличению эффективности в анализе клеточного лизата HDAC2 SH-SY5Y по сравнению с аналогами, имеющими неароматическое замещение в положении 3 пирролидина. См., например, табл. 4, где соединения 19 и 20, каждое из которых имеет ароматический пиримидинил в R¹, обладают большей

эффективностью, чем нециклические, неароматические соединения сравнения А-С.

2. Определения.

При использовании в связи с описанием химической группы, которая может иметь несколько мест присоединения, дефис (-) обозначает место присоединения этой группы к переменной, для которой она определена. Например, $-(C_1-C_4)$ алкилгетероарил и $-(C_1-C_4)$ алкилгетероцикл означает, что место присоединения находится на остатке (C_1-C_4) алкил.

Термины "гало" и "галоген" относятся к атому, выбранному из фтора (фторо, -F), хлора (хлоро, -Cl), брома (бромо, -Br) и йода (йодо, -I).

Термин "алкил" при использовании по отдельности или как части большего фрагмента, такого как "галогеналкил", означает насыщенный неразветвленный или разветвленный моновалентный углеводородный радикал. Если не указано иное, то алкильная группа обычно содержит 1-6 атомов углерода, т.е. (C_1-C_6) алкил.

Термин "галогеналкил" включает моно-, поли- и пергалогеналкильные группы, где галогены независимо выбраны из фтора, хлора, брома и йода.

Термин "алкокси" означает алкильный радикал, присоединенный через связывающий атом кислорода, представленный -О-алкилом. Например, (C_1-C_4) алкокси включает метокси, этокси, пропокси и бутокси.

Термин "галогеналкокси" представляет собой галогеналкильную группу, присоединенную к другому фрагменту посредством атома кислорода, например, без ограничения -OCHF₂ или -OCF₃.

Термин "гетероарил" относится к 5-12-членному (например, 5- или 6-членному) ароматическому радикалу, содержащему 1-4 гетероатома, выбранных из N, O и S. Гетероарильная группа может быть моно- или бициклической. Моноциклический гетероарил включает, например, тиенил, фуранил, пирролил, имидазолил, пиразолил, триазолил, тетразолил, оксазолил, изоксазолил, оксадиазолил, тиазолил, изотиазолил, тиадиазолил, пиридил, пиридазинил, пиримидинил, пиазинил и т.д. Бициклические гетероарилы включают группы, в которых моноциклическое гетероарильное кольцо конденсировано с одним или несколькими арильными или гетероарильными кольцами. Неограничивающие примеры включают индолил, имидазопиридинил, бензооксазолил, бензооксодиазолил, индазолил, бензимидазолил, бензтиазолил, хинолил, хиназолинил, хиноксалинил, пирролопиридинил, пирролопиримидинил, пиразолопиридинил, тиенопиридинил, тиенопиримидинил, индолизинил, пуринил, нафтиридинил и птеридинил. Следует понимать, что при их указании необязательные заместители в гетероарильной группе могут присутствовать в любом замещаемом положении и включать, например, положение, в котором гетероарил присоединен.

Термин "гетероцикл" означает 4-12-членное (например, 4-6-членное) насыщенное или частично ненасыщенное гетероциклическое кольцо, содержащее от 1 до 4 гетероатомов, независимо выбранных из N, O и S. Гетероциклическое кольцо может быть моноциклическим, бициклическим (например, мостиковое, конденсированное или спиробициклическое кольцо) или трициклическим. Гетероциклическое кольцо может быть присоединено к своей боковой группе у любого гетероатома или атома углерода, что приводит к стабильной структуре. Примеры таких насыщенных или частично ненасыщенных гетероциклических радикалов включают без ограничения тетрагидрофуранил, тетрагидротииенил, тетрагидропиранил, пирролидинил, пиридионил, пирролидонил, пиперидинил, оксазолидинил, пиперазинил, диоксанил, диоксоланил, морфолинил, дигидрофуранил, дигидропиранил, дигидропиридинил, тетрагидропиридинил, дигидропиримидинил, оксетанил, азетидинил и тетрагидропиримидинил. Термин "гетероцикл" также включает, например, ненасыщенные гетероциклические радикалы, конденсированные с другим ненасыщенным гетероциклическим радикалом или арильным, или гетероарильным кольцом, такие как, например, тетрагидронафтиридин, индолинон, дигидропирролотриазол, имидазопиримидин, хинолинон, диоксаспиро-декан. Также следует понимать, что при их наличии, необязательные заместители в гетероциклической группе могут присутствовать в любом замещаемом положении и включать, например, положение, в котором гетероцикл присоединен (например, в случае с необязательно замещенным гетероциклом или гетероциклом, который необязательно замещен).

Термин "конденсированный" относится к двум кольцам, которые имеют два соседних кольцевых атома друг с другом.

Термин "спиро" относится к двум кольцам, которые имеют общий атом кольца (например, углерод).

Термин "мостиковый" относится к двум кольцам, которые разделяют три кольцевых атома друг с другом.

Энантиомеры представляют собой один из типов стереоизомеров, которые могут возникать из хирального центра или хиральных центров. Энантиомеры представляют собой пары стереоизомеров, зеркальные изображения которых не могут накладываться друг на друга, чаще всего потому, что они содержат асимметрично замещенный атом углерода или атом углерода, который действует как хиральный центр (центры). "R" и "S" представляют собой абсолютную конфигурацию заместителей вокруг одного или нескольких хиральных атомов углерода, где каждому хиральному центру присваивается префикс "R" или "S" в зависимости от того, является ли конфигурация хирального центра правосторонней (вращение по часовой стрелке) или левосторонней (вращение против часовой стрелки). Если поворот направлен по

часовой стрелке или вправо относительно хирального углерода, префикс "R" означает направление вправо. Если поворот направлен против часовой стрелки или влево относительно хирального углерода, префикс "S" означает направление влево.

Если один энантиомер назван или изображен по структуре, изображенный или названный энантиомер является оптически чистым по меньшей мере на 60, 70, 80, 90, 99 или 99,9% по массе. Процент оптической чистоты по массе представляет собой отношение массы энантиомера к массе энантиомера плюс масса его оптического изомера.

Если соединение изображено структурно без указания стереохимии в хиральном центре, структура включает либо конфигурацию в хиральном центре, либо, альтернативно, любую смесь конфигураций в стереоизомерах хирального центра.

Термин "рацемат" или "рацемическая смесь" означает соединение эквимольных количеств двух энантиомеров, где такие смеси не проявляют оптической активности, т.е. они не вращают плоскость поляризованного света.

В контексте данного документа, термины "субъект" и "пациент" могут использоваться как синонимы и означают млекопитающее, нуждающееся в лечении, например, домашние животные (например, собаки, кошки и т.п.), сельскохозяйственные животные (например, коровы, свиньи, лошади, овцы, козы и т.п.) и лабораторные животные (например, крысы, мыши, морские свинки и т.п.). Обычно субъектом является человек, нуждающийся в лечении.

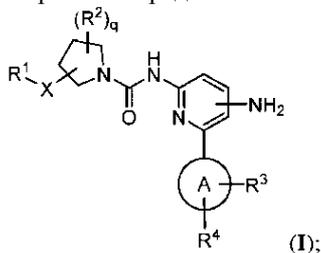
В настоящую заявку включены фармацевтически приемлемые соли, а также нейтральные формы описанных в настоящей заявке соединений. Для использования в лекарственных препаратах соли соединений относятся к нетоксичным "фармацевтически приемлемым солям". Фармацевтически приемлемые солевые формы включают фармацевтически приемлемые кислотные/анионные или основные/катионные соли. Фармацевтически приемлемые основные/катионные соли включают соли натрия, калия, кальция, магния, диэтанолamina, n-метил-О-глюкамина, L-лизина, L-аргинина, аммония, этаноламина, пиперазина и триэтанолamina. Фармацевтически приемлемые кислотные/анионные соли включают, например, ацетат, бензолсульфонат, бензоат, бикарбонат, битартрат, карбонат, цитрат, дигидрохлорид, глюконат, глутамат, гликолиларсанилат, гексилрезорцинат, гидробромид, гидрохлорид, малат, малеилат, малонат, нитрат, стеарат, сукцинат, сульфат, тартрат и тозилат.

Термин "фармацевтически приемлемый носитель" относится к нетоксичному носителю, адьюванту или основе, которая не нарушает фармакологическую активность соединения, с которым он составлен в композицию. Фармацевтически приемлемые носители, адьюванты или основы, которые можно использовать в описанных в композициях в настоящей заявке, включают без ограничения ионообменники, оксид алюминия, стеарат алюминия, лецитин, сывороточные белки, такие как сывороточный альбумин человека, буферные вещества, такие как фосфаты, глицин, сорбиновая кислота, сорбат калия, смеси неполных глицеридов насыщенных растительных жирных кислот, воду, соли или электролиты, такие как протаминсульфат, кислый динатрий фосфат, кислый фосфат калия, хлорид натрия, соли цинка, коллоидный диоксид кремния, трисиликат магния, поливинилпирролидон, вещества на основе целлюлозы, полиэтиленгликоль, карбоксиметилцеллюлозу натрия, полиакрилаты, воски, блок-полимеры полиэтиленполиоксипропилен, полиэтиленгликоль и ланолин.

Термины "лечение" и "лечить" относятся к обратному развитию, облегчению, снижению вероятности развития или подавлению прогрессирования заболевания или расстройства, или одного, или нескольких их симптомов, как описано в настоящей заявке. В некоторых вариантах воплощения изобретения лечение можно проводить после развития одного или нескольких симптомов, т.е. терапевтическое лечение. В других вариантах воплощения изобретения лечение можно проводить при отсутствии симптомов. Например, лечение может быть назначено восприимчивому индивиду до появления симптомов (например, в свете симптомов в анамнезе и/или в свете генетических или других факторов восприимчивости), т.е. профилактическое лечение. Лечение также можно продолжить после исчезновения симптомов, например, для предотвращения или отсрочки их повторения. Термин "эффективное количество" или "терапевтически эффективное количество" включает количество соединения, описанное в настоящей заявке, которое будет вызывать биологический или медицинский ответ субъекта, например, от 0,01 до 100 мг/кг массы тела/день предоставленного соединения, например, 0,1-100 мг/кг массы тела/день.

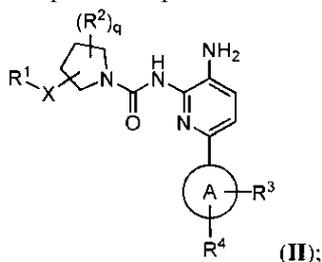
3. Описание иллюстративных соединений.

В первом варианте воплощения изобретения представлено соединение формулы I



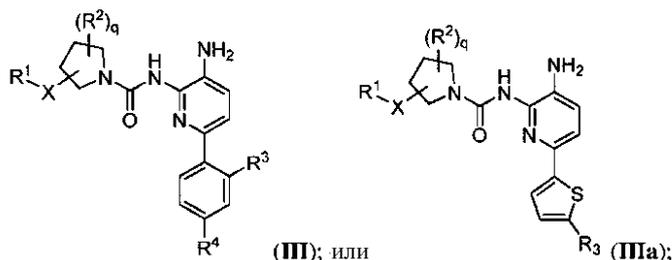
или его фармацевтически приемлемая соль, при этом переменные являются такими, как описано выше для формулы I.

Во втором варианте воплощения изобретения представлено соединение формулы II



или его фармацевтически приемлемая соль, при этом переменные являются такими, как описано выше для формулы I.

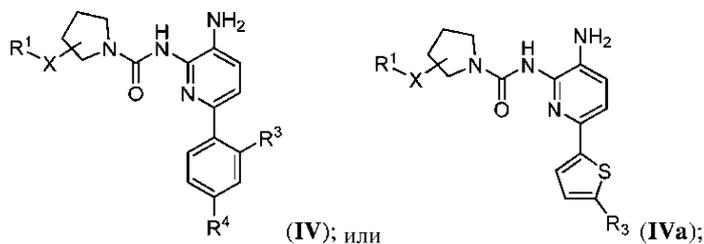
В третьем варианте воплощения изобретения, представлено соединение формулы III или IIIa



или его фармацевтически приемлемая соль, при этом переменные являются такими, как описано выше для формулы I.

В четвертом варианте воплощения изобретения q в любой из формул I, II, III, или IIIa равен 0 или 1; а R² представляет собой галоген, если q равен 1, где остальные переменные такие, как описано выше для формулы I.

В пятом варианте воплощения изобретения соединение формулы I является соединением формулы IV или IVa:



или его фармацевтически приемлемой солью, при этом переменные являются такими, как описано выше для формулы I.

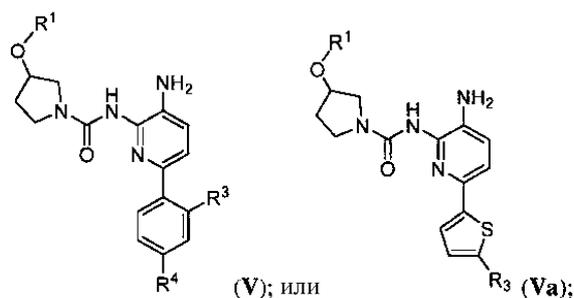
В шестом варианте воплощения изобретения R³ в любой из формул I, II, III, IIIa, IV или IVa представляет собой галоген, при этом остальные переменные такие, как описано выше для формулы I или для четвертого варианта воплощения изобретения. В качестве альтернативы R³ в любой из формул I, II, III, IIIa, IV или IVa представляет собой фтор, при этом остальные переменные такие, как описано выше для формулы I или для четвертого варианта воплощения изобретения. В качестве еще одной альтернативы R³ в любой из формул I, II, III, IIIa, IV или IVa представляет собой водород, при этом остальные переменные такие, как описано выше для формулы I или для четвертого варианта воплощения изобретения.

В седьмом варианте воплощения изобретения R⁴ в любой из формул I, II, III, IIIa, IV или IVa представляет собой фтор, при этом остальные переменные такие, как описано выше для формулы I или для четвертого, или шестого варианта воплощения изобретения.

В восьмом варианте воплощения изобретения X в любой из формул I, II, III, IIIa, IV или IVa представляет собой (CR^aR^b)_n, при этом остальные переменные такие, как описано выше для формулы I или для четвертого, шестого, или седьмого варианта воплощения изобретения.

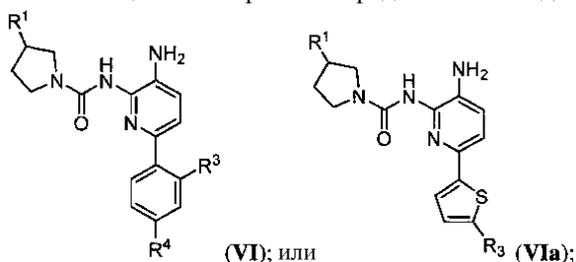
В девятом варианте воплощения изобретения и R^a, и R^b в любой из формул I, II, III, IIIa, IV или IVa представляет собой водород, при этом остальные переменные такие, как описано выше для формулы I или для четвертого, шестого, седьмого, или восьмого варианта воплощения изобретения.

В десятом варианте воплощения изобретения представлено соединение формулы V или Va



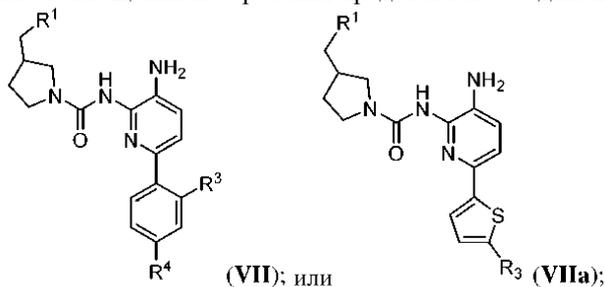
или его фармацевтически приемлемая соль, при этом переменные являются такими, как описано выше для формулы I, или для четвертого, шестого, или седьмого варианта воплощения изобретения.

В одиннадцатом варианте воплощения изобретения представлено соединение формулы VI или VIa



или его фармацевтически приемлемая соль, при этом переменные являются такими, как описано выше для формулы I или для четвертого, шестого, седьмого, или восьмого варианта воплощения изобретения.

В двенадцатом варианте воплощения изобретения представлено соединение формулы VII или VIIa



или его фармацевтически приемлемая соль, при этом остальные переменные являются такими, как описано выше для формулы I или для четвертого, шестого, седьмого, восьмого, или девятого варианта воплощения изобретения.

В тринадцатом варианте воплощения изобретения R^1 в любой из формул I, II, III, IIIa, IV, IVa, V, Va, VI, VIa, VII или VIIa представляет собой фенил или 5-6-членный моноциклический гетероарил, каждый из которых необязательно замещен одной или более группами, выбранными из R^c , при этом остальные переменные такие же, как описано выше для формулы I или четвертого, шестого, седьмого, восьмого, или девятого варианта воплощения изобретения. В качестве альтернативы R^1 в любой из формул I, II, III, IIIa, IV, IVa, V, Va, VI, VIa, VII или VIIa представляет собой фенил, пиридинил, пирозинил, пиридазинил или пиримидинил, каждый из которых необязательно замещен 1-2 группами, выбранными из R^c , при этом остальные переменные такие, как описано выше для формулы I или четвертого, шестого, седьмого, восьмого, или девятого вариантов воплощения изобретения. В качестве еще одной альтернативы R^1 в любой из формул I, II, III, IIIa, IV, IVa, V, Va, VI, VIa, VII или VIIa представляет собой тиазолил, триазазоллил, имидазоллил, пиразоллил или оксазоллил, каждый из которых необязательно замещен 1-2 группами, выбранными из R^c , при этом остальные переменные такие, как описано выше для формулы I или четвертого, шестого, седьмого, восьмого, или девятого вариантов воплощения изобретения.

В четырнадцатом варианте воплощения изобретения R^c в любой из формул I, II, III, IIIa, IV, IVa, V, Va, VI, VIa, VII или VIIa представляет собой галоген, (C_1-C_4) алкил или (C_1-C_4) алкилО (C_1-C_4) алкил, при этом остальные переменные такие, как описано выше для формулы I или для четвертого, шестого, седьмого, восьмого, девятого, или тринадцатого вариантов воплощения изобретения. В качестве альтернативы R^c в любой из формул I, II, III, IIIa, IV, IVa, V, Va, VI, VIa, VII или VIIa представляет собой фтор, метил или CH_2OCH_3 , при этом остальные переменные такие, как описано выше для формулы I или для четвертого, шестого, седьмого, восьмого, девятого, или тринадцатого вариантов воплощения изобретения. В качестве еще одной альтернативы R^c в любой из формул I, II, III, IIIa, IV, IVa, V, Va, VI, VIa, VII или VIIa представляет собой галоген, галоген (C_1-C_4) алкил или (C_1-C_4) алкил, при этом остальные переменные такие, как описано выше для формулы I или для четвертого, шестого, седьмого, восьмого, девятого, или тринадцатого вариантов воплощения изобретения. В качестве еще одной альтернативы R^c в любой из

формул I, II, III, IIIa, IV, IVa, V, Va, VI, VIa, VII или VIIa представляет собой фтор, метил или CHF_2 , при этом остальные переменные такие, как описано выше для формулы I или четвертого, шестого, седьмого, восьмого, девятого, или тринадцатого вариантов воплощения изобретения.

В пятнадцатом варианте воплощения изобретения представлено соединение, описанное ниже в разделе "Примеры". В настоящую заявку включены фармацевтически приемлемые соли и свободные формы приведенных в качестве примеров соединений.

4. Применение, композиции и введение.

В некоторых вариантах воплощения изобретения соединения и композиции, описанные в настоящей заявке, применимы для лечения состояний, связанных с активностью HDAC. К таким состояниям относятся, например, описанные ниже состояния.

В недавних отчетах подробно описывается важность ацетилирования гистонов в функциях центральной нервной системы (ЦНС), таких как нейрональная дифференциация, формирование памяти, наркотическая зависимость и депрессия. (Citrome, *Psychopharmacol. Bull.*, 2003, 37, Suppl. 2, 74-88; Johannesen, *CNS Drug Rev.*, 2003, 9, 199-216; Tsankova et al., 2006, *Nat. Neurosci.*, 9, 519- 525). Таким образом, в одном аспекте предлагаемые соединения и композиции могут быть применимы при лечении неврологического расстройства. Примеры неврологических расстройств включают

(i) хронические нейродегенеративные заболевания, такие как семейный и спорадический боковой амиотрофический склероз (FALS и ALS соответственно), семейная и спорадическая болезнь Паркинсона, болезнь Хантингтона, семейная и спорадическая болезнь Альцгеймера, рассеянный склероз, мышечная дистрофия, оливопонтocerebellарная атрофия, множественная системная атрофия, болезнь Вильсона, прогрессирующий надъядерный паралич, диффузная болезнь с тельцами Леви, лобно-височная долевая дегенерация (FTLD), кортикодентатонигральная дегенерация, прогрессирующая семейная миоклоническая эпилепсия, стрионигральная дегенерация, торсионная дистония, эссенциальный тремор, синдром Дауна, синдром Жиля де ла Туретта, болезнь Халлервордена-Шпатца, диабетическая периферическая нейропатия, пугилистическая деменция, деменция, связанная со СПИДом, возрастная деменция, возрастное нарушение памяти и нейродегенеративные заболевания, связанные с амилоидозом, например, вызванные прионным белком (PrP), который связан с трансмиссивной губчатой энцефалопатией (Болезнь Крейтцфельда-Якоба, синдром Герстмана-Штрауслера-Шейнкера, скрейпи и куру), и болезни, вызванные избыточным накоплением цистатина С (наследственная ангиопатия цистатина С); и

(ii) острые нейродегенеративные расстройства, такие как травматическое повреждение головного мозга (например, повреждение головного мозга, связанное с хирургическим вмешательством), отек мозга, повреждение периферических нервов, повреждение спинного мозга, болезнь Лейга, синдром Гийена-Барре, лизосомные болезни накопления, такие как липофусциноз, болезнь Альпера, синдром беспокойных ног, головокружение в результате дегенерации ЦНС; патологии, возникающие при хроническом злоупотреблении алкоголем или наркотиками, включая, например, дегенерацию нейронов голубого пятна и мозжечка, двигательные расстройства, вызванные лекарственными средствами; патологии, возникающие с возрастом, включая дегенерацию нейронов мозжечка и кортикальных нейронов, ведущую к когнитивным и двигательным нарушениям; и патологии, возникающие при хроническом злоупотреблении амфетамином, в том числе дегенерация нейронов базальных ганглиев, приводящая к двигательным нарушениям; патологические изменения, возникшие в результате очаговой травмы, такой как инсульт, очаговая ишемия, сосудистая недостаточность, гипоксически-ишемическая энцефалопатия, гипергликемия, гипогликемия или прямая травма; патологии, возникающие как негативный побочный эффект терапевтических препаратов и методов лечения (например, дегенерация нейронов поясной и энторинальной коры в ответ на противосудорожные дозы антагонистов глутаматного рецептора класса NMDA) и деменция, связанная с Вернике-Корсакова.

Неврологические нарушения, влияющие на сенсорные нейроны, включают атаксию Фридрейха, диабет, периферическую нейропатию и дегенерацию нейронов сетчатки. Другие неврологические расстройства включают повреждение нервов или травму, связанную с повреждением спинного мозга. Неврологические нарушения лимбической и корковой систем включают церебральный амилоидоз, атрофию Пика и синдром Ретта. В другом аспекте неврологические расстройства включают расстройства настроения, такие как аффективные расстройства и тревожность; расстройства социального поведения, такие как дефекты характера и расстройства личности; расстройства обучения, памяти и интеллекта, такие как умственная отсталость и деменция. Таким образом, в одном аспекте раскрытые соединения и композиции могут быть применимы при лечении шизофрении, делирия, синдрома дефицита внимания (ADD), шизоаффективного расстройства, болезни Альцгеймера, синдрома Рубинштейна-Тейби, депрессии, мании, расстройств дефицита внимания, наркотической зависимости, деменции, возбуждения, апатии, тревожности, психозов, расстройств личности, биполярных расстройств, униполярного аффективного расстройства, обсессивно-компульсивных расстройств, расстройств пищевого поведения, посттравматических стрессовых расстройств, раздражительности, расстройств поведения и расторможенности у подростков.

Транскрипция считается ключевым этапом в процессах долговременной памяти (Alberini, 2009, *Physiol. Rev.*, 89, 121-145). Транскрипция способствует специфические модификации хроматина, такие как ацетилирование гистонов, которые модулируют взаимодействие гистонов с ДНК (Kouzarides, 2007,

Cell, 128:693-705). Модифицирующие ферменты, такие как гистонацетилтрансферазы (НАТ) и гистоновые деацетилазы (HDAC), регулируют состояние ацетилирования гистоновых хвостов. В общем, ацетилирование гистонов способствует экспрессии генов, тогда как деацетилирование гистонов приводит к подавлению генов. Многочисленные исследования показали, что активная НАТ, цАМФ-ответный элемент активирующего белка CREB-связывающий белок (СВР), необходима для долговременных форм синаптической пластичности и долговременной памяти (в целях ознакомления см. Barrett, 2008, Learn Mem, 15:460-467). Таким образом, в одном аспекте предлагаемые соединения и композиции могут быть применимы для стимулирования когнитивной функции и улучшения обучения и формирования памяти.

Описанные в настоящей заявке соединения и композиции также могут быть применимы для лечения грибковых заболеваний или инфекций.

В другом аспекте соединения и композиции, описанные в настоящей заявке, могут быть применимы для лечения воспалительных заболеваний, таких как инсульт, ревматоидный артрит, красная волчанка, язвенный колит и травматическое повреждение головного мозга (Leoni et al., PNAS, 99(5), 2995-3000 (2002); Suuronen et al., J. Neurochem., 87, 407-416 (2003), Drug Discovery Today, 10:197-204 (2005)).

В еще одном аспекте описанные в настоящей заявке соединения и композиции могут быть использованы для лечения рака, вызванного пролиферацией неопластических клеток. Такие виды рака включают, например, солидные опухоли, новообразования, карциномы, саркомы, лейкозы, лимфомы и т.п. В одном аспекте раковые заболевания, которые можно лечить описанными в настоящей заявке соединениями и композициями, включают, но не ограничиваются приведенным: рак сердца, рак легких, рак желудочно-кишечного тракта, рак мочеполовых путей, рак печени, рак нервной системы, гинекологический рак, гематологический рак, рак кожи и рак надпочечников. В одном аспекте соединения и композиции, описанные в настоящей заявке, применимы для лечения рака сердца, выбранного из саркомы (ангиосаркома, фибросаркома, рабдомиосаркома, липосаркома), миксомы, рабдомиомы, фибромы, липомы и тератомы. В другом аспекте соединения и композиции, описанные в настоящей заявке, применимы для лечения рака легких, выбранного из бронхогенной карциномы (плоскоклеточная, недифференцированная мелкоклеточная, недифференцированная крупноклеточная аденокарцинома), альвеолярной (бронхиолярной) карциномы, бронхиальной аденомы, саркомы, лимфомы, хондроматозной гамартомы и мезотелиомы. В одном аспекте соединения и композиции, описанные в настоящей заявке, применимы для лечения рака желудочно-кишечного тракта, выбранного из рака пищевода (плоскоклеточная карцинома, аденокарцинома, лейомиосаркома, лимфома), желудка (карцинома, лимфома, лейомиосаркома), поджелудочной железы (аденокарцинома протока, глюкома, инсулинома гастринома, карциноидные опухоли, випома), тонкой кишки (аденокарцинома, лимфома, карциноидные опухоли, саркома Капоши, лейомиома, гемангиома, липома, нейрофиброма, фиброма) и толстой кишки (аденокарцинома, тубулярная аденома, ворсинчатая аденома, гамартома, лейомиома). В одном аспекте соединения и композиции, описанные в настоящей заявке, применимы для лечения рака мочеполовых путей, выбранного из рака почек (аденокарцинома, опухоль Вильма [нефробластома], лимфома, лейкемия), мочевого пузыря и уретры (плоскоклеточная карцинома, переходо-клеточная карцинома, аденокарцинома), простаты (аденокарцинома, саркома) и яичек (семинома, тератома, эмбриональная карцинома, тератоканцинома, хориокарцинома, саркома, интерстициально-клеточная карцинома, фиброма, фиброаденома, аденоматоидные опухоли, липома). В одном аспекте соединения и композиции, описанные в настоящей заявке, применимы для лечения рака печени, выбранного из гепатомы (гепатоцеллюлярная карцинома), холангиокарциномы, гепатобластомы, ангиосаркомы, гепатоцеллюлярной аденомы и гемангиомы.

В некоторых вариантах воплощения изобретения соединения, описанные в настоящей заявке, относятся к лечению рака кости, выбранного из остеогенной саркомы (остеосаркомы), фибросаркомы, злокачественной фиброзной гистиоцитомы, хондросаркомы, саркомы Юинга, злокачественной лимфомы (ретикулоклеточная саркома), множественной гигантской миеломы, злокачественной гигантоклеточной опухоли хордомы, остеохондромы (остеохрящевые экзостозы), доброкачественной хондромы, хондробластомы, хондромиксофиброма, остеонид-остеомы и гигантоклеточных опухолей. В одном аспекте соединения и композиции, описанные в настоящей заявке, применимы для лечения рака нервной системы, выбранного из рака черепа (остеома, гемангиома, гранулема, ксантома, деформирующий остит), мозговых оболочек (менингиома, менингиосаркома, глиоматоз), головного мозга (астроцитомы, медуллобластома, глиома, эпендимомы, герминомы [пинеалома], мультиформная глиобластома, олигодендроглиома, шваннома, ретинобластома, врожденные опухоли) и спинного мозга (нейрофиброма, менингиома, глиома, саркома).

В одном аспекте соединения и композиции, описанные в настоящей заявке, могут быть использованы для лечения гинекологического рака, выбранного из рака матки (карцинома эндометрия), шейки матки (карцинома шейки матки, предопухолевая дисплазия шейки матки), яичников (карцинома яичников [серозная цистаденокарцинома, муцинозная цистаденокарцинома, неклассифицированная карцинома], гранулозатоклеточные опухоли, опухоли из клеток Сертоли-Лейдига, дисгерминома, злокачественная тератома), вульвы (плоскоклеточная карцинома, интраэпителиальная карцинома, аденокарцинома, фибросаркома, меланома), ботинноклеточной карциномы, плоскоклеточной карциномы, сквамозной карциномы, ботриоидной саркомы (эмбриональная рабдомиосаркома) и фаллопиевых труб (карцинома).

В одном аспекте соединения и композиции, описанные в настоящей заявке, применимы для лечения рака кожи, выбранного из злокачественной меланомы, базальноклеточной карциномы, плоскоклеточного рака, саркомы Капоши, диспластических родинок-невусов, липом, ангиом, дерматофибром, келоидов и псориаза.

В одном аспекте соединения и композиции, описанные в настоящей заявке, могут быть использованы для лечения рака надпочечников, выбранного из нейробластомы.

В одном аспекте соединения и композиции, описанные в настоящей заявке, могут быть использованы для лечения рака, который включает без ограничения лейкемии, включая острые лейкозы и хронические лейкозы, такие как острый лимфоцитарный лейкоз (ALL), острый миелоидный лейкоз (AML), хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL), хронический миелогенный лейкоз (CMML) и волосатоклеточный лейкоз; лимфомы, такие как кожные Т-клеточные лимфомы (CTCL), некожные периферические Т-клеточные лимфомы, лимфомы, связанные с Т-клеточным лимфотрофным вирусом человека (HTLV), такие как Т-клеточный лейкоз/лимфома взрослых (ATLL), болезнь Ходжкина и неходжкинские лимфомы, крупноклеточные лимфомы, диффузные крупные В-клеточные лимфомы (DLBCL); лимфома Беркитта; мезотелиома, первичная лимфома центральной нервной системы (ЦНС); множественная миелома; детские солидные опухоли, такие как опухоли головного мозга, нейробластома, ретинобластома, опухоль Вильямса, опухоли костей и саркомы мягких тканей, солидные опухоли взрослых на поздней стадии, такие как рак головы и шеи (например, рак полости рта, гортани и пищевода), рак мочеполовых органов (например, рак простаты, мочевого пузыря, почек, матки, яичников, яичек, прямой кишки и толстой кишки), рак легких, рак груди, рак поджелудочной железы, меланома и другие виды рака кожи, рак желудка, опухоли головного мозга, рак печени и рак щитовидной железы.

В одном аспекте в настоящей заявке представлен способ лечения субъекта, страдающего неврологическим расстройством, расстройством или нарушением памяти или когнитивной функции, угасающим расстройством обучения, грибковым заболеванием или инфекцией, воспалительным заболеванием, гематологическим заболеванием, психическими расстройствами и опухолевым заболеванием, включающий введение субъекту эффективного количества соединения, описанного в настоящей заявке, или его фармацевтически приемлемой соли, или композиции, содержащей соединение, описанное в настоящей заявке.

В настоящей заявке представлен также способ лечения субъекта, страдающего

(а) расстройством или нарушением когнитивной функции, связанным с болезнью Альцгеймера, задней кортикальной атрофией, гидроцефалией нормального давления, болезнью Хантингтона, вызванной судорогами потерей памяти, шизофренией, синдромом Рубинштейна-Тейби, синдромом Ретта, депрессией, синдромом ломкой X-хромосомы, деменцией с тельцами Леви, сосудистой деменцией, сосудистыми когнитивными нарушениями (VCI), болезнью Бинсвангера, лобно-височной долевой дегенерацией (FTLD), СДВГ, дислексией, большим депрессивным расстройством, биполярным расстройством, а также социальными, когнитивными расстройствами и расстройствами обучения, связанными с аутизмом, травматическим повреждением головного мозга (ТВИ), хронической травматической энцефалопатией (ХТЭ), рассеянным склерозом (РС), синдромом дефицита внимания, тревожным расстройством, условной реакцией страха, паническим расстройством, обсессивно-компульсивным расстройством, посттравматическим стрессовым расстройством (ПТСР), фобией, социальным тревожным расстройством, восстановлением после лекарственной зависимости, возрастным нарушением памяти (ААМ), возрастным снижением когнитивных функций (ARCD), атаксией, болезнью Паркинсона или деменцией при болезни Паркинсона; или

(б) гематологическим заболеванием, выбранным из острого миелоидного лейкоза, острого промиелоцитарного лейкоза, острого лимфобластного лейкоза, хронического миелогенного лейкоза, миелодиспластических синдромов и серповидно-клеточной анемии; или

(в) неопластическим заболеванием; или

(г) расстройством прекращения обучения (disorder of learning extinction), выбранным из прекращения страха и посттравматического стрессового расстройства; или

(д) потерей слуха или нарушением слуха; или

(е) фиброзными заболеваниями, такими как фиброз легких, фиброз почек, фиброз сердца и склеродермия; или

(ж) болями в костях у пациентов, имеющих рак; или

(з) нейропатической болью,

включающий введение субъекту эффективного количества соединения, описанного в настоящей заявке, или его фармацевтически приемлемой соли, или композиции, содержащей соединение, описанное в настоящей заявке.

Также представлен способ лечения субъекта, страдающего болезнью Альцгеймера, болезнью Хантингтона, лобно-височной деменцией, атаксией Фридрейха, посттравматическим стрессовым расстройством (ПТСР), болезнью Паркинсона или восстановлением после лекарственной зависимости, включающий введение субъекту эффективного количества соединения, описанного в настоящей заявке, или его фармацевтически приемлемой соли, или композиции, содержащей соединение, описанное в настоящей заявке.

Также представлено соединение, описанное в настоящей заявке, или его фармацевтически приемлемая соль, или представлена композиция для лечения одного или более описанных состояний.

Также представлено соединение, описанное в настоящей заявке, или его фармацевтически приемлемая соль, или представлена композиция для получения лекарственного средства для лечения одного или более описанных состояний.

Также могут быть выбраны субъекты, страдающие одним или более из описанных состояний, до лечения описанным в настоящей заявке соединением, или его фармацевтически приемлемой солью, или представленной композицией.

В настоящем раскрытии также представлены фармацевтически приемлемые композиции, содержащие соединение, описанное в настоящей заявке, или его фармацевтически приемлемую соль; и фармацевтически приемлемый носитель. Эти композиции можно использовать для лечения одного или более описанных выше состояний.

Композиции, описанные в настоящей заявке, можно вводить перорально, парентерально, с помощью ингаляционного спрея, местно, ректально, назально, буккально, вагинально или через имплантированный резервуар. Термин "парентеральный" в контексте настоящей заявки включает подкожные, внутривенные, внутримышечные, внутрисуставные, интрасиновиальные, внутригрудные, интратекальные, внутрипеченочные, внутриочаговые и внутричерепные инъекции или способы инфузии. В настоящую заявку включены жидкие лекарственные формы, препараты для инъекций, твердые дисперсионные формы и лекарственные формы для местного или трансдермального введения соединения.

Также следует понимать, что конкретная дозировка и схема лечения для любого конкретного пациента будет зависеть от множества факторов, включая возраст, массу тела, общее состояние здоровья, пол, диету, время приема, скорость выведения, комбинацию лекарственных средств, заключение лечащего врача и тяжесть конкретного заболевания, подлежащего лечению. Количество представленного соединения в композиции также будет зависеть от конкретного соединения в композиции.

Примеры

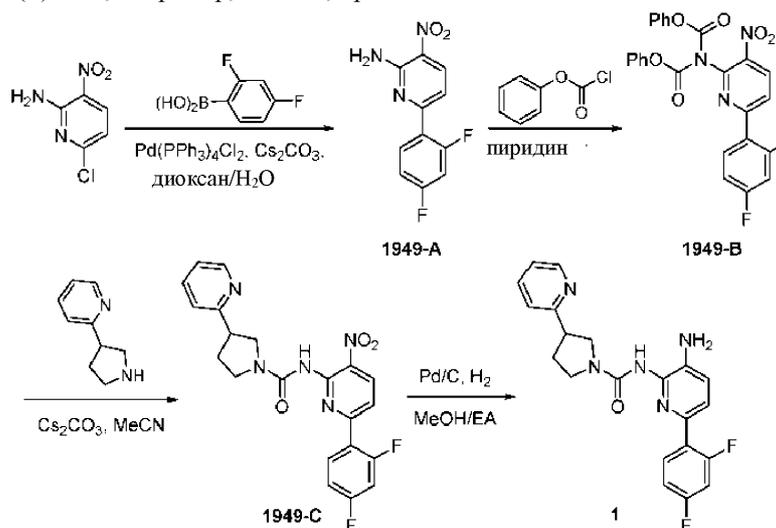
Как показано в приведенных ниже Примерах, в некоторых иллюстративных вариантах воплощения изобретения, соединения получают в соответствии со следующими общими процедурами. Следует понимать, что, хотя общие способы описывают синтез определенных соединений по настоящему изобретению, следующие общие способы и другие способы, известные специалисту в данной области техники, могут применяться ко всем соединениям и подклассам, и видам каждого из данных соединений, как описано в настоящей заявке.

Общая информация.

Пятна визуализировали при помощи УФ-излучения (254 и 365 нм). Очистку с помощью колоночной и флэш-хроматографии проводили с использованием силикагеля (200-300 меш). Системы растворителей указывают как соотношение растворителей.

Спектры ЯМР регистрировали на спектрометре Bruker 400 (400 МГц). Химические сдвиги ^1H представлены δ (дельта) значениями в ppm с тетраметилсиланом (TMS , =0,00 ppm) в качестве внутреннего стандарта. См., например, данные, представленные в табл. 1.

Спектры ЖХ-МС были получены на масс-спектрометре Agilent 1200 серия 6110 или 6120 с режимом ионизации ESI (+). См., например, данные, представленные в табл. 1.



Синтез 1949-A. Смесь 6-хлор-3-нитропиридин-2-амин (4,58 г, 26,4 ммоль), 2,4-дифторфенилбороновой кислоты (5,00 г, 31,7 ммоль) и Cs_2CO_3 (25,73 г, 79,2 ммоль) в диоксан/ H_2O (100 мл/10 мл) обрабатывали $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (1,10 г, 0,95 ммоль) в атмосфере N_2 . Смесь перемешивали при 100°C в течение 2 ч и затем концентрировали в вакууме. Остаток растворяли в EtOAc (200 мл) и полу-

ченный раствор промывали рассолом (100 мл×3). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 и затем концентрировали в вакууме. Остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (ПЭ:EtOAc=7:1~5:1) с получением 1949-А (4,0 г, 61%) в виде желтого твердого вещества. МС 252,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Синтез 1949-В. Раствор 1949-А (4,0 г, 15,94 ммоль) в пиридине (60 мл) охлаждали до 0°C и затем по каплям добавляли фенилкарбонхлоридат (7,50 г, 47,81 ммоль). После завершения добавления смесь нагревали до 50°C и перемешивали при 50°C в течение 4 ч. Затем смесь концентрировали в вакууме и остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (ПЭ:ДХМ=3:2~1:1) с получением 1949-В (7,1 г, 91%) в виде желтого твердого вещества. МС 492,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Синтез 1949-С Смесь 1949-В (140 мг, 0,29 ммоль), 2-пирролидин-3-ил-пиридина (51 мг, 0,34 ммоль) и Cs_2CO_3 (279 мг, 0,86 моль) в ацетонитриле (5 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Затем смесь разбавляли водой (10 мл) и экстрагировали EtOAc (10 мл×3). Объединенные органические слои промывали рассолом (10 мл×3), сушили над безводным Na_2SO_4 и затем концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью Преп-ТСХ (ДХМ:EtOAc=1:1) с получением 1949-С (70 мг, 57%) в виде желтого твердого вещества. МС 426,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Синтез соединения 1. Смесь 1949-С (70 мг, 0,16 ммоль) и Pd/C (70 мг) в MeOH/EtOAc (3 мл/3 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч в атмосфере H_2 . Затем Pd/C удаляли путем фильтрации через целит, фильтрат концентрировали и остаток очищали при помощи Преп-ТСХ (ДХМ:MeOH=20:1) с получением соединения 1 (30 мг, 47%) в виде желтого твердого вещества. МС 396,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Соединения 2-6 синтезировали аналогично с использованием соответственно замещенного аминного варианта реагента, используемого для синтеза соединения 1.

Соединение 2. 40 мг, 54%, белое твердое вещество.

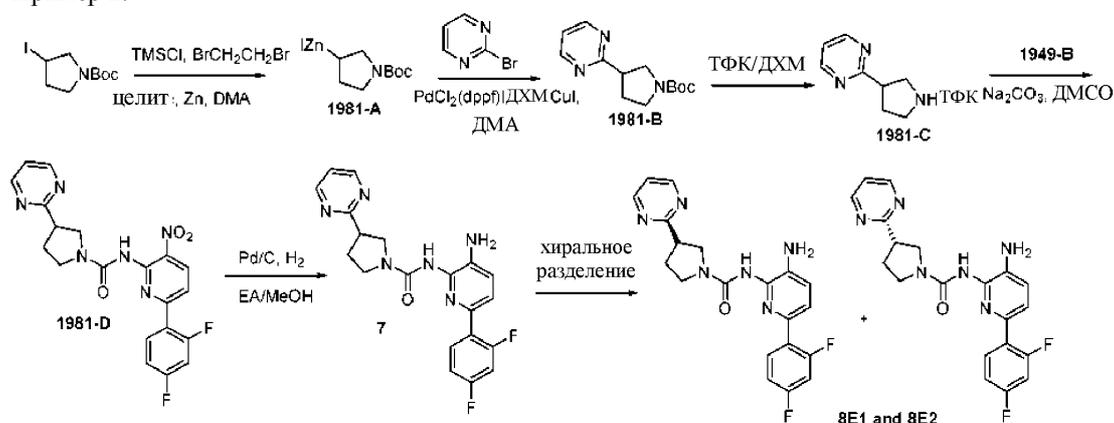
Соединение 3. 48 мг, 52%, белое твердое вещество.

Соединение 4. 70 мг, 69%, белое твердое вещество.

Соединение 5. 109 мг, 97%, белое твердое вещество (получено из коммерчески доступных хиральных билдинг-блоков).

Соединение 6. 95 мг, 73%, серое твердое вещество (получено из коммерчески доступных хиральных билдинг-блоков).

Пример 2.



Синтез 1981-А. Смесь цинковой пыли (840 мг, 12,9 ммоль) и целита (180 мг) в герметичной колбе нагревали в вакууме с помощью тепловой пушки в течение 5 мин. Колбу продували N_2 и охлаждали до комнатной температуры. К смеси добавляли безводный ДМА (5,5 мл), а затем смесь TMSCl и 1,2-дибромэтана (0,3 мл, об./об.=7/5). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 15 мин в атмосфере N_2 , после чего добавляли раствор трет-бутил-3-йодпирролидин-1-карбоксилата (3,10 г, 10,4 ммоль) в ДМА (5,5 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4 ч в атмосфере N_2 , а затем смесь использовали на следующем этапе непосредственно как 1981-А. Концентрация 1981-А составляла приблизительно 0,85 моль/л в ДМА.

Синтез 1981-В. Смесь 2-бромпиридина (1,1 г, 6,92 ммоль), CuI (197 мг, 1,04 ммоль) и $\text{Pd}(\text{dppf})_2\text{Cl}_2$ (452 мг, 0,55 ммоль) в ДМА (10 мл) в атмосфере N_2 обрабатывали 1981-А (10,0 мл). Полученную смесь перемешивали при 85°C в течение 48 ч в атмосфере N_2 , а затем смесь разбавляли водой (50 мл) и экстрагировали EtOAc (20 мл×3). Объединенные органические слои промывали раствором (20 мл×3), сушили над безводным Na_2SO_4 и затем концентрировали в вакууме. Остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле. (ПЭ:EtOAc=10:1~1:1) с получением 1981-В (320 мг, 19%) в виде желтого масла. МС 194,3 $[\text{M}-56+\text{H}]^+$.

Синтез 1981-С. К раствору 1981-В (320 мг, 1,29 ммоль) в ДХМ (6 мл) по каплям добавляли ТФК (2 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч, после чего раствор

концентрировали в вакууме с получением 1981-С в виде неочищенного продукта, который использовали непосредственно на следующем этапе без дополнительной очистки. МС 150,3 [M+H]⁺.

Синтез 1981-D. Смесь 1981-С (1,29 ммоль, неочищенный продукт с последнего этапа) и 1949-B (352 мг, 0,72 ммоль) в ДМСО (10 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин, затем Na₂CO₃ (760 мг, 7,17 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Затем смесь разбавляли водой (30 мл) и экстрагировали EtOAc (20 мл×3). Объединенные органические слои промывали рассолом (20 мл×3), сушили над безводным Na₂SO₄ и затем концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью Преп-ТСХ (ДХМ:MeOH=40:1) с получением 1981-D (205 мг, 67%) в виде желтого масла. МС 427,1 [M+H]⁺.

Синтез соединения 7. Смесь 1981-D (205 мг, 0,48 ммоль) и Pd/C (205 мг) в MeOH/EtOAc (5/5 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 50 мин в атмосфере H₂. Pd/C удаляли фильтрованием через целит, фильтрат концентрировали в вакууме и остаток очищали с помощью Преп-ТСХ (ДХМ:MeOH=25:1) с получением соединения 7 (130 мг, 68%) в виде коричневого твердого вещества. МС 397,2 [M+H]⁺.

Хиральное разделение соединения 7. Энантиомеры рацемического соединения 7 (100 мг, 0,25 ммоль) разделяли хиральным хроматографическим разделением (Колонка: Chiralpak OJ-3; Растворитель: MeOH; Скорость потока: 2 мл/мин; RT_{8E1}=2,287 мин, RT_{8E2}=2,553 мин) с получением первого пика элюирования Энантиомера 1 (соединение 8E1) (40 мг, 40%) в виде желтого твердого вещества (МС 397,2 [M+H]⁺) и второго пика элюирования энантиомера 2 (соединение 8E2) (20 мг, 20%) в виде желтого твердого вещества. МС 397,2 [M+H]⁺. Stereoхимия была назначена случайным образом.

Соединения 9-21 синтезировали аналогично с использованием соответственно замещенных вариантов реагентов бороновой кислоты и бромированных реагентов, используемых для синтеза соединения 7.

Соединение 9. 11 мг, 54%, желтое твердое вещество.

Соединение 10. 11 мг, 47%, белое твердое вещество.

Соединение 11. 34 мг, 70%, белое твердое вещество.

Соединение 12. 18 мг, 48%, белое твердое вещество.

Соединение 13. 34 мг, 61%, светло-желтое твердое вещество.

Соединение 15. 14 мг, 47%, белое твердое вещество.

Соединение 16. 35 мг, 63%, грязно-белое твердое вещество.

Соединение 17. 25 мг, 45%, белое твердое вещество.

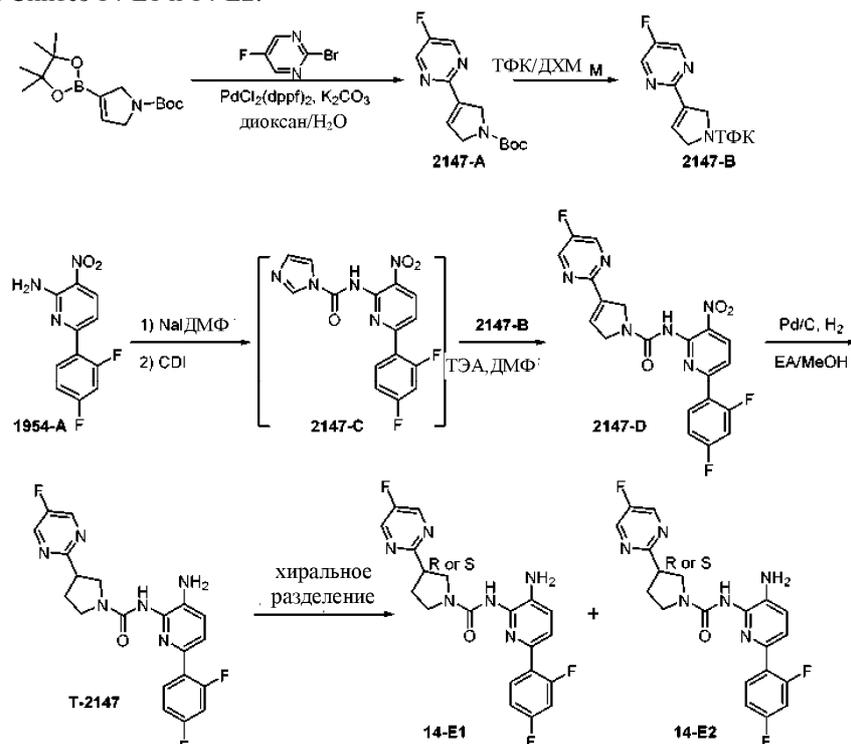
Соединение 18. 30 мг, 52%, грязно-белое твердое вещество.

Соединение 19. 15 мг, 28%, светло-желтое твердое вещество.

Соединение 20. 11 мг, 47%, светло-желтое твердое вещество.

Соединение 21. 17 мг, 41%, светло-желтое твердое вещество.

Пример 3. Синтез 14-E1 и 14-E2.



Синтез 2147-A. К смеси трет-бутил-3-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-карбоксилата (33,6 г, 113,9 ммоль), 2-бром-5-фторпиримидин (20 г, 113,6 ммоль) и K₂CO₃

(47,1 г, 341 ммоль) в диоксане/H₂O (500 мл/50 мл) добавляли PdCl₂(dppf)₂ (4,6 г, 5,7 ммоль) в атмосфере азота. Полученную смесь перемешивали при 100°C в течение 2 ч и затем концентрировали в вакууме. Остаток растворяли в EtOAc (500 мл) и раствор промывали насыщенным солевым раствором (200 мл×3). Органический слой сушили над безводным Na₂SO₄ и затем концентрировали в вакууме. Остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле. (ПЭ:EtOAc=10:1-5:1) с получением 2147-A (25,5 г, 85%) в виде серого твердого вещества. МС 210,1 [M-55]⁺.

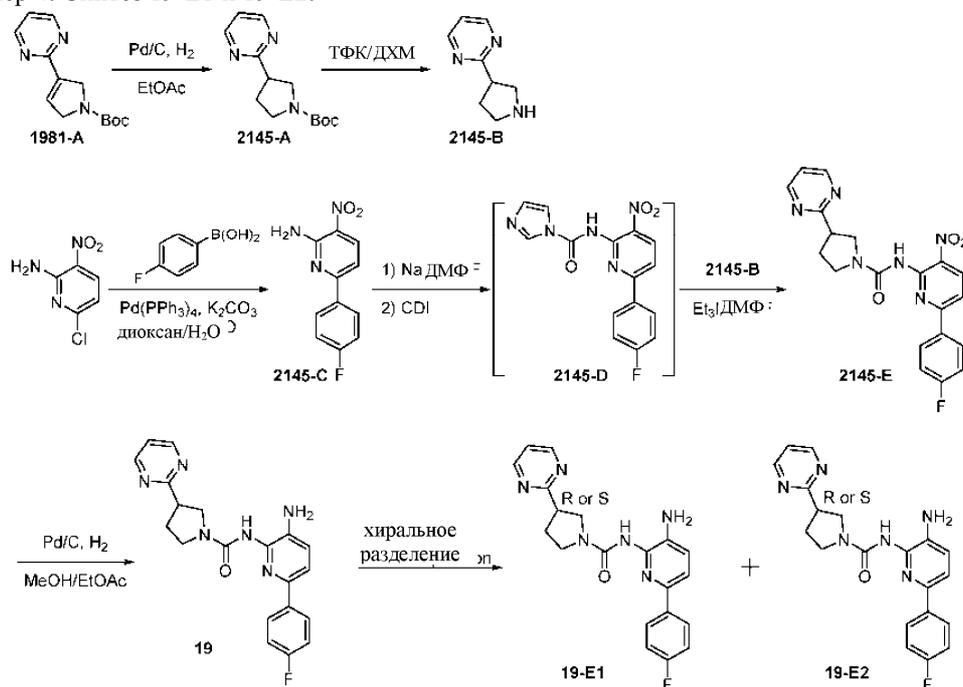
Синтез 2147-B. К раствору 2147-A (1,0 г, 6,0 ммоль) в ДХМ (30 мл) по каплям при 0°C добавляли ТФК (10 мл). Полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч, после чего растворитель удаляли в вакууме с получением 2147-B в виде неочищенного продукта, который использовали непосредственно на следующем этапе. МС 166,1 [M+H]⁺.

Синтез 2147-D. Раствор 1954-A (1,87 г, 7,45 ммоль) в ДМФ (15 мл) охлаждали до 0°C и затем обрабатывали NaNH (60% в минеральном масле) (596 мг, 14,9 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 30 мин, затем добавляли CDI (1,20 г, 7,45 ммоль) и перемешивание продолжали при 0°C в течение еще 30 мин. К реакционной смеси добавляли раствор 2147-B в ДМФ и перемешивание продолжали при 0°C в течение 1 ч. Затем смесь гасили водой (100 мл) и экстрагировали EtOAc (50 мл×3). Объемные органические слои промывали рассолом (50 мл×3), сушили над безводным Na₂SO₄ и затем концентрировали в вакууме. Остаток очищали колоночной хроматографией (ДХМ:EtOAc=15:1-2:1) с получением 2147-D (2,3 г, 70%) в виде желтого твердого вещества. МС 443,2 [M+H]⁺.

Синтез 14. Смесь 2147-D (2,3 г, 5,2 ммоль) и Pd/C (2,3 г) в MeOH/EtOAc (50 мл/50 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч в атмосфере H₂. Pd/C удаляли фильтрованием через подушку из целита. Фильтрат концентрировали в вакууме и остаток очищали колоночной хроматографией (ДХМ:MeOH=20:1) с получением соединения 14 (1,14 г, 53%) в виде белого твердого вещества. МС 415,2 [M+H]⁺.

Хиральное разделение 14-E1 и 14-E2. Энантиомеры 14 (1,14 г, 2,75 ммоль) разделяли при помощи хирального SFC разделения (колонок: Chiralcel OD-3; растворитель: MeOH; скорость потока: 2 мл/мин; RT_{T-2147-E1}=1,849 мин, RT_{T-2147-E2}=2,175 мин) с получением соединения 14-E1 изомер 1 (410 мг, 36%) в виде желтого твердого вещества (МС 415,2 [M+H]⁺) и соединения 14-E2 (360 мг, 31%) в виде желтого твердого вещества. МС 415,2 [M+H]⁺ изомер 2.

Пример 4. Синтез 19-E1 и 19-E2.



Синтез 2145-A. Смесь 1981-A (1,7 г, 6,8 ммоль) и Pd/C (850 мг) в EtOAc (80 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч в атмосфере H₂. Pd/C удаляли фильтрованием через целит. Фильтрат концентрировали в вакууме с получением 2145-A (1,6 г, 94%) в виде бесцветного масла. МС 194,2 [M-55]⁺.

Синтез 2145-B. К раствору 2145-A (1,3 г, 522 ммоль) в ДХМ (18 мл) добавляли по каплям ТФК (6 мл) при 0°C. Реакционной смеси давали нагреться до комнатной температуры и перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч, после чего реакционную смесь концентрировали в вакууме. Неочищенный остаток растворяли в ДМФ (5 мл) и обрабатывали ТЕА (1,58 г, 15,66 ммоль), с получением 2145-B в виде раствора, используемого непосредственно на следующем этапе. МС 150,0 [M+H]⁺.

Синтез 2145-C. Смесь 6-хлор-3-нитропиридин-2-амин (50,0 г, 289,0 ммоль), 4-фторфенилбороновой

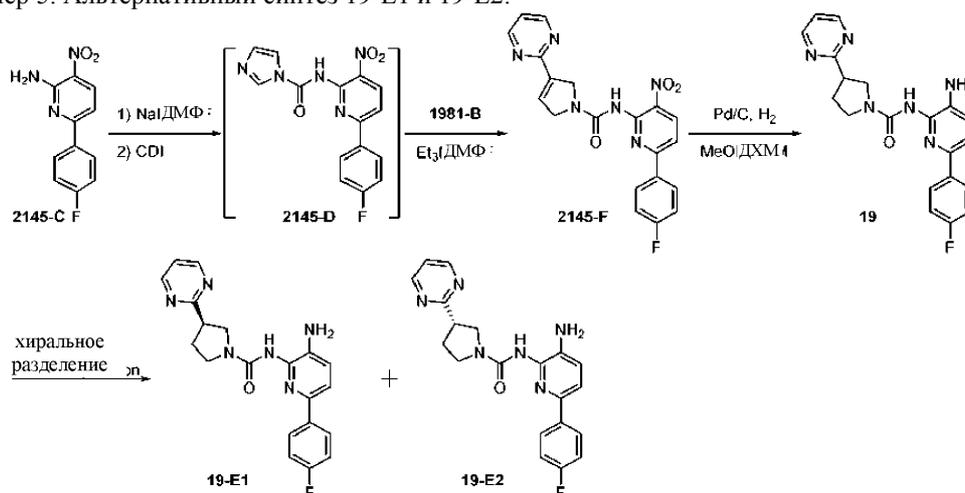
кислоты (48,5 г, 346,8 ммоль) и K_2CO_3 (119,6 г, 867 ммоль) в диоксан/ H_2O (1000/100 мл) обрабатывали $Pd(PPh_3)_4$ (5,0 г, 4,33 ммоль) в атмосфере N_2 . Смесь перемешивали при $95^\circ C$ в течение 4 ч и затем концентрировали в вакууме. Остаток растворяли в $EtOAc$ (2000 мл) и раствор промывали рассолом (700 мл \times 3). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 и затем концентрировали в вакууме. Остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (ПЭ: $EtOAc$ =10:1~5:1) с получением 2145-C (36 г, 54%) в виде желтого твердого вещества. МС 233,1 $[M+H]^+$.

Синтез 2145-E. Раствор 2145-C (1,0 г, 4,35 ммоль) в ДМФ (20 мл) охлаждали до $0^\circ C$ и обрабатывали $NaNH$ (60% в минеральном масле) (210 мг, 5,22 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при $0^\circ C$ в течение 30 мин, затем к указанной выше смеси добавляли CDI (846 мг, 5,22 ммоль) и перемешивание продолжали при $0^\circ C$ в течение еще 30 мин с получением раствора как 2145-D. Раствор 2145-B добавляли к раствору 2145-D при $0^\circ C$ и перемешивали в течение 1 ч. Реакционную смесь выливали в воду (420 мл), затем экстрагировали $EtOAc$ (50 мл \times 3) и промывали солевым раствором (50 мл \times 3). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 и затем концентрировали в вакууме. Остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (ДХМ: $MeOH$ =100:1-30:1) с получением 2145-E (1,2 г, 56,3%) в виде желтого масла. МС 409,1 $[M+H]^+$.

Синтез 19. Смесь 2145-E (1,2 г, 2,94 ммоль) и Pd/C (1,2 г) в $MeOH/EtOAc$ (20 мл/20 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч в атмосфере H_2 . Pd/C удаляли фильтрованием через целит. Фильтрат концентрировали в вакууме и остаток очищали при помощи колоночной хроматографии на силикагеле (ДХМ: $MeOH$ =100:1~15:1) с получением 19 (700 мг, 63%) в виде грязно-белого твердого вещества. МС 379,4 $[M+H]^+$.

Хиральное разделение 19-E1 и 19-E2. Энантиомеры 19 (700 мг, 1,85 ммоль) разделяли при помощи хирального SFC (колонка: Chiralpak AD-3; растворитель: $MeOH$; скорость потока: 1,5 мл/мин; $RT_{T-2145-E2}$ =5,544 мин с получением 19-E2 (230 мг, 32,8%) в виде белого твердого вещества и $RT_{T-2145-E1}$ =4,009 мин с получением 19-E1 (260 мг, 37,1%) в виде белого твердого вещества. МС 379,4 $[M+H]^+$.

Пример 5. Альтернативный синтез 19-E1 и 19-E2.



Синтез 2145-F. Раствор 2145-C (5,83 г, 25,0 ммоль) в ДМФ (100 мл) охлаждали до $0^\circ C$ и обрабатывали $NaNH$ (60% в минеральном масле) (1,4 г, 35 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при $0^\circ C$ в течение 30 мин, затем к указанной выше смеси добавляли CDI (4,86 г, 30 ммоль) и перемешивание продолжали при $0^\circ C$ еще 30 мин с получением раствора 2145-D. Затем раствор 1981-B (9,26 г, 37,5 ммоль) и ТЕА (18,93 г, 187,5 ммоль) в ДМФ (40 мл) добавляли к раствору 2145-D при $0^\circ C$ и полученную реакционную смесь перемешивали при $0^\circ C$ в течение 1 ч. Затем реакционную смесь выливали в воду (420 мл) и перемешивали в течение 10 мин. Осадок собирали фильтрованием и осадок промывали водой (150 мл), затем ацетоном (150 мл). Наконец, осадок концентрировали досуха с получением 2145-F (9,5 г, 94%) в виде светло-желтого твердого вещества. МС 407,1 $[M+H]^+$.

Синтез 19. Смесь 2145-F (8,5 г, 20,9 ммоль) и Pd/C (8,5 г) в $MeOH/ДХМ$ (250 мл/200 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч в атмосфере H_2 . Pd/C удаляли фильтрованием через целит. Фильтрат концентрировали в вакууме и остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (ДХМ: $MeOH$ =100:1~15:1) с получением 19 (4,1 г, 50%) в виде светло-желтого твердого вещества. МС 379,4 $[M+H]^+$.

Соединения 46, 50 и 51 синтезировали аналогично 19 путем использования соответственно замещенных бороновой кислоты и арилбромидных реагентов.

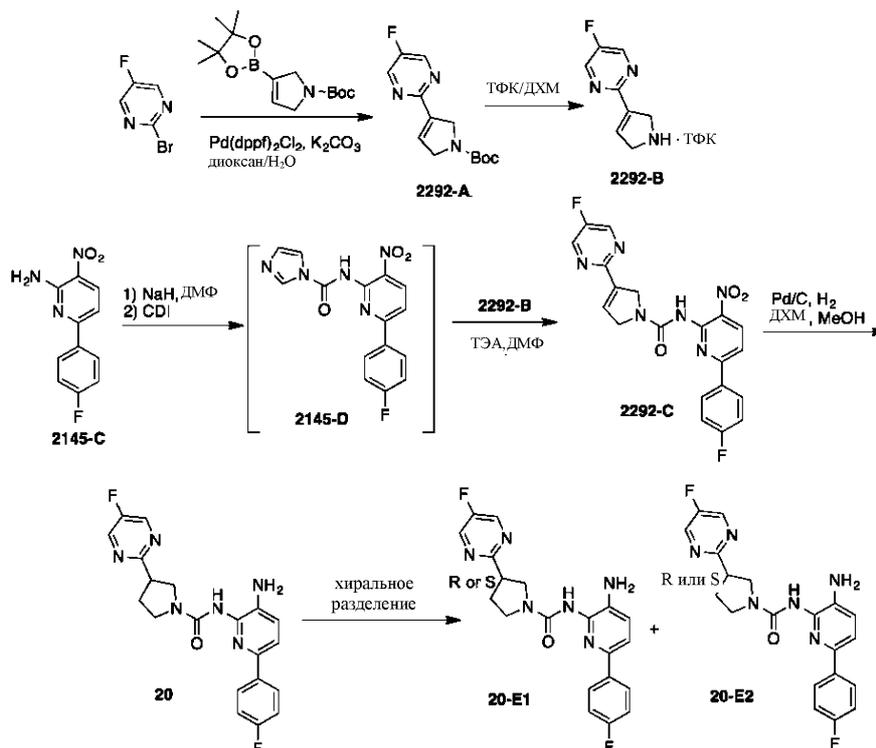
Соединение 46. 100 мг, 63%, светло-желтое вещество.

Хиральное разделение 50 и 51. Энантиомеры 19 разделяли при помощи хирального SFC (колонка: Chiralpak AD-3; растворитель: $MeOH$; скорость потока: 1.5 мл/мин; RT_{50} =3,267 мин и RT_{50} =5,375 мин.

Соединение 50. 200 мг, 29%, белое твердое вещество.

Соединение 51. 230 мг, 33%, белое твердое вещество.

Пример 6. Синтез 20-E1 и 20-E2.



Синтез 2292-A. Смесь 2-бром-5-фторпиримидина (20 г, 113,6 ммоль), трет-бутил-3-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-карбоксилата (33,7 г, 113,6 ммоль) и K_2CO_3 (47,0 г, 340,8 ммоль) в диоксане/ H_2O (500 мл/50 мл) обрабатывали $Pd(dppf)_2Cl_2$ (4,64 г, 5,7 ммоль) в атмосфере N_2 . Реакционную смесь перемешивали при $90^\circ C$ в течение 3 ч и затем концентрировали в вакууме. Остаток растворяли в $EtOAc$ (200 мл) и раствор промывали солевым раствором (100 м \times 3). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 и затем концентрировали в вакууме. Остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (ПЭ:ДХМ=1:1 до ДХМ) с получением 2292-A (25,5 г, 85%) в виде серого твердого вещества. МС 210,1 [M-55]⁺.

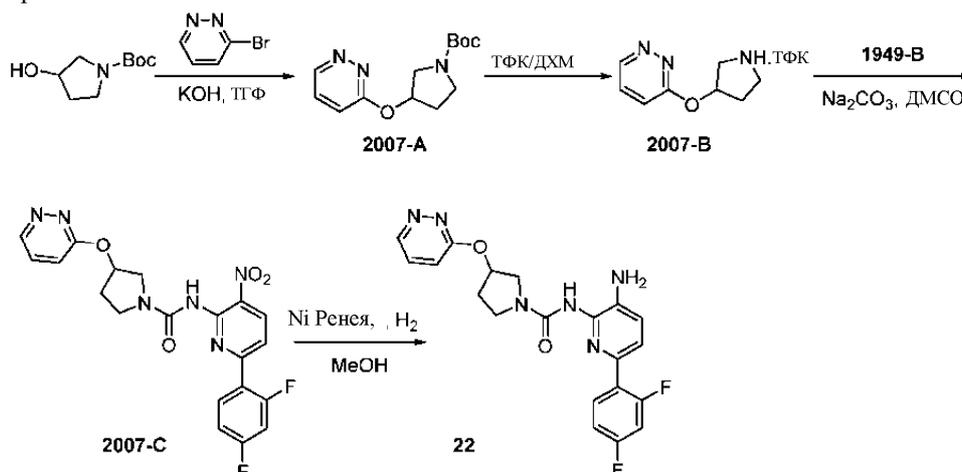
Синтез 2292-B. Смесь 2292-A (11,7 г, 44,1 ммоль) в ДХМ (100 мл) обрабатывали TLA (30 мл) при $0^\circ C$. Реакционной смеси давали нагреться до комнатной температуры и перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Затем раствор концентрировали в вакууме, а остаток растворяли в ДМФ (50 мл) и обрабатывали TEA (13,4 г, 132,3 ммоль) с получением 2292-B в качестве раствора, используемого непосредственно на следующем этапе. МС 165,1 [M+H]⁺.

Синтез 2292-C. Раствор 2145-C (9,32 г, 40,0 ммоль) в ДМФ (100 мл) охлаждали до $0^\circ C$ и затем обрабатывали NaH (60% в минеральном масле) (1,92 г, 48,0 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при $0^\circ C$ в течение 30 мин, затем к вышеуказанной смеси добавляли CDI (7,13 г, 44,0 ммоль) и перемешивание продолжали при $0^\circ C$ еще 30 мин с получением раствора 2145-D. Затем раствор 2292-B добавляли к указанной выше смеси при $0^\circ C$ и полученную смесь перемешивали при $0^\circ C$ в течение 1 ч. Затем реакционную смесь выливали в воду (450 мл) и перемешивали в течение 10 мин. Осадок собирали фильтрованием и фильтрпрессованную лепешку промывали водой (150 мл), затем ацетоном (150 мл). Наконец, осадок концентрировали досуха с получением 2292-C (12,2 г, 70%) в виде светло-желтого твердого вещества. МС 424,9 [M+H]⁺.

Синтез 20. Раствор 2292-C (12,2 г, 28,6 ммоль) и Pd/C (12,2 г) в MeOH/ДХМ (400 мл/300 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 2,5 ч в атмосфере H_2 . Pd/C удаляли фильтрованием через целит. Фильтрат концентрировали в вакууме и остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (ДХМ-ДХМ:EA=1:1) с получением 20 (6,8 г, 60%) в виде желтого твердого вещества. МС 397,0 [M+H]⁺.

Хиральное разделение 20-E1 и 20-E2. Энантиомеры 20 (360 мг, 0,91 ммоль) разделяли при помощи хирального SFC (колонка: Chiralcel OJ-3; растворитель: MeOH; скорость потока: 1,5 мл/мин; $RT_{T-2292-E2}=2,862$ мин с получением 20-E2 (100 мг, 28%) в виде белого твердого вещества и $RT_{T-2292-E1}=2,338$ мин с получением 20-E1 (88 мг, 25%) в виде белого твердого вещества. МС 397,0 [M+H]⁺.

Пример 7.



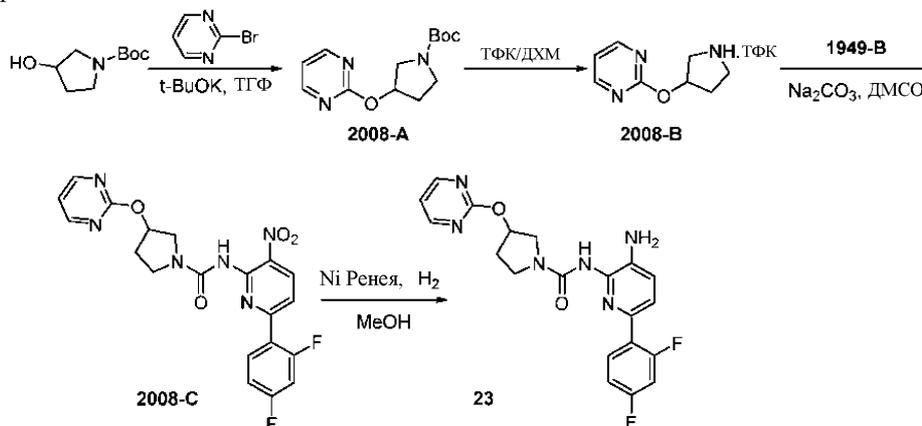
Синтез 2007-А. Раствор трет-бутил-3-гидроксипирролидин-1-карбоксилата (821 мг, 4,75 ммоль) в ТГФ (10 мл) обрабатывали 3-бромпиридазином (500 мг, 3,16 ммоль) и KOH (798 мг, 4,25 ммоль) при комнатной температуре. Затем реакционную смесь нагревали до 70°C и перемешивали при 70°C в течение 16 ч. Затем смесь разбавляли водой (20 мл) и экстрагировали EtOAc (20 мл×3). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (20 мл×3), сушили над безводным Na₂SO₄ и затем концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью Преп-ТСХ (EtOAc:ПЭ=10:1) с получением 2007-А (70 мг, 8%) в виде желтого масла. МС 288,2 [M+H]⁺.

Синтез 2007-В. К раствору 2007-А (70 мг, 0,26 ммоль) в ДХМ (6 мл) по каплям добавляли ТФК (2 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч, после чего растворитель удаляли в вакууме с получением 2007-В в виде неочищенного продукта, который использовали непосредственно на следующем этапе без дополнительной очистки.

Синтез 2007-С. Смесь 1949-В (71,0 мг, 0,14 ммоль) и 2007-В (0,26 ммоль, неочищенный продукт с последнего этапа) в ДМСО (5 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин, затем обрабатывали Na₂CO₃ (276 мг, 2,6 ммоль). Полученную реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч, после чего смесь разбавляли водой (20 мл) и экстрагировали EtOAc (10 мл×3). Объединенный органический слой промывали солевым раствором (10 мл×3), сушили над безводным Na₂SO₄ и затем концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью Преп-ТСХ (EtOAc:ПЭ=5:1) с получением 2007-С (40 мг, 45%) в виде желтого твердого вещества. МС 443,2 [M+H]⁺.

Синтез 22. Смесь 2007-С (40 мг, 0,09 ммоль) в MeOH (6 мл) обрабатывали Ni Реня (20 мг) и перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин в атмосфере H₂. Затем Ni Реня удаляли фильтрованием через целит, фильтрат концентрировали и остаток очищали с помощью Преп-ТСХ (ДХМ:MeOH=10:1) с получением 22 (18 мг, 48%) в виде твердого вещества розового цвета. МС 413,2 [M+H]⁺.

Пример 8.



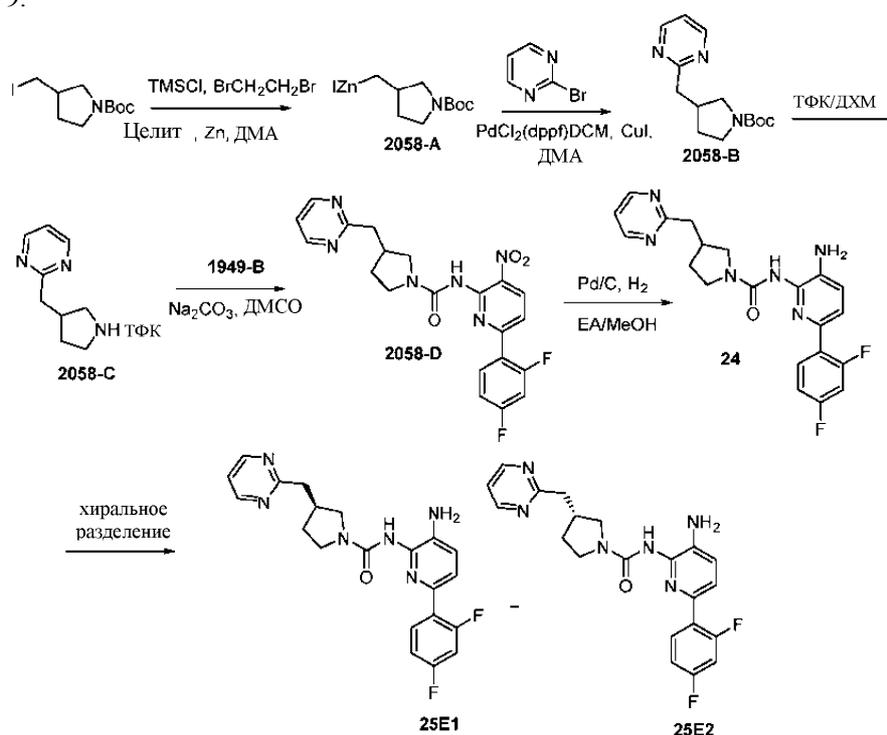
Синтез 2008-А. Раствор трет-бутил-3-гидроксипирролидин-1-карбоксилата (375 мг, 3,32 ммоль) в ТГФ (10 мл) обрабатывали 2-бромпиридином (350 мг, 3,22 ммоль) и t-BuOK (1,08 г, 9,66 ммоль) при комнатной температуре. Затем реакционную смесь нагревали до 70°C и перемешивали при 70°C в течение 3 ч. Затем смесь разбавляли водой (30 мл) и экстрагировали EtOAc (20 мл×3). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (20 мл×3), сушили над безводным Na₂SO₄ и затем концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью Преп-ТСХ (EtOAc:ПЭ=10:1) с получением 2008-А (400 мг, 48%) в виде бесцветного масла. МС 288,2 [M+H]⁺.

Синтез 2008-В. К раствору 2008-А (400 мг, 1,51 ммоль) в ДХМ (6 мл) добавляли по каплям ТФА (2 мл). Полученную реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч, после чего растворитель удаляли в вакууме с получением 2008-В в виде неочищенного продукта, который непосредственно использовали на следующем этапе без дополнительной очистки. МС 188,2 [M+H]⁺.

Синтез 2008-С. Смесь 1949-В (370,0 мг, 0,76 ммоль) и 2008-В (1,51 ммоль, неочищенный продукт с последнего этапа) в ДМСО (10 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин, затем обрабатывали Na₂CO₃ (800 мг, 7,55 ммоль). Полученную реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч, после чего смесь разбавляли водой (30 мл) и экстрагировали EtOAc (30 мл×3). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (30 мл×3), сушили над безводным Na₂SO₄ и затем концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью Преп-ТЛС (EtOAc:ПЭ=5:1) с получением 2008-С (250 мг, 75%) в виде желтого твердого вещества. МС 443,2 [M+H]⁺.

Синтез 23. Смесь 2008-С (200 мг, 0,45 ммоль) в MeOH (8 мл) обрабатывали Pd/C (200 мг), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч в атмосфере H₂. Затем Pd/C удаляли фильтрованием через целит, фильтрат концентрировали и остаток очищали с помощью Преп-ТСХ (ДХМ:MeOH=10:1) с получением 23 (84 мг, 42%) в виде грязно-белого твердого вещества. МС 413,2 [M+H]⁺.

Пример 9.



Синтез 2058-А. Смесь цинковой пыли (896 мг, 13,8 ммоль) и безводного ДМА (3 мл) обрабатывали TMSCl и 1,2-дибромэтаном (0,24 мл, об./об.=7/5) и полученную реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 20 мин в атмосфере N₂. Затем добавляли раствор трет-бутил-3-(иодометил)пирролидин-1-карбоксилата (3,3 г, 10,6 ммоль) в безводном ДМА (4 мл) и полученную реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч в атмосфере N₂. Затем смесь использовали непосредственно на следующем этапе как 2058-А. Концентрация 2058-А составляла приблизительно 1,0 моль/л в ДМА.

Синтез 2058-В. Смесь 2-бромпиридина (734 мг, 4,61 ммоль), CuI (87 мг, 0,46 ммоль) и Pd(PPh₃)₄ (266 мг, 0,23 ммоль) в безводном ДМА (15 мл) в атмосфере N₂ обрабатывали 2058-А (6,0 мл). Полученную смесь перемешивали при 60°C в течение 48 ч в атмосфере N₂. Затем смесь разбавляли водой (50 мл) и экстрагировали EtOAc (30 мл×3). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (30 мл×3), сушили над безводным Na₂SO₄ и затем концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью Преп-ТСХ (EtOAc:ДХМ=1:1) с получением 2058-В (500 мг, 41%) в виде желтого твердого вещества. МС 264,2 [M+H]⁺.

Синтез 2058-С. К раствору 2058-В (500 мг, 1,9 ммоль) в ДХМ (10 мл) по каплям добавляли ТФК (3 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч, после чего раствор концентрировали в вакууме с получением 2058-С в виде неочищенного продукта, который использовали непосредственно на следующем этапе без дополнительной очистки. МС 164,2 [M+H]⁺.

Синтез 2058-Д. Смесь 2058-С (1,9 ммоль, неочищенный продукт с последнего этапа) и 1949-В (518 мг, 1,05 ммоль) в ДМСО (15 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин, затем обрабатывали Na₂CO₃ (1,11 г, 10,5 ммоль) и полученную реакционную смесь перемешивали при комнат-

ной температуре в течение 2 ч. Затем смесь разбавляли водой (50 мл) и экстрагировали EtOAc (30 мл×3). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (30 мл×3), сушили над безводным Na₂SO₄ и затем концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью Преп-ТХС (ДХМ:EtOAc=1:2) с получением 2058-D (400 мг, 86%) в виде желтого твердого вещества. MS 441,2 [M+H]⁺.

Синтез 24. Смесь 2058-D (400 мг, 0,91 ммоль) и Pd/C (400 мг) в MeOH/EtOAc (10 мл/10 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч в атмосфере H₂. Pd/C удаляли фильтрованием через целит, фильтрат концентрировали в вакууме и остаток очищали с помощью Преп-ТХС (ДХМ:MeOH=25:1) с получением 24 (250 мг, 67%) в виде желтого твердого вещества. MS 411,2 [M+H]⁺.

Хиральное разделение 24. Энантиомеры 24 (250 мг, 0,61 ммоль) разделяли при помощи хирального хроматографического разделения (колонка: Chiralpak AD-3; растворитель: MeOH; скорость потока: 2 мл/мин; RT_{24E1}=2,893 мин, RT_{24E2}=3,892 мин) с получением энантиомера 1 (25E1) (62 мг, 25%) в виде желтого твердого вещества (MS 411,2 [M+H]⁺) и энантиомера 2 (25E2) (90 мг, 36%) в виде желтого твердого вещества. MS 411,2 [M+H]⁺. Стереохимию назначали случайным образом.

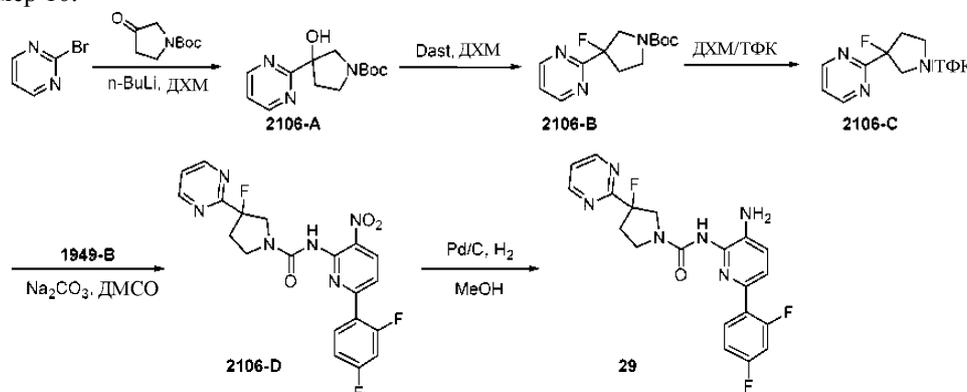
Соединения 26-28 синтезировали аналогично с использованием соответственно замещенных бромированных вариантов реагента, используемого для синтеза 23.

Соединение 26. 20 мг, 21%, желтое твердое вещество.

Соединение 27. 110 мг, 59%, белое твердое вещество.

Соединение 28. 20 мг, 54%, светло-желтое твердое вещество.

Пример 10.



Синтез 2106-A. К раствору 2-бромпиридина (50,0 г, 314,5 ммоль) в ДХМ (600 мл) в атмосфере азота по каплям добавляли n-BuLi (150 мл, 377,5 ммоль) при минус 78°C и перемешивали при минус 78°C в течение 2 ч в атмосфере азота. Затем к вышеуказанной смеси по каплям при минус 78°C добавляли трет-бутил-3-оксопирролидин-1-карбоксилат (70 г, 377,5 ммоль) в ДХМ (200 мл). Полученную смесь нагревали до комнатной температуры в течение 3 ч. Смесь гасили насыщенным NH₄Cl (200 мл), экстрагировали ДХМ (400 мл×3). Объединенные органические слои промывали рассолом (200 мл×3), сушили над безводным Na₂SO₄ и затем концентрировали в вакууме. Остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (ПЭ:EtOAc=10:1 к EtOAc) с получением 2106-A (9,0 г, 11%) в виде светло-желтого твердого вещества. MS 266,2 [M+H]⁺.

Синтез 2106-B. К раствору 2106-A (9,0 г, 34,0 ммоль) в ДХМ (50 мл) по каплям добавляли DAST (18 мл) при минус 78°C и раствор нагревали до комнатной температуры в течение 1 ч в атмосфере азота. Растворитель концентрировали и остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (ПЭ:EtOAc=10:1 к EtOAc) с получением 2106-B (2,2 г, 24%) в виде коричневого твердого вещества. MS 268,2 [M+H]⁺.

Синтез 2106-C. К раствору 2106-B (2,2 г, 8,21 ммоль) в ДХМ (20 мл) по каплям при 0°C добавляли 8 мл TfK. Затем раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Растворитель удаляли в вакууме с получением 2106-C в виде неочищенного продукта, который непосредственно использовали на следующем этапе. MS 168,2 [M+H]⁺.

Синтез 2106-D. Смесь 1949-B (2,6 г, 5,47 ммоль) и 2106-C (8,21 ммоль, неочищенный продукт с последнего этапа) в DMSO (40 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин, а затем Na₂CO₃ (5,8 г, 54,7 ммоль) добавляли в вышеуказанную смесь. Полученную смесь продолжали перемешивать при комнатной температуре в течение 2 ч. Смесь разбавляли водой (200 мл), экстрагировали EtOAc (100 мл×3). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (50 мл×3), сушили над безводным Na₂SO₄ и затем концентрировали в вакууме. Остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (ПЭ:EtOAc=10:1 к EtOAc) с получением 2106-D (2,0 г, 82%) в виде желтого твердого вещества. MS 445,0 [M+H]⁺.

Синтез 29. Смесь 2106-D (12,0 г, 27,0 ммоль) и Ni Ренея (2,0 г) в MeOH (20 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч в атмосфере H₂. Ni Ренея удаляли фильтрованием через подушку из целита. Фильтрат концентрировали в вакууме и остаток очищали колоночной хроматографией на сили-

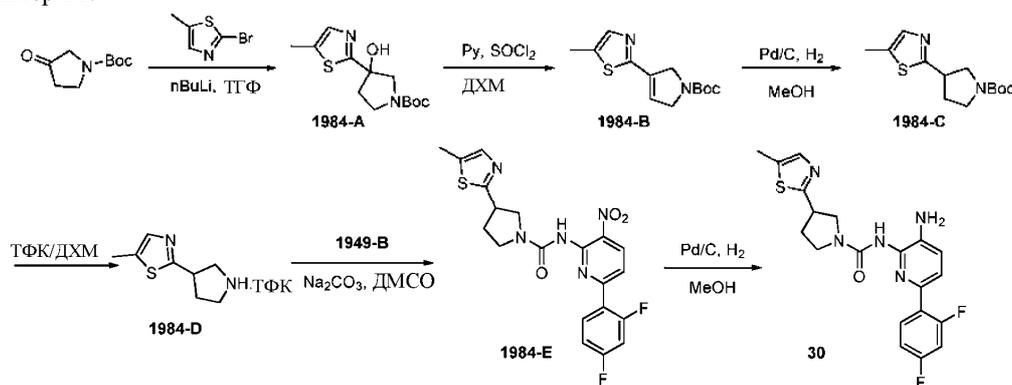
кагеле (ПЭ:EtOAc=10:1 к EtOAc) с получением 29 (8,0 г, 71%) в виде желтого твердого вещества. МС 415,2 [M+H]⁺.

Хиральное разделение 29-E1 и 29-E2. Энантимеры соединения 29 (8,0 г, 19,3 ммоль) разделяют при помощи хирального SFC (колонка: Chiralcel OX-3; растворитель: MeOH; скорость потока: 1,5 мл/мин; RT_{2106-E1}=2,814 мин, RT_{2106-E2}=4,362 мин) с получением 29-E1 (1,2 г, 11%) в виде желтого твердого вещества (МС 415,2 [M+H]⁺) и 29-E2 (1,3 г, 12%) в виде желтого твердого вещества. МС 415,2 [M+H]⁺.

Соединение 45 синтезировали аналогично 29 с использованием 2-(5-фтортиофен-2-ил)-4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксборолана в качестве реагента.

Соединение 45. 90 мг, 19%, желтое твердое вещество.

Пример 11.



Синтез 1984-A. Раствор 2-бром-5-метилтиазола (1,0 г, 5,59 ммоль) в ТГФ (20 мл) в атмосфере N₂ обрабатывали по каплям n-BuLi (2,7 мл, 6,70 ммоль) при минус 78°C и полученную реакционную смесь перемешивали при минус 78°C в течение 1 ч. Затем к реакционной смеси по каплям при минус 78°C добавляли раствор трет-бутил-3-оксопирролидин-1-карбоксилата (1,2 г, 6,70 ммоль) в ТГФ (10 мл). Затем реакционной смеси давали нагреться до комнатной температуры и перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Смесь разбавляли насыщенным водным NH₄Cl (40 мл) и экстрагировали EtOAc (30 мл×3). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (20 мл×3), сушили над безводным Na₂SO₄ и затем концентрировали в вакууме. Остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (ПЭ:EtOAc=10:1 к EtOAc) с получением 1984-A (760 мг, 48%) в виде светло-желтого твердого вещества. МС 285,2 [M+H]⁺.

Синтез 1984-B. Раствор 1984-A (660 мг, 2,32 ммоль) в ДХМ (10 мл) охлаждали до 0°C и обрабатывали пиридином (1,09 г, 13,94 ммоль) с последующим добавлением по каплям SOCl₂ (414 мг, 3,48 ммоль). Полученную реакционную смесь затем нагревали до 45°C и перемешивали при 45°C в течение 16 ч. Затем смесь разбавляли водой (20 мл) и экстрагировали ДХМ (30 мл×3). Объединенные органические слои промывали рассолом (20 мл×3), сушили над безводным Na₂SO₄ и затем концентрировали в вакууме. Остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (ПЭ:EtOAc=10:1~1:5) с получением 1984-B (120 мг, 19%) в виде коричневого масла. МС 266,2 [M+H]⁺.

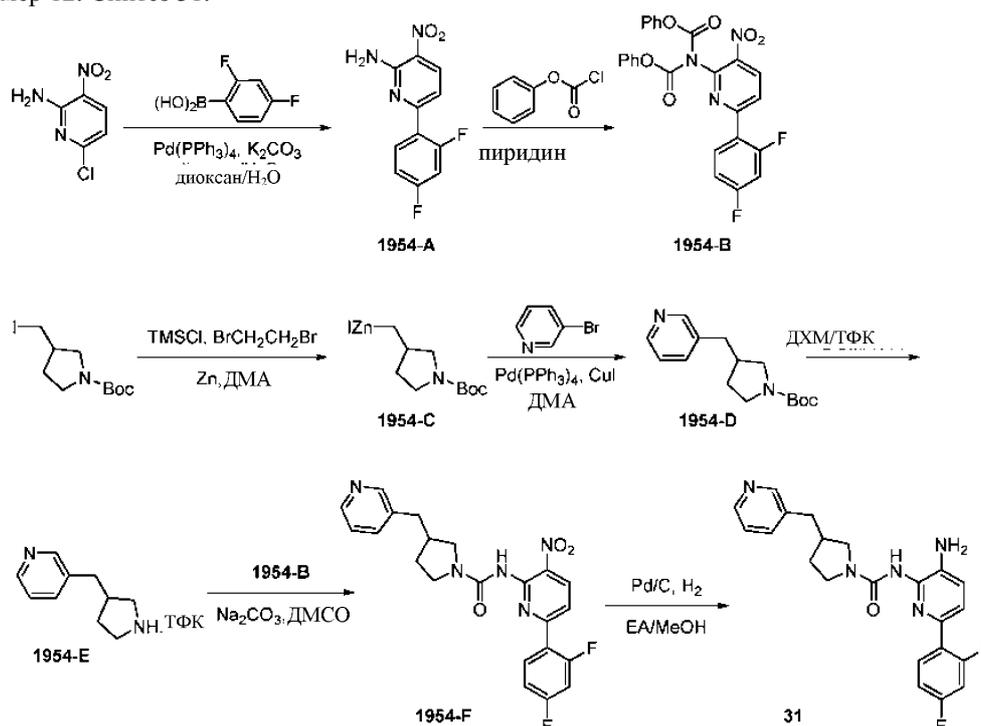
Синтез 1984-C. Смесь 1984-B (100 мг, 0,38 ммоль) и Pd/C (100 мг) в MeOH (6 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч в атмосфере H₂. Затем Pd/C удаляли фильтрованием через целит, фильтрат концентрировали и остаток очищали с помощью Преп-ТСХ (EtOAc:ПЭ=5:1) с получением 1984-C (90 мг, 88%) в виде светло-коричневого масла. МС 269,2 [M+H]⁺.

Синтез 1984-D. К раствору 1984-C (90 мг, 0,34 ммоль) в ДХМ (3 мл) по каплям добавляли ТФК (1 мл). Полученную реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч, после чего растворитель удаляли в вакууме с получением 1984-D в виде неочищенного продукта, который использовали непосредственно на следующем этапе без дополнительной очистки. МС 169,2 [M+H]⁺.

Синтез 1984-E. Смесь 1949-B (93 мг, 0,19 ммоль) и 1984-D (0,34 ммоль, неочищенный продукт с последнего этапа) в ДМСО (5 мл) обрабатывали Na₂CO₃ (200 мг, 1,89 ммоль) и полученную реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Затем смесь разбавляли водой (20 мл) и экстрагировали EtOAc (20 мл×3). Объединенные органические слои промывали рассолом (20 мл×3), сушили над безводным Na₂SO₄ и затем концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью Преп-ТСХ (EtOAc:ПЭ=5:1) с получением 1984-E (80 мг, 95%) в виде желтого твердого вещества. МС 446,2 [M+H]⁺.

Синтез 30. Смесь 1984-E (80 мг, 0,18 ммоль) и Pd/C (80 мг) в MeOH (5 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч в атмосфере H₂. Затем Pd/C удаляли фильтрованием через целит, фильтрат концентрировали и остаток очищали с помощью Преп-ТСХ (EtOAc:MeOH=15:1) с получением 30 (44 мг, 59%) в виде желтого твердого вещества. МС 416,2 [M+H]⁺.

Пример 12. Синтез 31.



Синтез 1954-А. Смесь 6-хлор-3-нитропиридин-2-амина (4,58 г, 26,4 ммоль), 2,4-дифторфенилбороновой кислоты (5,00 г, 31,7 ммоль) и K_2CO_3 (10,9 г, 79,2 ммоль) в диоксане/ H_2O (100 мл/10 мл) обрабатывали $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (1,10 г, 0,95 ммоль) в атмосфере азота. Смесь перемешивали при 100°C в течение 3 ч, а затем концентрировали в вакууме. Остаток растворяли в EtOAc (200 мл) и раствор промывали солевым раствором (100 мл \times 3). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , а затем концентрировали в вакууме. Остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (ПЭ:EtOAc=7:1-5:1) с получением 1954-А (4,0 г, 61%) в виде желтого твердого вещества. МС 252,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Синтез 1954-В. К перемешиваемому раствору 1954-А (4,0 г, 15,94 ммоль) в пиридине (60 мл) по каплям при 0°C добавляли фенилкарбонхлорид (7,50 г, 47,81 ммоль). После завершения добавления смесь перемешивали при 50°C в течение 4 ч. Смесь концентрировали в вакууме. Остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (ПЭ:ДХМ=3:2-1:1) с получением 1954-В (7,1 г, 91%) в виде желтого твердого вещества. МС 492,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Синтез 1954-С. К смеси цинковой пыли (449 мг, 6,9 ммоль) в безводном ДМА (2 мл) добавляли TMSCl и 1,2-дибромэтан (0,24 мл, об./об.=7/5) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 20 мин в атмосфере азота. Затем раствор трет-бутил-3-(иодометил) пирролидин-1-карбоксилата (1,65 г, 5,3 ммоль) в безводном ДМА (1,5 мл) добавляли к указанной выше смеси и полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч в условиях азотной атмосферы. Смесь была использована непосредственно на следующем этапе как 1954-С. Концентрация 1954-С составляла приблизительно 1,0 моль/л в ДМА.

Синтез 1954-Д. К смеси 3-бромпиримидина (243 мг, 1,54 ммоль), CuI (30 мг, 0,15 ммоль) и $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (89 мг, 0,077 ммоль) в безводном ДМА (6 мл) в атмосфере азота добавляли 1954-С (2,0 мл). Полученную смесь перемешивали при 60°C в течение 72 ч в атмосфере азота. Затем смесь разбавляли водой (20 мл) и экстрагировали EtOAc (20 мл \times 3). Объединенные органические слои промывали рассолом (20 мл \times 3), сушили над безводным Na_2SO_4 и затем концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью Преп-ТСХ (ДХМ:EtOAc=2:1) с получением 1954-Д (180 мг, 44%) в виде желтого твердого вещества. МС 263,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Синтез 1954-Е. К раствору 1954-Д (160 мг, 0,69 ммоль) в ДХМ (6 мл) по каплям при 0°C добавляли ТФК (2 мл). Полученную реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч, затем концентрировали в вакууме с получением 1954-Е в виде неочищенного продукта, который непосредственно использовали на следующем этапе. МС 163,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Синтез 1954-Ф. Смесь 1954-Е (0,69 ммоль, неочищенный продукт с предыдущего этапа) и 1954-В (188 мг, 0,38 ммоль) в ДМСО (6 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин, затем Na_2CO_3 (403 мг, 3,8 ммоль) добавляли к вышеуказанной смеси и полученную реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Затем смесь разбавляли водой (30 мл) и экстрагировали EtOAc (10 мл \times 3). Объединенные органические слои промывали рассолом (10 мл \times 3), сушили над безводным Na_2SO_4 и затем концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью Преп-ТСХ (ДХМ:EtOAc=1:2) с получением 1954-Ф (110 мг, 66%) в виде желтого твердого вещества. МС 440,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Синтез соединения 31. Смесь 1954-F (110 мг, 0,25 ммоль) и Pd/C (110 мг) в MeOH/EtOAc (5/5 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 50 мин в атмосфере H₂. Pd/C удаляли фильтрованием через подушку из целита. Фильтрат концентрировали в вакууме и остаток очищали с помощью Преп-ТСХ (ДХМ:MeOH=30:1) с получением 31 (45 мг, 44%) в виде желтого твердого вещества. МС 410,1 [M+H]⁺.

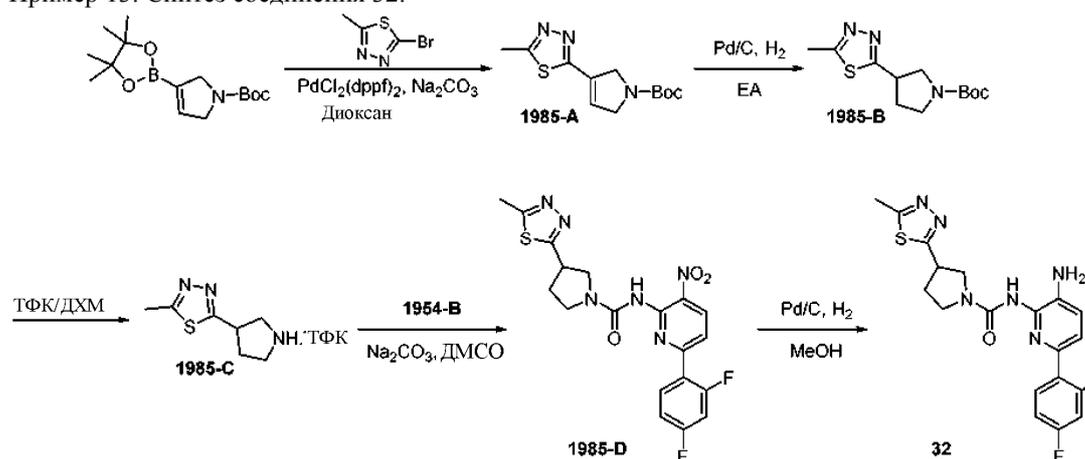
Соединение 33 синтезировали аналогично 31 путем использования трет-бутил 3-йодопирролидон-1-карбоксилата и 2-бром-5-метилпиримидина в качестве реагентов.

Соединение 33. 38 мг, 41%, светло-желтое твердое вещество.

Соединение 48 синтезировали аналогично 31 путем использования трет-бутил 3-йодопирролидон-1-карбоксилата, 2-бромпиримидина и 2-фторфенилбороновой кислоты в качестве реагентов.

Соединение 48. 38 мг, 41%, светло-желтое твердое вещество.

Пример 13. Синтез соединения 32.



Синтез 1985-A. Смесь 2-бром-5-метил-1,3,4-тиадиазола (700 мг, 3,89 ммоль), трет-бутил-3-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-карбоксилата (1,15 г, 3,89 ммоль) и Na₂CO₃ (1,2 г, 11,7 ммоль) в диоксане (40 мл) обрабатывали PdCl₂(dppf)₂ (159 мг, 0,2 ммоль) в атмосфере азота. Реакционную смесь перемешивали при 90°C в течение 3 ч и затем концентрировали в вакууме. Остаток растворяли в EtOAc (30 мл) и раствор промывали рассолом (10 мл×3). Объединенный органический слой сушили над безводным Na₂SO₄ и затем концентрировали в вакууме. Остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (ПЭ:EtOAc=10:1-1:1) с получением 1985-A (400 мг, 39%) в виде желтого твердого вещества. МС 268,1 [M+H]⁺.

Синтез 1985-B. Смесь 1985-A (400 мг, 1,5 ммоль) и Pd/C (400 мг) в EtOAc (10 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч в атмосфере H₂. Затем Pd/C удаляли фильтрованием через подушку из целита. Фильтрат концентрировали и остаток очищали с помощью Преп-ТСХ (EA:ПЭ=3:1) с получением 1985-B (300 мг, 74%) в виде твердого вещества желтого цвета. МС 270,2 [M+H]⁺.

Синтез 1985-C. Раствор 1985-B (300 мг, 1,1 ммоль) в ДХМ (10 мл) охлаждали до 0°C и затем по каплям добавляли ТФК (4 мл) при 0°C. Полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч, после чего растворитель удаляли в вакууме с получением 1985-C в виде неочищенного продукта, который использовали непосредственно на следующем этапе. МС 170,2 [M+H]⁺.

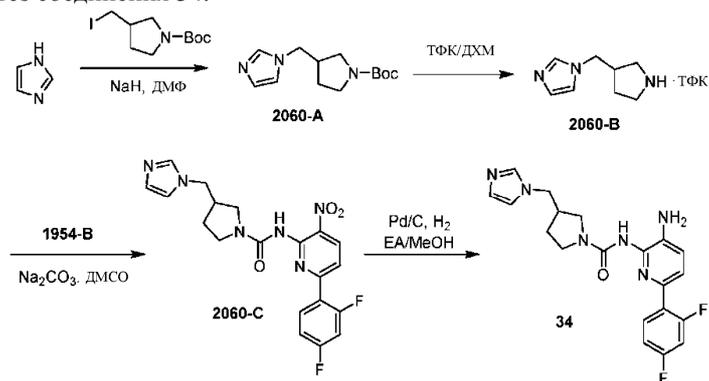
Синтез 1985-D. Смесь 1954-B (300 мг, 0,6 ммоль) и 1985-C (1,1 ммоль, неочищенный продукт с предыдущего этапа) в ДМСО (10 мл) обрабатывали Na₂CO₃ (636 мг, 6,0 ммоль), и полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Затем смесь разбавляли водой (50 мл) и экстрагировали EtOAc (50 мл×3). Объединенные органические слои промывали рассолом (20 мл×3), сушили над безводным Na₂SO₄ и затем концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью Преп-ТСХ (EA:ПЭ=5:1) с получением 1985-D (150 мг, 56%) в виде желтого твердого вещества. МС 447,2 [M+H]⁺.

Синтез 32. Смесь 1985-D (150 мг, 0,34 ммоль) и Pd/C (150 мг) в MeOH (6 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч в атмосфере H₂. Затем Pd/C удаляли фильтрованием через подушку из целита. Фильтрат концентрировали и остаток очищали с помощью Преп-ТСХ (EA:MeOH=15:1) с получением 32 (83 мг, 55%) в виде желтого твердого вещества. МС 417,2 [M+H]⁺.

Соединение 37 синтезировали аналогично 32 с использованием соответственно замещенного арил-бромидного реагента.

Соединение 37. 65 мг, 58%, светло-желтое твердое вещество.

Пример 14. Синтез соединения 34.



Синтез 2060-А. Раствор 1Н-имидазола (115 мг, 1,69 ммоль) в ДМФ (5 мл) охлаждали до 0°C и обрабатывали NaH (60% в минеральном масле, 122 мг, 3,1 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 10 мин, затем добавляли трет-бутил 3-(иодометил)пирролидин-1-карбоксилат (687 мг, 2,21 ммоль) и реакционную смесь нагревали до 40°C и перемешивали при 40°C в течение 3 ч. Затем смесь разбавляли водой (30 мл) и экстрагировали EtOAc (20 мл×3). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (20 мл×3), сушили над безводным Na₂SO₄ и затем концентрировали в вакууме. Остаток очищали Преп-ТСХ (ДХМ:МеОН=30:1) с получением 2060-А (105 мг, 25%) в виде бесцветного масла. МС 197,2 [M+H]⁺.

Синтез 2060-В. К раствору 2060-А (201 мг, 0,80 ммоль) в ДХМ (6 мл) по каплям при 0°C добавляли ТФК (2 мл). Полученной реакционной смеси давали нагреться до комнатной температуры и перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч, затем концентрировали в вакууме с получением 2060-В в качестве неочищенного продукта, который непосредственно использовали на следующем этапе. МС 151,2 [M+H]⁺.

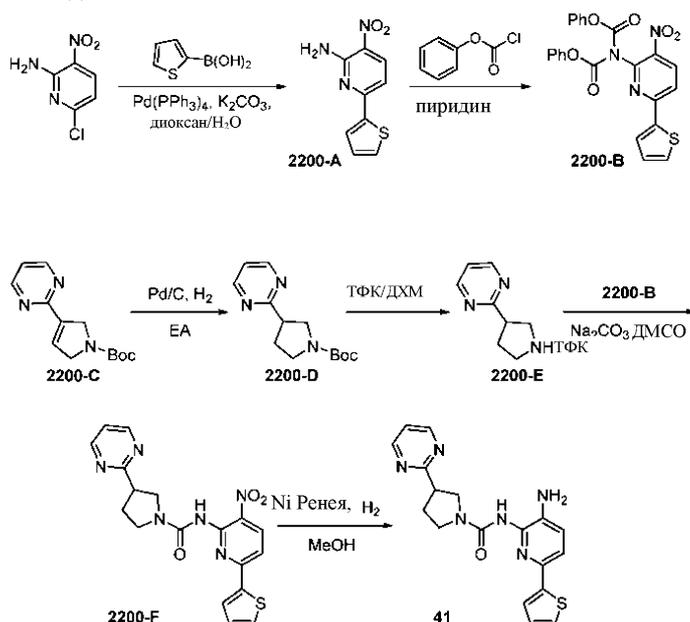
Синтез 2060-С. Смесь 2060-В (0,80 ммоль, неочищенный продукт с предыдущего этапа) и 1954-В (216 мг, 0,44 ммоль) в ДМСО (6 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин, затем Na₂CO₃ (471 мг, 4,44 ммоль) добавляли к указанной выше смеси и перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Смесь разбавляли водой (20 мл) и экстрагировали EtOAc (10 мл×3). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (10 мл×3), сушили над безводным Na₂SO₄ и затем концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью Преп-ТСХ (ДХМ:МеОН=30:1) с получением 2060-С (147 мг, 78%) в виде желтого твердого вещества. МС 429,1 [M+H]⁺.

Синтез 34. Смесь 2060-С (124 мг, 0,29 ммоль) и Pd/C (124 мг) в МеОН/EtOAc (5/5 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч в атмосфере H₂. Pd/C удаляли фильтрованием через подушку из целита. Фильтрат концентрировали в вакууме и остаток очищали с помощью Преп-ТСХ (ДХМ:МеОН=20:1) с получением 34 (53 мг, 43%) в виде белого твердого вещества. МС 399,2. [M+H]⁺.

Соединения 35 синтезировали аналогично 34 путем использования пиразола в качестве реагента.

Соединение 35. 60 мг, 64%, белое твердое вещество.

Пример 16. Синтез соединения 41.



Синтез 2200-А. К смеси тиофен-2-илбороновой кислоты (14,1 г, 110 ммоль), 6-хлор-3-нитропиридин-2-амин (17,3 г, 100 ммоль) и K_2CO_3 (41,4 г, 300 ммоль) в диоксане/ H_2O (500/50 мл) добавляли $Pd(PPh_3)_4$ (5,8 г, 5,0 ммоль) в атмосфере азота. Реакционную смесь перемешивали при $100^\circ C$ в течение 2 ч и затем концентрировали в вакууме. Остаток растворяли в $EtOAc$ (200 мл) и раствор промывали солевым раствором (100 мл \times 3). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 и затем концентрировали в вакууме. Остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (ПЭ: $EtOAc$ =10:1-5:1) с получением 2200-А (20,4 г, 84%) в виде желтого твердого вещества. МС 222,0 $[M+H]^+$.

Синтез 2200-В. К перемешиваемому раствору 2200-А (4,42 г, 20 ммоль) в пиридине (80 мл) по каплям при $0^\circ C$ добавляли фенилкарбонхлоридат (3,12 г, 60 ммоль). После завершения добавления смесь перемешивали при $50^\circ C$ в течение 4 ч. Затем смесь концентрировали в вакууме и остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (ПЭ:ДХМ=3:2-1:1) с получением 2200-В (8,57 г, 93%) в виде желтого твердого вещества. МС 462,1 $[M+H]^+$.

Синтез 2200-Д. Смесь 2200-С (108 мг, 0,44 ммоль) и Pd/C (108 мг) в $EtOAc$ (15 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч в атмосфере H_2 . Pd/C удаляли фильтрованием через подушку из целита. Фильтрат концентрировали в вакууме и остаток очищали с помощью Преп-ТСХ ($EtOAc$:ПЭ=1:5) с получением 41 (100 мг, 92%) в виде белого твердого вещества. МС 250,1 $[M+H]^+$.

Синтез 2200-Е. К раствору 2200-Д (100 мг, 0,40 ммоль) в ДХМ (3 мл) по каплям при $^\circ C$ добавляли ТФК (1 мл). Полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч, а затем растворитель удаляли в вакууме с получением 2200-Е в виде неочищенного продукта, который использовали непосредственно на следующем этапе. МС 194,1 $[M+H]^+$.

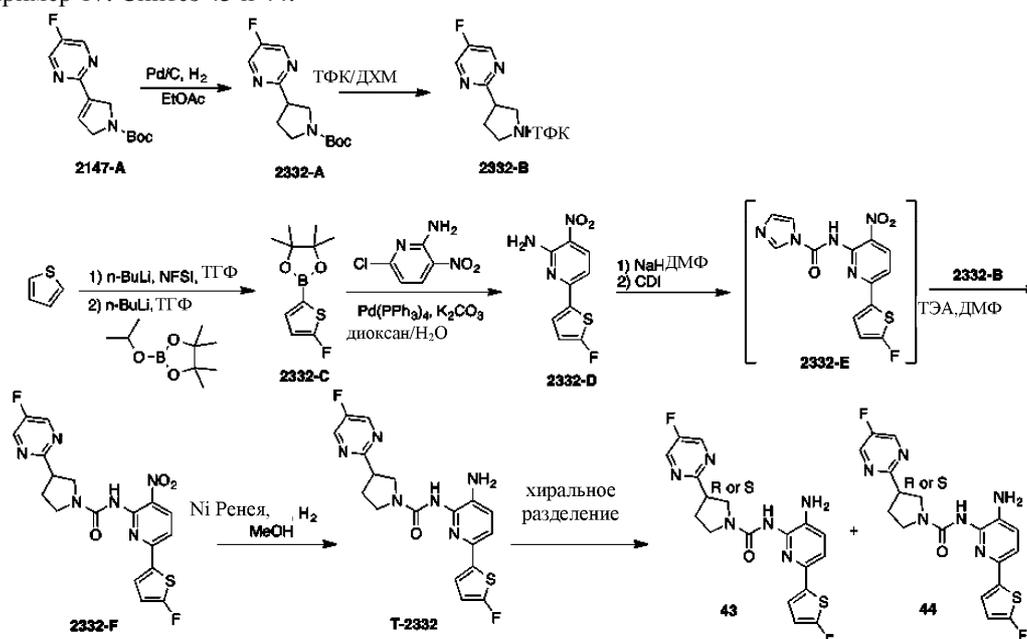
Синтез 2200-Ф. Смесь 2200-Е (0,4 ммоль, неочищенный продукт с предыдущего этапа) и 2200-В (103 мг, 0,22 ммоль) в ДМСО (6 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин, затем Na_2CO_3 (234 мг, 2,2 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Смесь разбавляли водой (30 мл) и экстрагировали $EtOAc$ (10 мл \times 3). Объединенные органические слои промывали рассолом (10 мл \times 3), сушили над безводным Na_2SO_4 и затем концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью Преп-ТСХ (ДХМ: $EtOAc$ =1:1) с получением 2200-Ф (80 мг, 91%) в виде желтого твердого вещества. МС 397,0 $[M+H]^+$.

Синтез 41. Смесь 2200-Ф (80 мг, 0,20 ммоль) и Ni Реня (80 мг) в $MeOH$ (15 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч в атмосфере H_2 . Ni Реня удаляли фильтрованием через подушку из целита. Фильтрат концентрировали в вакууме и остаток очищали с помощью Преп-ТСХ (ДХМ: $MeOH$ =20:1) с получением 41 (43 мг, 58%) в виде коричневого твердого вещества. МС 367,2 $[M+H]^+$.

Соединение 42 синтезировали аналогично 41 путем использования метил магний бромид и соответственно замещенного реагента бороновой кислоты.

Соединение 42. 23 мг, 31%, желтое твердое вещество.

Пример 17. Синтез 43 и 44.



Синтез 2332-А. Смесь 2147-А (1,0 г, 3,8 ммоль) и Pd/C (1,0 г) в $EtOAc$ (20 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч в атмосфере H_2 . Pd/C удаляли фильтрованием через подушку из целита. Фильтрат концентрировали в вакууме и остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (ПЭ: $EtOAc$ =5:1-3:1) с получением 2332-А (1,0 г, 99%) в виде белого твердого вещества. МС 268,1 $[M+H]^+$.

Синтез 2332-В. Раствор 2332-А (1,0 г, 3,7 ммоль) в ДХМ (21 мл) охлаждали до $0^\circ C$ и по каплям до-

бавляли ТФК (7 мл) при 0°C. Реакционной смеси давали нагреться до комнатной температуры и перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Затем растворитель удаляли в вакууме, а остаток растворяли в ДМФ (7 мл) и обрабатывали ТЕА (1,01 г, 10 ммоль) с получением 2332-В в качестве раствора, используемого непосредственно для следующего этапе. МС 168,1 [M+H]⁺.

Синтез 2332-С. К раствору тиофена (20,0 г, 238 ммоль) в ТГФ (500 мл) в атмосфере азота по каплям добавляли n-BuLi (100 мл, 250 ммоль) при минус 78°C и реакционную смесь перемешивали при минус 78°C в течение 1 ч в атмосфере азота. Затем к вышеуказанной смеси по каплям при минус 78°C добавляли N-фторбензолсульфонимид (78,8 г, 250 ммоль) в ТГФ (300 мл) и нагревали до комнатной температуры в течение 1 ч. Затем реакционную смесь охлаждали до минус 78°C и по каплям добавляли еще одну порцию n-BuLi (100 мл, 250 ммоль) при минус 78°C и перемешивали при минус 78°C в течение 1 ч. Наконец, к вышеуказанной смеси по каплям при минус 78°C добавляли 2-изопропоксид-4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан (46,5 г, 250 ммоль) в ТГФ (200 мл). Реакционной смеси давали нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение 16 ч. Смесь выливали в охлажденный насыщенный NH₄Cl (2000 мл), экстрагировали ПЭ (400 мл×3), и объединенные органические слои промывали рассолом (400 мл×3), сушили над безводным Na₂SO₄ и затем концентрировали в вакууме с получением 2332-С (32 г) в виде неочищенного продукта, используемого непосредственно на следующем этапе. МС 229,0 [M+H]⁺.

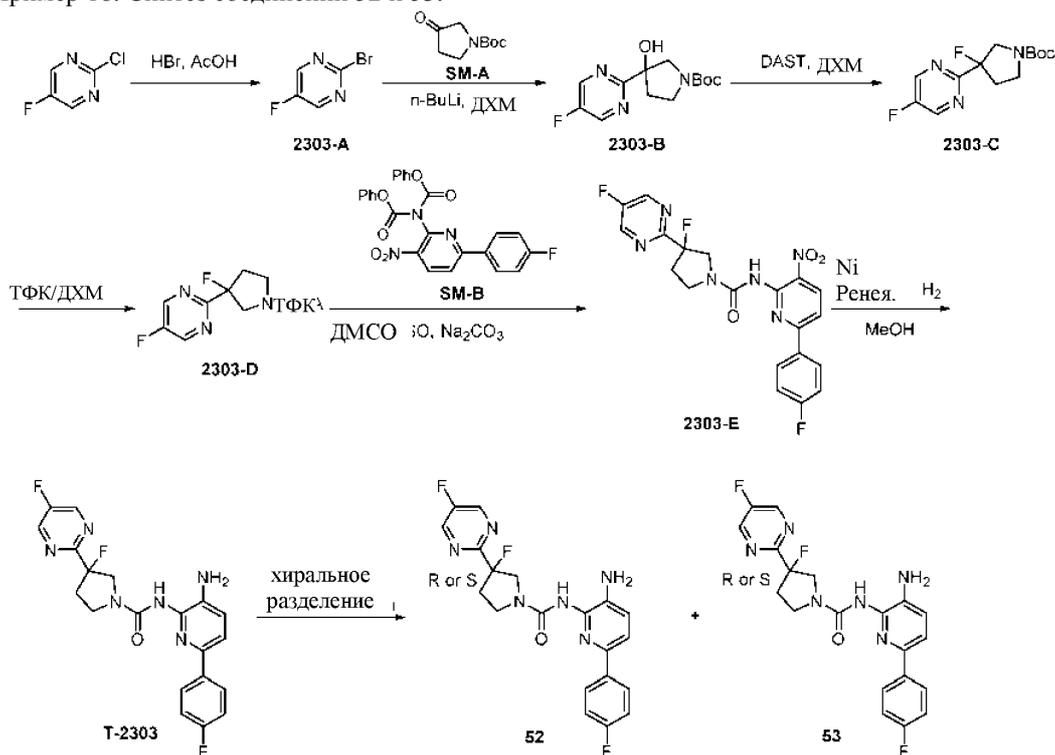
Синтез 2332-Д. Смесь 6-хлор-3-нитропиридин-2-амин (18,9 г, 109,6 ммоль), 2332-С (30 г, сырой продукт с предыдущего этапа) и K₂CO₃ (45,37 г, 328,8 ммоль) в диоксане/H₂O (400/40 мл) обрабатывали Pd(PPh₃)₄ (2,0 г) в атмосфере азота. Смесь перемешивали при 95°C в течение 3 ч и затем концентрировали в вакууме. Остаток растворяли в EtOAc (500 мл) и раствор промывали насыщенным соевым раствором (200 мл×3). Органический слой сушили над безводным Na₂SO₄ и затем концентрировали в вакууме. Остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (ПЭ:ДХМ=10:1-2:1) с получением 2332-Д (9,0 г, 34% (два этапа)) в виде желтого твердого вещества. МС 240,0 [M+H]⁺.

Синтез 2332-Е. Раствор 2332-Д (820 мг, 3,43 ммоль) в ДМФ (10 мл) охлаждали до 0°C и обрабатывали NaNH (60% в минеральном масле) (275 мг, 6,86 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 30 мин, затем к указанной выше смеси добавляли CDI (556 мг, 3,43 ммоль) и перемешивание продолжали при 0°C в течение еще 30 мин. Наконец, раствор 2332-В добавляли к указанной выше смеси при 0°C и перемешивали в течение 1 ч. Затем смесь гасили водой (60 мл) и экстрагировали EtOAc (30 мл×3). Объединенные органические слои промывали рассолом (30 мл×3), сушили над безводным Na₂SO₄ и затем концентрировали в вакууме. Остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (ДХМ:EtOAc=15:1-2:1) с получением 2332-Е (1,18 г, 80%) в виде желтого твердого вещества. МС 433,0 [M+H]⁺.

Синтез Т-2332. Смесь 2332-Е (1,18 г, 2,7 ммоль) и Ni Ренея (1,2 г) в MeOH (20 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч в атмосфере H₂. Ni Ренея удаляли фильтрованием через слой целита. Фильтрат концентрировали в вакууме и остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (ДХМ:MeOH=50:1-20:1) с получением Т-2332 (850 мг, 77%) в виде красного твердого вещества. МС 403,0 [M+H]⁺.

Хиральное разделение 43 и 44. Т-2332 (850 мг, 2,11 ммоль) разделяли хиральным разделением (коллонка: Chiralcel OJ-3; растворитель: MeOH; скорость потока: 2 мл/мин; RT₄₃=2,141 мин, RT₄₄=2,689 мин) с получением 43 (300 мг, 35%) в виде светло-фиолетового твердого вещества (МС 403,0 [M+H]⁺) и 44 (190 мг, 22%) в виде белого твердого вещества. МС 403,0 [M+H]⁺.

Пример 18. Синтез соединений 52 и 53.



Синтез 2303-A. 2-хлор-5-фторпиримидин (50 г, 378,0 ммоль) перемешивали в растворе HBr в AcOH (33 мас.%, 250 мл) при 40°C в течение 16 ч. Затем реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и осадок собирали фильтратом. Осадок на фильтре растворяли в EtOAc (500 мл) и подщелачивали до pH 9 с помощью насыщенного Na₂CO₃. Полученную смесь экстрагировали EtOAc (500 мл×2). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (100 мл×3), сушили над безводным Na₂SO₄ и затем концентрировали в вакууме. К остатку добавляли ПЭ (20 мл) и осадок собирали фильтрованием, затем сушили в вакууме с получением 2303-A (35,0 г, 53%) в виде светло-коричневого твердого вещества. МС 177,2 [M+H]⁺.

Синтез 2303-B. К раствору 2303-A (5,0 г, 28,4 ммоль) в ДХМ (70 мл) по каплям добавляли n-BuLi (13,6 мл, 34,1 ммоль) при минус 78°C и реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч в атмосфере N₂. Затем к смеси по каплям добавляли раствор SM-A (6,3 г, 34,1 ммоль) в ДХМ (20 мл). Полученную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 3 ч. Затем смесь разбавляли насыщенным NH₄Cl (100 мл), экстрагировали ДХМ (100 мл×3). Объединенный органический слой промывали рассолом (100 мл×3), сушили над безводным Na₂SO₄ и затем концентрировали в вакууме. Остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (ПЭ:EtOAc=10:1 к EtOAc) с получением 2303-B (550 мг) в виде неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали с помощью Преп-ВЭЖХ с получением 2303-B (177 мг, 2,2%) в виде коричневого твердого вещества. МС 284,2 [M+H]⁺.

Синтез 2303-C. Раствор 2303-B (1,6 г, 5,63 ммоль) в ДХМ (50 мл) обрабатывали DAST (3,2 мл) по каплям при минус 78°C в атмосфере N₂. Затем раствор нагревали до комнатной температуры и перемешивали 2 ч. Затем реакцию гасили ледяной водой, экстрагировали ДХМ (30 мл×3). Объединенный органический слой промывали рассолом (100 мл×3), сушили над безводным Na₂SO₄ и затем концентрировали в вакууме. Остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле. (ПЭ:EtOAc=10:1~1:1) с получением 2303-C (850 мг, 53%) в виде коричневого твердого вещества. МС 286,2 [M+H]⁺.

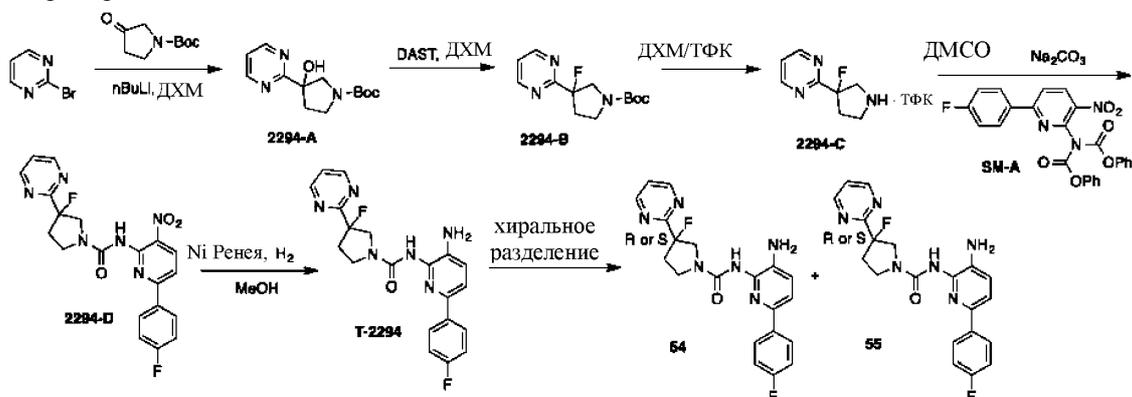
Синтез 2303-D. К раствору 2303-C (850 мг, 2,98 ммоль) в ДХМ (30 мл) при 0°C по каплям добавляли ТФК (4 мл). Затем раствору давали нагреться до комнатной температуры и перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Растворитель удаляли в вакууме с получением 2303-D в виде неочищенного продукта, который использовали непосредственно на следующем этапе.

Синтез 2303-E. К раствору SM-B (1,2 г, 2,48 ммоль) и 2303-D (1,1 г, неочищенный продукт с последнего этапа) в ДМСО (50 мл) добавляли Na₂CO₃ (3,2 г, 29,8 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре 2 ч. Смесь разбавляли водой (200 мл) и экстрагировали EtOAc (100 мл×3). Объединенные органические слои промывали рассолом (100 мл×3), сушили над безводным Na₂SO₄ и затем концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью Преп-ТСХ (ПЭ:EtOAc=1:5) с получением 2303-E (680 мг, 61%) в виде желтого твердого вещества. МС 445,2 [M+H]⁺.

Синтез 52 и 53. Смесь 2303-E (680 мг, 1,53 ммоль) и Ni Реня (680 мг) в MeOH (10 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч в атмосфере H₂. Затем Ni Реня удаляли фильтрованием

через целит. Фильтрат концентрировали и остаток очищали с помощью Преп-ТСХ (EA:MeOH=10:1) с получением T-2303 (600 мг, 94%) в виде желтого твердого вещества. Энантимеры разделяли при помощи хирального SFC (колонка: Chiralcel OJ-3; растворитель: MeOH; скорость потока=1,5 мл/мин; RT₅₂= 1,869 мин, RT₅₃=2,848 мин) с получением 52 (250 мг, 41%) в виде желтого твердого вещества. MS 415,2 [M+H]⁺. 53 (240 мг, 40%) в виде желтого твердого вещества. MS 415,2 [M+H]⁺.

Пример 19. Синтез 54 и 55.



Синтез 2294-А. К раствору 3-бромпиридазина (50,0 г, 314,5 ммоль) в ДХМ (400 мл) по каплям добавляли n-BuLi (2,5 М в гексане) (150 мл) при минус 78°C в атмосфере N₂ и реакционную смесь перемешивали при минус 78°C в течение 1 ч. Затем к указанной выше смеси добавляли раствор трет-бутил-3-оксопирролидин-1-карбоксилата (69,7 г, 377,0 ммоль) в ДХМ (200 мл), смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 3 ч. Реакционную смесь выливали в насыщенный NH₄Cl (300 мл), затем экстрагировали ДХМ (400 мл×3) и промывали солевым раствором (300 мл×3). Органический слой сушили над безводным Na₂SO₄ и затем концентрировали в вакууме. Остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (ПЭ:EtOAc=10:1 к EtOAc) с получением 2294-А (7,0 г) в виде неочищенного продукта. MS 266,2 [M+H]⁺.

Синтез 2294-В. Раствор 2294-А (7,0 г, неочищенный продукт с последнего этапа) в ДХМ (100 мл) охлаждали до минус 78°C и обрабатывали DAST (3,0 мл) по каплям, после чего реакционной смеси давали нагреться до комнатной температуры и перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Затем смесь разбавляли водой (100 мл) и экстрагировали ДХМ (50 мл×3). Объединенный органический слой промывали рассолом (80 мл×3), сушили над безводным Na₂SO₄ и затем концентрировали в вакууме. Остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (EtOAc:ПЭ=10:1~1:1) с получением 2294-В (2,5 г, 3%) (два этапа) в виде коричневого твердого вещества. MS 268,2 [M+H]⁺.

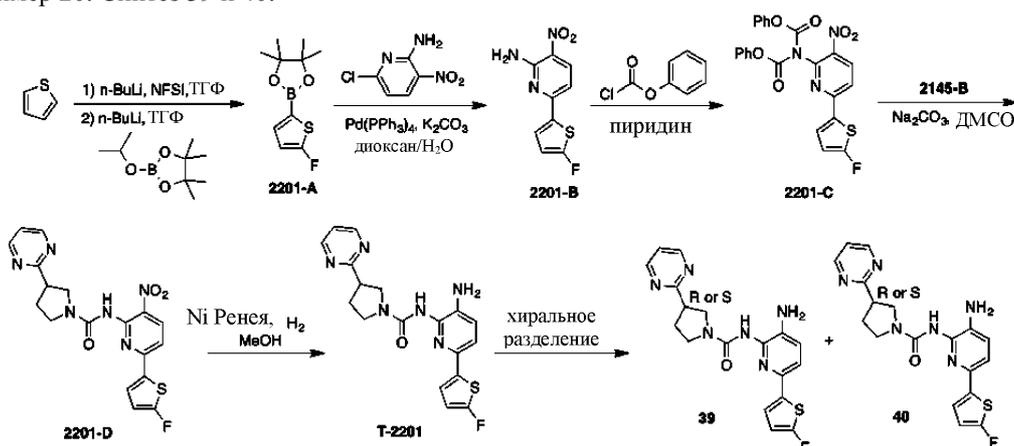
Синтез 2294-С Раствор 2294-В (2,5 г, 9,4 ммоль) в ДХМ (24 мл) охлаждали до 0°C и обрабатывали 8 мл ТФК. После добавления реакционной смеси давали нагреться до комнатной температуры и перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Раствор концентрировали в вакууме с получением 2294-С в виде неочищенного продукта, который использовали непосредственно на следующем этапе. MS 168,2 [M+H]⁺.

Синтез 2294-Д. Раствор SM-A (2,5 г, 5,3 ммоль) и 2294-С (9,4 ммоль, сырой продукт с последнего этапа) в ДМСО (50 мл) обрабатывали Na₂CO₃ (5,5 г, 52,2 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Затем смесь разбавляли водой (150 мл), экстрагировали EtOAc (100 мл×3) и объединенные органические слои промывали солевым раствором (100 мл×3), сушили над безводным Na₂SCL и затем концентрировали в вакууме. Остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (EtOAc-EtOAc:MeOH=30:1) с получением 2294-Д (1,4 г, 82%) в виде желтого твердого вещества. MS 427,2 [M+H]⁺.

Синтез T-2294. Смесь 2294-Д (1,4 г, 3,3 ммоль) и Ni Реня (1,0 г) в ДХМ/MeOH (10 мл/10 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч в атмосфере H₂. Затем Ni Реня удаляли фильтрованием через целит. Фильтрат концентрировали и остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (EtOAc-EtOAc:MeOH=10:1) с получением T-2294 (800 мг, 61%) в виде серого твердого вещества. MS 397,2 [M+H]⁺.

Хиральное разделение 55. T-2294 (800 мг, 2,02 ммоль) разделяли хиральным SFC (колонка: Chiralcel OJ-3; растворитель: MeOH; скорость потока=2 мл/мин; RT₅₅=2,599 мин) с получением 55 (226 мг, 17%) в виде желтого твердого вещества, (RT₅₄=1,854 мин) с получением 54 (226 мг, 17%) в виде желтого твердого вещества. MS 397,2 [M+H]⁺.

Пример 20. Синтез 39 и 40.



Синтез 2201-А. К раствору тиофена (20,0 г, 238 ммоль) в ТГФ (400 мл) по каплям добавляли $n\text{-BuLi}$ (2,5 М в гексане) (100 мл) при минус 78°C и реакционную смесь перемешивали при минус 78°C в течение 1 ч. Затем раствор NFSI (78,8 г, 250 ммоль) в ТГФ (400 мл) по каплям добавляли к вышеуказанному раствору при минус 78°C и реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 1 ч. Затем реакционную смесь снова охлаждали до минус 78°C , еще одну порцию $n\text{-BuLi}$ (2,5 М в гексане) (100 мл) добавляли по каплям в указанную выше смесь при минус 78°C и перемешивание продолжали при минус 78°C в течение 1 ч. Наконец, раствор 2-изопропокси-4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолана (46,5 г, 250 ммоль) в ТГФ (200 мл) добавляли к вышеуказанному раствору по каплям при минус 78°C . Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры в течение 16 ч. Реакционную смесь выливали в насыщенный NH_4Cl (1000 мл), затем экстрагировали ПЭ (300 мл \times 3) и промывали соевым раствором (300 мл \times 3). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 и затем концентрировали в вакууме с получением 2201-А (32 г) в виде неочищенного продукта. МС 147,1 [M-82]⁺.

Синтез 2201-В. Смесь 6-хлор-3-нитропиридин-2-амин (18,9 г, 109,6 ммоль), 2201-А (32 г, неочищенный продукт с последнего этапа) и K_2CO_3 (45,4 г, 328,8 ммоль) в диоксане/ H_2O (400 мл/40 мл) добавляли $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (2,0 г, 1,73 ммоль) в атмосфере N_2 . Смесь перемешивали при 95°C в течение 4 ч и затем концентрировали в вакууме. Остаток растворяли в EtOAc (300 мл) и раствор промывали соевым раствором (100 мл \times 3). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 и затем концентрировали в вакууме. Остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (ПЭ:ДХМ=10:1-2:1) с получением 2201-В (9,0 г, 34%) в виде желтого твердого вещества. МС 240,1 [M+H]⁺.

Синтез 2201-С. Перемешиваемый раствор 2201-В (460 мг, 1,92 ммоль) в пиридине (10 мл) обрабатывали фенилкарбонхлоридатом (900 мг, 5,77 ммоль) по каплям. После завершения добавления смесь перемешивали при 55°C в течение 2 ч. Смесь концентрировали в вакууме. Остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле. (ПЭ:ДХМ=20:1~1:3) с получением 2201-С (700 мг, 76%) в виде желтого твердого вещества. МС 479,8 [M+H]⁺.

Синтез 2201-Д. К раствору 2201-С (106 мг, 0,22 ммоль) и 2145-В (200 мг, 0,40 ммоль) в ДМСО (10 мл) добавляли Na_2CO_3 (233 мг, 2,2 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Смесь разбавляли водой (30 мл), экстрагировали EtOAc (20 мл \times 3). Объединенные органические слои промывали рассолом (20 мл \times 3), сушили над безводным Na_2SO_4 и затем концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью Преп-ТСХ (ПЭ:EA=1:5) с получением 2201-Д (75 мг, 82%) в виде желтого твердого вещества. МС 415,2 [M+H]⁺.

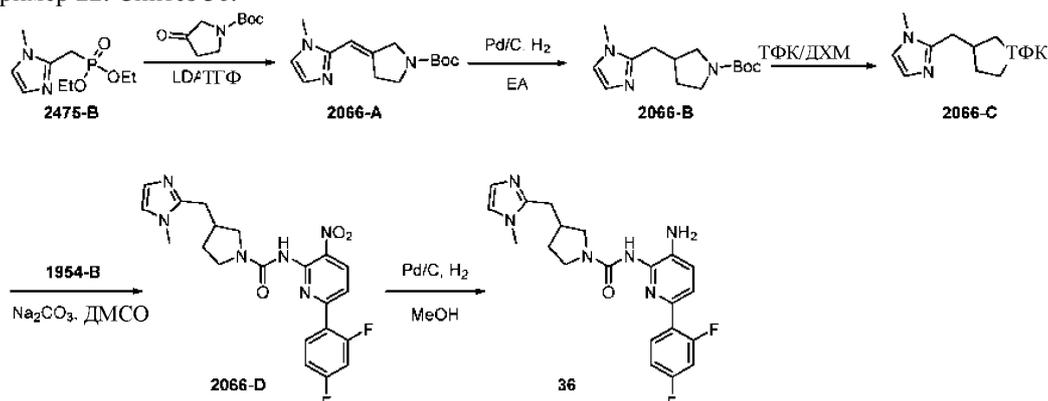
Синтез Т-2201. Смесь 2201-Д (75 мг, 0,18 ммоль) и Ni Ренея (75 мг) в ДХМ/MeOH (3 мл/5 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 0,5 ч. Ni Ренея удаляли фильтрованием через целит. Фильтрат концентрировали и остаток очищали с помощью Преп-ТСХ (EA:MeOH=10: 1) с получением Т-2201 (15 мг, 22%) в виде серого твердого вещества. МС 385,2 [M+H]⁺.

Хиральное разделение 39 и 40. Т-2201 (1,0 г, 2,6 ммоль) разделяли хиральным разделением (колонок: Chiralcel OJ-3; растворитель: MeOH; скорость потока: 1,5 мл/мин; RT_{39} = 2,225 мин, RT_{40} =2,667 мин) с получением 39 (300 мг, 30%) в виде коричневого твердого вещества (МС 385,0 [M+H]⁺) и 40 (300 мг, 30%) в виде фиолетового твердого вещества. МС 385,0 [M+H]⁺.

Соединение 49 синтезировали аналогично 39 и 40 с использованием соответственно замещенных реагентов бороновой кислоты и арилбромида.

Соединение 49. 30 мг, 23%, желтое твердое вещество.

Пример 22. Синтез 36.



Синтез 2066-А. Раствор 2475-В (400 мг, 1,7 ммоль) в ТГФ (10 мл) обрабатывали LDA (2,6 мл, 5,2 ммоль) по каплям при минус 78°С в атмосфере азота и перемешивали в течение 1 ч при минус 78°С. Затем раствор трет-бутил-3-оксоазетидин-1-карбоксилата (414 мг, 2,2 ммоль) в ТГФ (5 мл) добавляли к вышеуказанной смеси по каплям при минус 78°С, а затем реакционной смеси давали нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение 16 ч. Смесь разбавляли насыщенным NH₄Cl (40 мл), экстрагировали EtOAc (30 мл×3). Объединенные органические слои промывали соевым раствором (30 мл×3), сушили над безводным Na₂SO₄ и затем концентрировали в вакууме. Остаток очищали колонной хроматографией на силикагеле (ПЭ:EtOAc=3:1-EtOAc) с получением 2066-А (380 мг, 84%) в виде бесцветного масла. МС 264,2 [M+H]⁺.

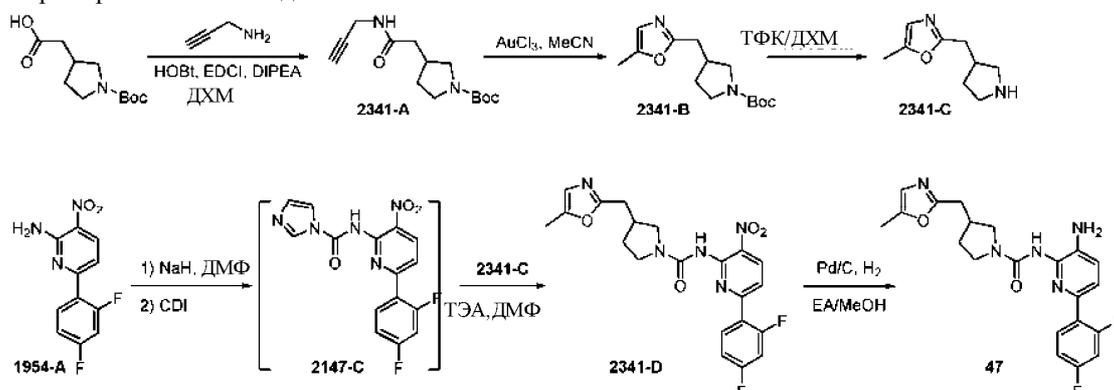
Синтез 2066-В. Смесь 2066-А (380 мг, 1,4 ммоль) и Pd/C (380 мг) в EtOAc (10 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч в атмосфере H₂. Затем Pd/C удаляли фильтрованием через подушку из целита. Фильтрат концентрировали в вакууме и остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (ПЭ:EtOAc=3:1-EtOAc), с получением 2066-В (300 мг, 79%) в виде бесцветного масла. МС 266,2 [M+H]⁺.

Синтез 2066-С. К раствору 2066-В (150 мг, 0,57 ммоль) в ДХМ (6 мл) по каплям при 0°С добавляли ТФК (2 мл). Реакционной смеси давали нагреться до комнатной температуры и перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Раствор концентрировали в вакууме с получением 2066-С в виде сырого продукта, который непосредственно использовали на следующем этапе. МС 166,2 [M+H]⁺.

Синтез 2066-Д. Смесь 2066-С (0,57 ммоль, неочищенный продукт с предыдущего этапа) и 1954-В (154 мг, 0,32 ммоль) в ДМСО (6 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин, затем Na₂CO₃ (339 мг, 3,2 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Затем смесь разбавляли водой (20 мл) и экстрагировали EtOAc (10 мл×3). Объединенные органические слои промывали рассолом (10 мл×3), сушили над безводным Na₂SO₄ и затем концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью Преп-ТСХ (EtOAc:MeOH=40:1) с получением 2066-Д (100 мг, 73%) в виде желтого твердого вещества. МС 443,1 [M+H]⁺.

Синтез 36. Смесь 2066-Д (100 мг, 0,23 ммоль) и Pd/C (100 мг) в MeOH/EtOAc (5 мл/5 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 50 мин в атмосфере H₂. Pd/C удаляли фильтрованием через подушку из целита. Фильтрат концентрировали в вакууме и остаток очищали с помощью Преп-ТСХ (ДХМ:MeOH=30:1) с получением 36 (40 мг, 42%) в виде желтого твердого вещества. МС 413,0 [M+H]⁺.

Пример 23. Синтез соединения 47.



Синтез 2341-А. К раствору 2-(1-(трет-бутоксикарбонил)пирролидин-3-ил)уксусной кислоты (1,15 г, 5,0 ммоль), HOBT (810 мг, 6,0 ммоль) и EDCI (1,44 г, 7,5 ммоль) в ДХМ (20 мл) добавляли DIPEA (1,94 г, 15,0 ммоль) и перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин в атмосфере азота. Затем к указанной выше смеси добавляли раствор проп-2-ин-1-амина (413 мг, 7,5 ммоль) в ДХМ (10 мл) и полу-

ченную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 24 ч. Смесь разбавляли ДХМ (30 мл), промывали 0,5 н. HCl (20 мл×2), насыщенным Na₂CO₃ (20 мл×2) и соевым раствором (20 мл×2). Органический слой сушили над безводным Na₂SO₄ и затем концентрировали в вакууме. Остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (ПЭ:EtOAc=10:1-2:1) с получением 2341-A (1,0 г, 75%) в виде окрашенного масла. МС 211,0 [M-55]⁺.

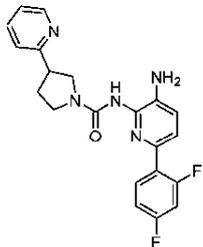
Синтез 2341-B. Раствор 2341-A (580 мг, 2,2 ммоль) в ацетонитриле (20 мл) обрабатывали трихлоридом золота (50 мг, 0,075 ммоль) и реакцию смесь перемешивали при 45°C в течение 72 ч в атмосфере азота. Смесь концентрировали в вакууме. Остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (ПЭ EtOAc=10:1-1:1) с получением 2341-B (380 мг, 66%) в виде бесцветного масла. МС 267,0 [M+H]⁺.

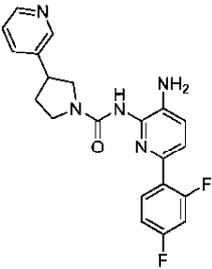
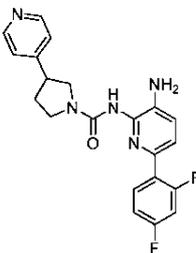
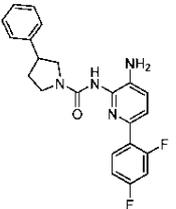
Синтез 2341-C. Раствор 2341-B (380 мг, 1,4 ммоль) в ДХМ (12 мл) охлаждали до 0°C, а затем по каплям добавляли ТФК (4 мл). После добавления реакционной смеси давали нагреться до комнатной температуры и перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Затем реакционную смесь концентрировали в вакууме с получением 2341-C в виде сырого продукта. Затем остаток растворяли в ДМФ (6 мл) и обрабатывали TEA (424 мг, 4,2 ммоль) с получением 2341-C в виде раствора, который использовали непосредственно на следующем этапе. МС 167,0 [M+H]⁺.

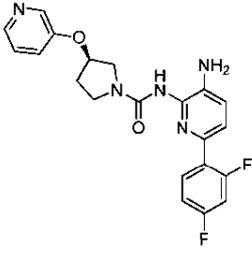
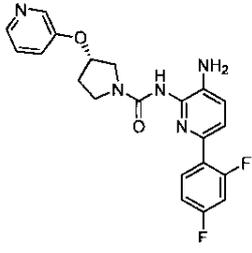
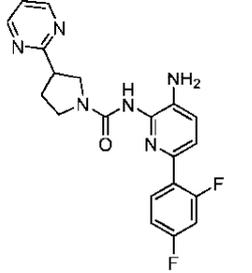
Синтез 2341-D. Раствор 1954-A (252 мг, 1,0 ммоль) в ДМФ (5 мл) охлаждали до 0°C и обрабатывали NaNH (60% в минеральном масле, 80 мг, 2,0 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 30 мин, затем добавляли CDI (162 мг, 1,0 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение еще 30 мин. Наконец, раствор 2341-C добавляли к указанной выше смеси при 0°C и смесь перемешивали при 0°C в течение 1 ч. Смесь гасили водой (50 мл) и экстрагировали EtOAc (20 мл×3). Объединенные органические слои промывали рассолом (20 мл×3), сушили над безводным Na₂SO₄ и затем концентрировали в вакууме. Остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (ПЭ:EtOAc=10:1-1:2) с получением 2341-D (280 мг, 63%) в виде желтого твердого вещества. МС 444,1 [M+H]⁺.

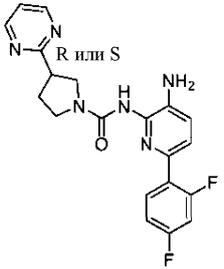
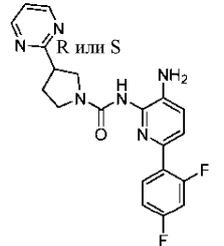
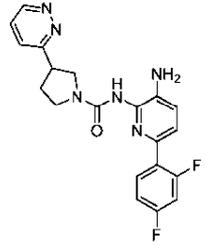
Синтез 47. Смесь 2341-D (280 мг, 0,63 ммоль) и Pd/C (280 мг) в MeOH/EtOAc (10 мл/10 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч в атмосфере H₂. Pd/C удаляли фильтрованием через подушку из целита. Фильтрат концентрировали в вакууме и остаток очищали Преп-ВЭЖХ с получением 47 (220 мг, 85%) в виде светло-желтого твердого вещества. МС 414,2 [M+H]⁺.

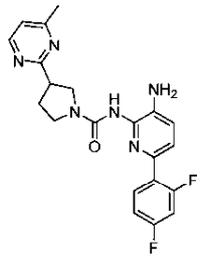
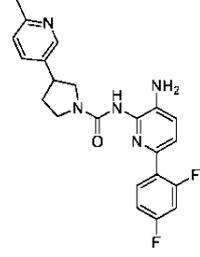
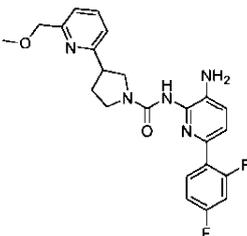
Таблица 1

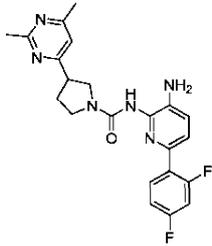
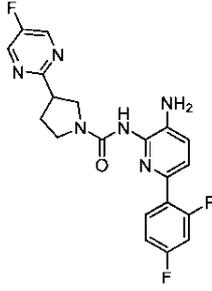
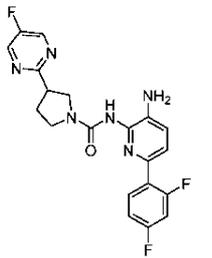
№	Структура	МС рассч	МС найд	¹ H ЯМР данные (400 МГц, DMSO-d ₆)
1		395	396	δ 8,54 (d, J = 4,8 Гц, 1H), 8,32 (s, 1H), 7,98 - 7,92 (m, 1H), 7,78 - 7,76 (m, 1H), 7,38 (d, J = 7,6 Гц, 2H), 7,31 - 7,26 (m, 2H), 7,18 - 7,13 (m, 2H), 5,23 (s, 2H), 3,88 - 3,86 (m, 1H), 3,69 - 3,46 (m, 4H), 2,32 - 2,29 (m, 1H), 2,17-2,13 (m, 1H).

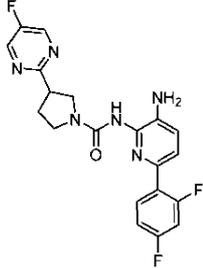
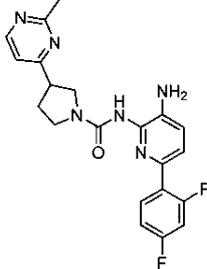
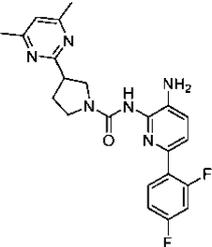
2		395	396	<p>δ 8,57 (d, $J = 8,0$ Гц, 1H), 8,47 (dd, $J = 4,8, 1,2$ Гц, 1H), 8,35 (s, 1H), 7,98 - 7,92 (m, 1H), 7,76 (d, $J = 8,0$ Гц, 1H), 7,40 - 7,26 (m, 3H), 7,18 - 7,14 (m, 2H), 5,24 (s, 2H), 3,96 - 3,91 (m, 1H), 3,70 - 3,66 (m, 1H), 3,53 - 3,33 (m, 3H), 2,35 - 2,30 (m, 1H), 2,10 - 2,00 (m, 1H).</p>
3		395	396	<p>δ 8,53 - 8,51 (m, 2H), 8,36 (s, 1 H), 7,98 - 7,91 (m, 1H), 7,40 - 7,35 (m, 3H), 7,32 - 7,26 (m, 1H), 7,18- 7,14 (m, 2H), 5,23 (s, 2H), 3,94 - 3,90 (m, 1H), 3,66 -3,63 (m, 1H), 3,50 - 3,41 (m, 3 H), 2,33 - 2,31 (m, 1H), 2,05 - 1,98 (m, 1H).</p>
4		394	395	<p>δ 8,32 (s, 1H), 7,98 - 7,92 (m, 1H), 7,40 - 7,24 (m, 7H), 7,16 - 7,14 (m, 2H), 5,23 (s, 2H), 3,93 - 3,89 (m, 1H), 3,69 - 3,65 (m, 1H), 3,49 - 3,21 (m, 3H), 2,29 - 2,27 (m, 1H), 2,04 - 1,99 (m, 1H).</p>

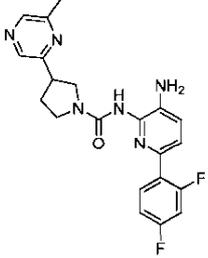
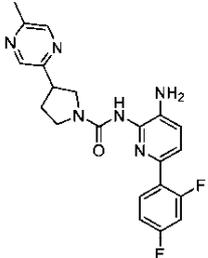
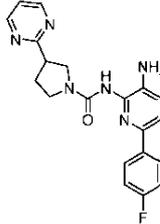
5		411	412	δ 8,39 (s, 1H), 8,19 (dd, $J = 5,2, 1,2$ Гц, 1H), 7,94 - 7,90 (m, 1H), 7,75 - 7,71 (m, 1H), 7,40 - 7,39 (m, 1H), 7,32 - 7,18 (m, 1H), 7,16 - 7,02 (m, 2H), 7,01 - 6,99 (m, 1H), 6,85 (d, $J = 8,4$ Гц, 1H), 5,71 (s, 1H), 3,79 - 3,76 (m, 1H), 3,67 - 3,38 (m, 3H), 2,27 - 2,13 (m, 2 H).
6		411	412	δ 8,39 (s, 1H), 8,20 - 8,18 (m, 1H), 7,97 - 7,90 (m, 1H), 7,75 - 7,71 (m, 1H), 7,38 (dd, $J = 8,0, 2,4$ Гц, 1H), 7,31 - 7,25 (m, 1H), 7,17 - 7,13 (m, 2H), 7,00 (dd, $J = 6,0, 5,2$ Гц, 1H), 6,85 (d, $J = 8,0$ Гц, 1H), 5,57 (s, 1H), 5,21 (s, 2H), 3,79 - 3,53 (m, 4H), 2,27 - 2,07 (m, 2H),
7		396	397	δ 8,80 (d, $J = 4,8$ Гц, 2H), 8,34 (s, 1H), 7,98 - 7,91 (m, 1H), 7,42 - 7,37 (m, 2H), 7,32 - 7,26 (m, 1H), 7,18 - 7,13 (m, 2H), 5,23 (s, 2H), 3,90 - 3,87 (m, 1H), 3,77 - 3,75 (m, 2H), 3,64 - 3,59 (m, 1H), 3,55 - 3,51 (m, 1H), 2,36 - 2,33 (m, 1H), 2,27 - 2,22 (m, 1H).

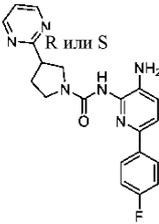
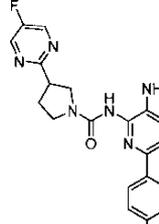
8E1		396	397	δ 8,79(t, $J = 4,8$ Гц, 2H), 8,33 (s, 1H), 7,98 - 7,91 (m, 1H), 7,42 - 7,37 (m, 2H), 7,31 - 7,25 (m, 1H), 7,17 - 7,13 (m, 2H), 5,22 (s, 2H), 3,90 - 3,87 (m, 1H), 3,76 - 3,75 (m, 2H), 3,65 - 3,60 (m, 1H), 3,56 - 3,49 (m, 1H), 2,37 - 2,33 (m, 1H), 2,28 - 2,22 (m, 1H).
8E2		396	397	δ 8,79(t, $J = 4,8$ Гц, 2H), 8,33 (s, 1H), 7,98 - 7,91 (m, 1H), 7,42 - 7,37 (m, 2H), 7,31 - 7,25 (m, 1H), 7,17 - 7,13 (m, 2H), 5,22 (s, 2H), 3,90 - 3,87 (m, 1H), 3,76 - 3,75 (m, 2H), 3,65 - 3,60 (m, 1H), 3,56 - 3,49 (m, 1H), 2,37 - 2,33 (m, 1H), 2,27 - 2,22 (m, 1H).
9		396	397	δ 9,14 - 9,12 (m, 1H), 8,36 (s, 1H), 7,96 - 7,90 (m, 1H), 7,71 - 7,65 (m, 2H), 7,37 (dd, $J = 8,4, 2,4$ Гц, 1H), 7,30 - 7,24 (m, 1H), 7,16 - 7,11 (m, 2H), 5,22 (s, 2H), 3,97 - 3,93 (m, 1H), 3,80 - 3,76 (m, 1H), 3,68 - 3,65 (m, 2H), 3,55 - 3,49 (m, 1H), 2,39 - 2,31 (m, 1H), 2,21 - 2,18 (m, 1H).

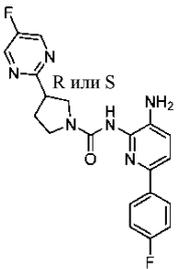
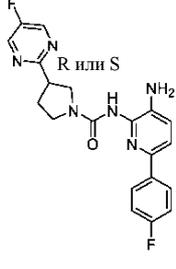
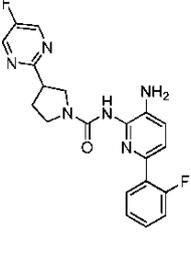
10		410	411	δ 8,62 (d, $J=5,2$ Гц, 2H), 8,32 (s, 1H), 7,98 - 7,91 (m, 1H), 7,31 - 7,28 (m, 2H), 7,17 - 7,13 (m, 2H), 5,22 (s, 2H), 3,90 - 3,86 (m, 1H), 3,76 - 3,64 (m, 3H), 3,52 - 3,49 (m, 1H), 2,46 (s, 3H), 2,33 - 2,23 (m, 2H).
11		409	410	δ 8,41 (d, $J=2,4$ Гц, 1H), 8,01 - 7,95 (m, 1H), 7,58 (dd, $J=8,0, 2,4$ Гц, 1H), 7,45 (dd, $J=8,0, 4,8$ Гц, 1H), 7,19 - 1,17 (m, 3H), 7,07 - 6,98 (m, 2H), 4,74 (s, 2H), 3,95 - 3,91 (m, 1H), 3,73 - 3,69 (m, 1H), 3,56 - 3,38 (m, 3H), 2,47 (s, 3H), 2,35 - 2,34 (m, 1H), 2,18 - 1,93 (m, 1H).
12		439	440	δ 8,33 (s, 1H), 7,98 - 7,92 (m, 1H), 7,78 (t, $J=7,6$ Гц, 1H), 7,38 (dd, $J=8,0, 2,0$ Гц, 1H), 7,32 - 7,26 (m, 3H), 7,18 - 7,14 (m, 2H), 5,23 (s, 2H), 4,48 (s, 2H), 3,69 - 3,87 (m, 1H), 3,59 - 3,48 (m, 4H), 3,37 (s, 3H), 2,28 - 2,27 (m, 1H), 2,16 - 2,11 (m, 1H).

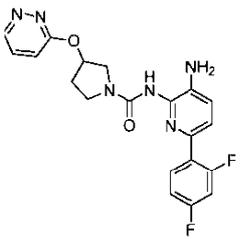
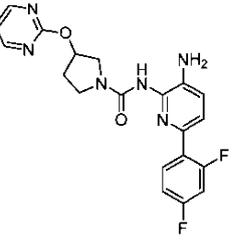
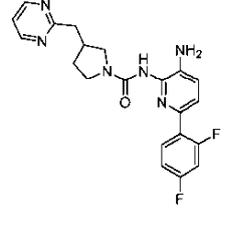
13		424	425	δ 8,35 (s, 1 H), 7,97 - 7,91 (m, 1H), 7,40 - 7,37 (m, 1H), 7,32 - 7,26 (m, 1H), 7,18 - 7,13 (m, 3H), 5,22 (s, 2H), 3,83 (t, $J = 7,6$ Гц, 1H), 3,67 - 3,60 (m, 2H), 3,57 - 3,46 (m, 2H), 2,55 (s, 3H), 2,51 (s, 3H), 2,50 - 2,39 (m, 1 H), 2,33 - 2,10 (m, 1H).
14		414	415	δ 8,89 (d, $J = 0,8$ Гц, 2H), 8,35 (s, 1H), 7,97 - 7,91 (m, 1H), 7,40 - 7,37 (m, 1H), 7,32 - 7,26 (m, 1H), 7,18 - 7,13 (m, 2H), 5,22 (s, 2H), 3,94 - 3,88 (m, 1H), 3,80 - 3,72 (m, 2H), 3,61 - 3,59 (m, 1H), 3,55 - 3,52 (m, 1H), 2,38 - 2,33 (m, 1H), 2,25 - 2,22 (m, 1H).
14E1		414	415	δ 8,88 (s, 2H), 8,54 (s, 1H), 7,97-7,91 (m, 1H), 7,38 (dd, $J = 8,4, 2,4$ Гц, 1H), 7,31 - 7,25 (m, 1H), 7,18-7,13 (m, 2H), 5,22 (s, 2H), 3,92-3,88 (m, 1H), 3,80-3,71 (m, 2H), 3,62-3,59 (m, 1H), 3,53 - 3,51 (m, 1H), 2,36 - 2,32 (m, 1H), 2,32 - 2,22 (m, 1H),

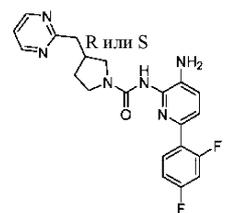
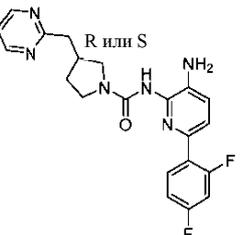
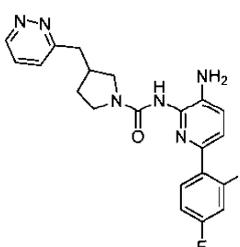
14E2		414	415	δ 8,88 (s, 2H), 8,54 (s, 1H), 7,97 - 7,91 (m, 1H), 7,38 (dd, $J=8,4, 2,4$ Гц, 1H), 7,31 - 7,25 (m, 1H), 7,18 - 7,13 (m, 2H), 5,22 (s, 2H), 3,92 - 3,88 (m, 1H), 3,80 - 3,71 (m, 2H), 3,62 - 3,59 (m, 1H), 3,53 - 3,51 (m, 1H), 2,36 - 2,32 (m, 1H), 2,32 - 2,22 (m, 1H).
15		410	411	CD3CN как растворитель. δ 8,56 (d, $J = 5,2$ Гц, 1H), 8,02 - 7,96 (m, 1H), 7,46 (dd, $J = 8,0, 2,4$ Гц, 1H), 7,19 - 7,14 (m, 3H), 7,07 - 6,98 (m, 2H), 4,73 (s, 2H), 3,91 - 3,87 (m, 1H), 3,72 - 3,67 (m, 2H), 3,60 - 3,54 (m, 2H), 2,62 (s, 3H), 2,37 - 2,36 (m, 1H), 2,23 - 2,15 (m, 1H).
16		424	425	δ 8,33 (s, 1H), 7,98 - 7,91 (m, 1H), 7,38 (dd, $J = 8,0,$ 2,4 Гц, 1H), 7,32 - 7,26 (m, 1H), 7,17 - 7,14 (m, 3H), 5,22 (s, 2H), 3,88 - 3,84 (m, 1H), 3,74 - 3,63 (m, 3H), 3,16 - 3,48 (m, 1H), 2,41 (s, 6H), 2,30 - 2,19 (m, 2H).

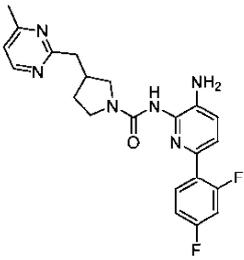
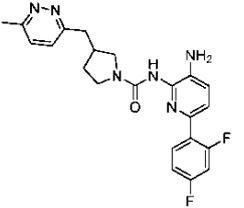
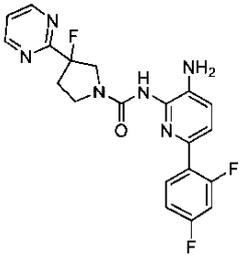
17		410	411	δ 8,44 (s, 1H), 8,41 (s, 1H), 8,33 (s, 1H), 7,95 - 7,89 (m, 1H), 7,36 (dd, $J = 8,0, 2,4$ Гц, 1H), 7,30 - 7,24 (m, 1H), 7,16 - 7,11 (m, 2H), 5,20 (s, 2H), 3,89 - 3,85 (m, 1H), 3,69 - 3,47 (m, 4H), 2,48 (s, 3H), 2,30 - 2,16 (m, 1H), 2,13 - 2,10 (m, 1H).
18		410	411	δ 8,54 (s, 1H), 8,51 (s, 1H), 8,35 (s, 1H), 7,98 - 7,91 (m, 1H), 7,39 (dd, $J = 8,0, 2,4$ Гц, 1H), 7,32 - 7,26 (m, 1H), 7,18 - 7,13 (m, 2H), 5,22 (s, 2H), 3,89 (t, $J = 4,0$ Гц, 1H), 3,67 - 3,64 (m, 2H), 3,59 - 3,49 (m, 2H), 2,18 (s, 3H), 2,33 - 2,29 (m, 1H), 2,17 - 2,14 (m, 1H).
19		378	379	δ 8,81 (t, $J = 3,6$ Гц, 2H), 8,31 (s, 1H), 7,99 - 7,95 (m, 2H), 7,53 (d, $J = 8,4$ Гц, 1H), 7,41 (t, $J = 4,8$ Гц, 1H), 7,24 - 7,15 (m, 3H), 5,13 (s, 2H), 3,90 - 3,87 (m, 1H), 3,78 - 3,72 (m, 2H), 3,65 - 3,60 (m, 1H), 3,56 - 3,50 (m, 1H), 2,38 - 2,32 (m, 1H), 2,28 - 2,22 (m, 1H).

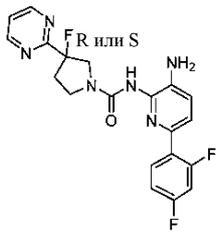
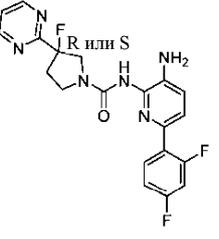
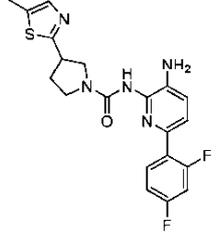
19E1		378	379	δ 8,81 (d, $J = 4,8$ Гц, 2H), 8,32(s, 1H), 7,99 - 7,96 (m, 2H), 7,54 (d, $J = 8$ Гц, 1H), 7,42 (t, $J = 4,8$ Гц, 1H), 7,24 - 7,19 (m, 2H), 7,16 (d, $J = 8$ Гц, 1H), 5,14 (s, 2H), 3,93 - 3,87 (m, 1H), 3,78 - 3,75 (m, 2H), 3,65 - 3,62 (m, 1H), 3,56 - 3,50 (m, 1H), 2,38 - 2,33 (m, 1H), 2,29 - 2,22 (m, 1H).
19E2		378	379	δ 8,81 (d, $J = 4,8$ Гц, 2H), 8,32(s, 1H), 7,99 - 7,96 (m, 2H), 7,54 (d, $J = 8$ Гц, 1H), 7,42 (t, $J = 4,8$ Гц, 1H), 7,24 - 7,19 (m, 2H), 7,16 (d, $J = 8$ Гц, 1H), 5,14 (s, 2H), 3,93 - 3,87 (m, 1H), 3,78 - 3,75 (m, 2H), 3,65 - 3,62 (m, 1H), 3,56 - 3,50 (m, 1H), 2,38 - 2,33 (m, 1H), 2,29 - 2,22 (m, 1H).
20		396	397	δ 8,89 (s, 2H), 8,32 (s, 1H), 7,99 - 7,95 (m, 2H), 7,54 (d, $J = 8$ Гц, 1H), 7,24 - 7,15 (m, 3H), 5,12 (s, 2H), 3,94 (t, $J = 6$ Гц, 1H), 3,80 - 3,72 (m, 2H), 3,63 - 3,60 (m, 1H), 3,56 - 3,50 (m, 1H), 2,37 - 2,32 (m, 1H), 2,26 - 2,21 (m, 1H).

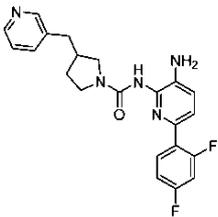
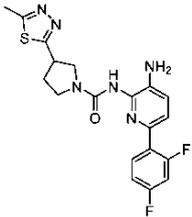
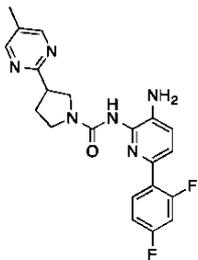
20E1		396	397	δ 8,89 (s, 2H), 8,32 - 8,28 (m, 1H), 7,97 (dd, $J = 8,8, 5,6$ Гц, 2H), 7,54 (d, $J = 8,0$ Гц, 1H), 7,22 (t, $J = 8,8$ Гц, 2H), 7,16 (d, $J = 8,0$ Гц, 1H), 5,13 (s, 2H), 3,93 - 3,89 (m, 1H), 3,80 - 3,71 (m, 2H), 3,65 - 3,59 (m, 1H), 3,56 - 3,52 (m, 1H), 2,38 - 2,34 (m, 1H), 2,27 - 2,21 (m, 1H).
20E2		396	397	δ 8,89 (s, 2H), 8,32 - 8,28 (m, 1H), 7,97 (dd, $J = 8,8, 5,6$ Гц, 2H), 7,54 (d, $J = 8,0$ Гц, 1H), 7,22 (t, $J = 8,8$ Гц, 2H), 7,16 (d, $J = 8,0$ Гц, 1H), 5,13 (s, 2H), 3,93 - 3,89 (m, 1H), 3,80 - 3,71 (m, 2H), 3,65 - 3,59 (m, 1H), 3,56 - 3,52 (m, 1H), 2,38 - 2,34 (m, 1H), 2,27 - 2,21 (m, 1H).
21		396	397	δ 8,89 (s, 2H), 8,34 (s, 1H), 7,93 - 7,88 (m, 1H), 7,41 (dd, $J = 8, 2,4$ Гц, 1H), 7,37 - 7,31 (m, 1H), 7,27 - 7,22 (m, 2H), 7,16 (d, $J = 8$ Гц, 1H), 5,20 (d, $J = 3,6$ Гц, 2H), 3,90 (t, $J = 7,2$ Гц, 1H), 3,80 - 3,70 (m, 2H), 3,65 - 3,59 (m, 1H), 3,56 - 3,52 (m, 1H), 2,38 - 2,32 (m, 1H), 2,25 - 2,20 (m, 1H).

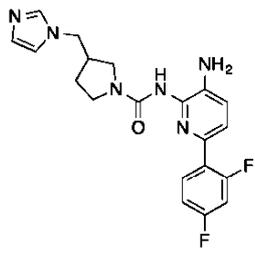
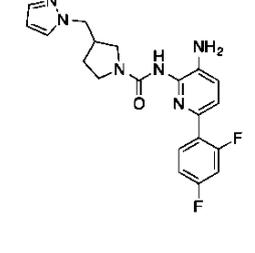
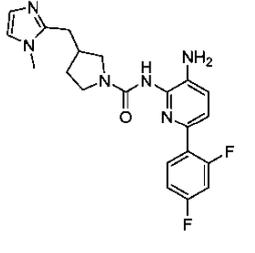
22		412	413	δ 8,92 - 8,91 (m, 1H), 8,40 (s, 1H), 7,96 - 7,90 (m, 1H), 7,67 - 7,63 (m, 1H), 7,39 - 7,37 (m, 1H), 7,32 - 7,25 (m, 2H), 7,17 - 7,13 (m, 2H), 5,77 (s, 1H), 5,22 (s, 2H), 3,83 (q, $J = 4,0$ Гц, 1H), 3,70 (q, $J = 5,6$ Гц, 2H), 3,59 - 3,55 (m, 1H), 2,33 - 2,23 (m, 1H), 2,23 - 2,22 (m, 1H).
23		412	413	δ 8,64 (d, $J = 4,8$ Гц, 2H), 8,39 (s, 1H), 7,98 - 7,91 (m, 1H), 7,39 - 7,36 (m, 1H), 7,31 - 7,25 (m, 1H), 7,19 - 7,13 (m, 3H), 5,55 (s, 1H), 5,21 (s, 2H), 3,77 (q, $J = 3,6$ Гц, 1H), 3,66 (t, $J = 7,2$ Гц, 2H), 3,58 - 3,54 (m, 1H), 2,29 - 2,53 (m, 1H), 2,20 - 2,17 (m, 1H).
24		410	411	δ 8,74 (d, $J = 5,2$ Гц, 2H), 8,22 (s, 1H), 7,95 - 7,88 (m, 1H), 7,35 (t, $J = 4,8$ Гц, 2H), 7,29 - 7,23 (m, 1H), 7,16 - 7,12 (m, 2H), 5,18 (s, 2H), 3,60 - 3,53 (m, 2H), 3,39 - 3,35 (m, 1H), 3,12 - 3,07 (m, 1H), 3,04 - 2,94 (m, 2H), 2,76 - 2,48 (m, 1H), 2,01 - 1,97 (m, 1H), 1,68 - 1,64 (m, 1H).

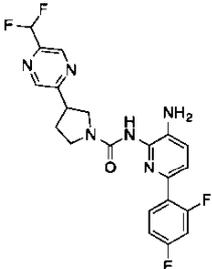
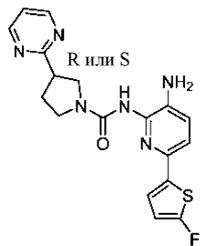
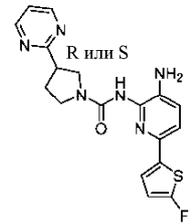
25E1		410	411	δ 8,76 (d, $J = 4,8$ Гц, 2H), 8,24 (s, 1H), 7,97 - 7,90 (m, 1H), 7,38 - 7,36 (m, 2H), 7,31 - 7,25 (m, 1H), 7,18 - 7,13 (m, 2H), 5,20 (s, 2H), 3,63 - 3,53 (m, 2H), 3,45 - 3,41 (m, 1H), 3,12 (t, $J = 8,0$ Гц, 1H), 3,04 - 2,95 (m, 2H), 2,78 - 2,75 (m, 1H), 2,05 - 2,02 (m, 1H), 1,70 - 1,66 (m, 1H).
25E2		410	411	δ 8,76 (d, $J = 4,8$ Гц, 2H), 8,24 (s, 1H), 7,97 - 7,90 (m, 1H), 7,38 - 7,36 (m, 2H), 7,31 - 7,25 (m, 1H), 7,18 - 7,13 (m, 2H), 5,20 (s, 2H), 3,63 - 3,53 (m, 2H), 3,45 - 3,41 (m, 1H), 3,12 (t, $J = 8,0$ Гц, 1H), 3,04 - 2,95 (m, 2H), 2,78 - 2,75 (m, 1H), 2,05 - 2,02 (m, 1H), 1,70 - 1,66 (m, 1H).
26		410	411	δ 9,11 (t, $J = 3,2$ Гц, 1H), 8,27 (s, 1H), 7,97 - 7,90 (m, 1H), 7,90 - 7,62 (m, 2H), 7,37 (dd, $J = 8,0, 2,0$ Гц, 1H), 7,32 - 7,26 (m, 1H), 7,18 - 7,13 (m, 2H), 5,20 (s, 2H), 3,58 - 3,54 (m, 2H), 3,39 - 3,36 (m, 1H), 3,16 - 3,04 (m, 3H), 2,69 - 2,67 (m, 1H), 2,00 - 1,98 (m, 1H), 1,71 - 1,65 (m, 1H).

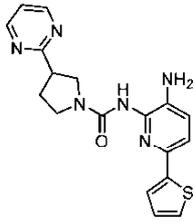
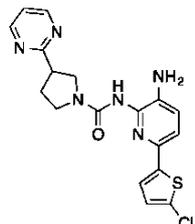
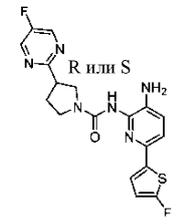
27		424	425	δ 8,58 (d, $J=5,2$ Гц, 1H), 8,24 (s, 1H), 7,97 - 7,91 (m, 1H), 7,38 - 7,36 (m, 1H), 7,32 - 7,23 (m, 2H), 7,78 - 7,13 (m, 2H), 5,01 (s, 2H), 3,61 - 3,53 (m, 2H), 3,41 - 3,30 (m, 1H), 3,12 - 3,08 (m, 1H), 3,00 - 2,90 (m, 2H), 2,77 - 2,51 (m, 1H), 2,44 (s, 3H), 2,12 - 1,96 (m, 1H), 1,73 - 1,59 (m, 1H).
28		424	425	δ 8,26 (s, 1H), 7,97 - 7,90 (m, 1H), 7,54 - 7,49 (m, 2H), 7,37 (dd, $J=8,0, 2,4$ Гц, 1H), 7,31 - 7,25 (m, 1H), 7,18 - 7,13 (m, 2H), 5,20 (s, 2H), 3,56 - 3,54 (m, 2H), 3,40 - 3,36 (m, 1H), 3,31 - 3,10 (m, 1H), 3,04 - 2,95 (m, 2H), 2,68 - 2,63 (m, 1H), 2,58 (s, 3H), 1,99 - 1,97 (m, 1H), 1,71 - 1,64 (m, 1H).
29		414	415	δ 8,94 (d, $J=5,2$ Гц, 2H), 8,50 (s, 1H), 7,94 (t, $J=7,2$ Гц, 1H), 7,60 (t, $J=4,4$ Гц, 1H), 7,40 (q, $J=2,4$ Гц, 1H), 7,30 (t, $J=2,4$ Гц, 1H), 7,16 (t, $J=8,0$ Гц, 2H), 5,24 (s, 2H), 4,13 - 4,02 (m, 2H), 3,87 (t, $J=11,6$ Гц, 1H), 3,66 (t, $J=4,8$ Гц, 1H), 2,60 - 2,55 (m, 2H).

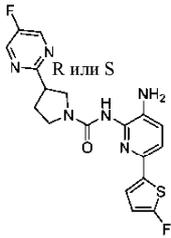
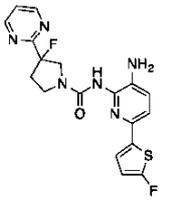
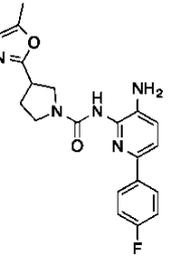
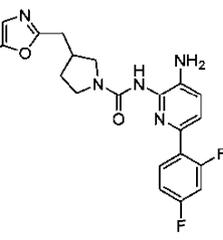
29E1		414	415	δ 8,94 (d, $J = 4,8$ Гц, 2H), 8,51 (s, 1H), 7,98 - 7,92 (m, 1H), 7,60 (t, $J = 4,4$ Гц, 1H), 7,40 (q, $J = 2,4$ Гц, 1H), 7,32 - 7,26 (m, 1H), 7,16 (t, $J = 8,0$ Гц, 2H), 5,25 (s, 2H), 4,13 - 4,02 (m, 2H), 3,87 (t, $J = 9,2$ Гц, 1H), 3,67 (q, $J = 10,0$ Гц, 1H), 2,71 - 2,66 (m, 2H).
29E2		414	415	δ 8,94 (d, $J = 5,2$ Гц, 2H), 8,51 (s, 1H), 7,98 - 7,92 (m, 1H), 7,60 (t, $J = 4,8$ Гц, 1H), 7,40 (q, $J = 2,4$ Гц, 1H), 7,32 - 7,26 (m, 1H), 7,16 (t, $J = 6,0$ Гц, 2H), 5,25 (s, 2H), 4,13 - 4,05 (m, 2H), 3,88 (t, $J = 8,8$ Гц, 1H), 3,67 (q, $J = 7,2$ Гц, 1H), 2,74 - 2,57 (m, 2H).
		415	416	δ 8,38 (s, 1H), 7,97 - 7,91 (m, 1H), 7,41 - 7,37 (m, 2H), 7,32 - 7,26 (m, 1H), 7,18 - 7,13 (m, 2H), 5,21 (s, 2H), 3,88 - 3,79 (m, 2H), 3,64 - 3,60 (m, 2H), 3,57 - 3,49 (m, 1H), 2,42 (s, 3H), 2,38 - 2,32 (m, 1H), 2,16 - 2,11 (m, 1H).

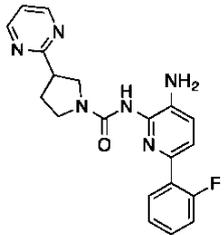
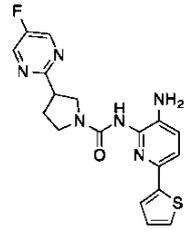
31		409	410	δ 8,46 (s, 1H), 8,32 (s, 1H), 8,41 (d, $J = 3,6$ Гц, 1H), 8,26 (s, 1H), 7,94 - 7,88 (m, 1H), 7,66 (d, $J = 7,6$ Гц, 1H), 7,36 - 7,23 (m, 3H), 7,15 - 7,12 (m, 2H), 5,17 (s, 2H), 3,53 - 3,47 (m, 2H), 3,38 - 3,30 (m, 2H), 3,08 - 3,04 (m, 1H), 2,72 - 2,69 (m, 2H), 1,93 - 1,92 (m, 1H), 1,63 - 1,58 (m, 1H).
32		416	417	δ 8,43 (s, 1H), 7,97 - 7,91 (m, 1H), 7,40 - 7,38 (m, 1H), 7,32 - 7,26 (m, 1H), 7,18 - 7,14 (m, 2H), 5,23 (s, 2H), 4,01 - 3,89 (m, 2H), 3,67 - 3,58 (m, 2H), 3,56 - 3,52 (m, 1H), 2,71 (s, 3H), 2,45 - 2,41 (m, 1H), 2,19 - 2,14 (m, 1H).
33		410	411	δ 8,60 (s, 2H), 8,01 - 7,95 (m, 1H), 7,46 (dd, $J = 8,4, 6,4$ Гц, 1H), 7,20 - 7,16 (m, 2H), 7,07 - 6,99 (m, 2H), 4,73 (s, 2H), 3,98 - 3,93 (m, 1H), 3,75 - 3,69 (m, 1H), 3,59 - 3,35 (m, 1H), 3,47 - 3,42 (m, 2H), 2,62 (s, 3H), 2,41 - 2,38 (m, 1H), 2,10 - 2,09 (m, 1H).

34		398	399	δ 8,00 - 7,93 (m, 1H), 7,50 (s, 1H), 7,44 (d, $J=7,2$ Гц, 1H), 7,16 (d, $J=8,0$ Гц, 1H), 7,09 - 6,98 (m, 4H), 6,95 (s, 1H), 4,70 (s, 2H), 4,03 (d, $J=8,4$ Гц, 2H), 3,57 - 3,50 (m, 2H), 3,46 - 3,40 (m, 1H), 3,20 - 3,16 (m, 1H), 2,71 (s, 1H), 2,06 - 1,99 (m, 1H), 1,73 - 1,68 (m, 1H).
35		398	399	δ 8,00 - 7,94 (m, 1H), 7,55 - 7,43 (m, 3H), 7,16 (d, $J=8,0$ Гц, 1H), 7,07 - 6,98 (m, 3H), 6,25 (s, 1H), 4,71 (s, 2H), 4,19 - 4,17 (m, 2H), 3,58 - 3,42 (m, 3H), 3,25 - 3,20 (m, 1H), 2,83 - 2,78 (m, 1H), 2,04 - 1,93 (m, 1H), 1,76 - 1,71 (m, 1H).
36		412	413	δ 8,25 (s, 1H), 7,92 - 7,91 (m, 1H), 7,36 (dd, $J=6,0, 2,4$ Гц, 1H), 7,31 - 7,25 (m, 1H), 7,17 - 7,13 (m, 2H), 7,01 (s, 1H), 6,75 (s, 1H), 5,21 (s, 2H), 3,63 (q, $J=6,8$ Гц, 1H), 3,61 (s, 3H), 3,57 - 3,51 (m, 1H), 3,42 - 3,38 (m, 1H), 3,11 (t, $J=8,4$ Гц, 1H), 2,77 - 2,72 (m, 2H), 2,70 - 2,62 (m, 1H), 2,06 - 2,04 (m, 1H), 1,70 - 1,65 (m, 1H).

37		446	447	δ 8,93 (s, 1H), 8,83 (s, 1H), 8,37 (s, 1H), 7,98 - 7,91 (m, 1H), 7,38 (dd, $J=8,4, 2,4$ Гц, 1H), 7,31 - 6,99 (m, 4H), 5,23 (s, 2H), 3,96 - 3,92 (m, 1H), 3,83 - 3,79 (m, 1H), 3,69 - 3,62 (m, 2H), 3,57 - 3,51 (m, 1H), 2,42 - 2,35 (m, 1H), 2,24 - 2,15 (m, 1H).
39		384	385	δ 8,80 (d, $J=4,8$ Гц, 2H), 8,29 (s, 1H), 7,48 (d, $J=8,4$ Гц, 1H), 7,41 (t, $J=4,8$ Гц, 1H), 7,16 (t, $J=4,0$ Гц, 1H), 7,11 (d, $J=8,0$ Гц, 1H), 6,66 (q, $J=2,0$ Гц, 1H), 5,11 (s, 2H), 3,91 - 3,85 (m, 1H), 3,77 - 3,71 (m, 2H), 3,63 - 3,57 (m, 1H), 3,54 - 3,48 (m, 1H), 2,37 - 2,31 (m, 1H), 2,28 - 2,21 (m, 1H).
40		384	385	δ 8,80 (d, $J=4,8$ Гц, 2H), 8,29 (s, 1H), 7,48 (d, $J=8,4$ Гц, 1H), 7,41 (t, $J=4,8$ Гц, 1H), 7,16 (t, $J=4,0$ Гц, 1H), 7,11 (d, $J=8,0$ Гц, 1H), 6,66 (q, $J=2,0$ Гц, 1H), 5,11 (s, 2H), 3,91 - 3,85 (m, 1H), 3,77 - 3,71 (m, 2H), 3,63 - 3,57 (m, 1H), 3,54 - 3,48 (m, 1H), 2,37 - 2,31 (m, 1H), 2,28 - 2,21 (m, 1H).

41		366	367	δ 8,80 (q, $J = 3,2$ Гц, 2H), 8,29 (s, 1H), 7,49 - 7,46 (m, 2H), 7,42 - 7,39 (m, 2H), 7,12 (d, $J = 8,0$ Гц, 1H), 7,06 (t, $J = 3,6$ Гц, 1H), 5,10 (s, 2H), 3,87 (d, $J = 10,4$ Гц, 1H), 3,75 (d, $J = 6,4$ Гц, 2H), 3,61 (t, $J = 3,2$ Гц, 1H), 3,52 (t, $J = 9,6$ Гц, 1H), 2,36 - 2,22 (m, 2H).
42		400	401	δ 8,80 (d, $J = 4,8$ Гц, 2H), 8,28 (s, 1H), 7,48 (d, $J = 8,4$ Гц, 1H), 7,41 (t, $J = 4,8$ Гц, 1H), 7,33 (d, $J = 4,0$ Гц, 1H), 7,12 (t, $J = 4,4$ Гц, 1H), 7,05 (d, $J = 4,0$ Гц, 1H), 5,19 (s, 2H), 3,67 (d, $J = 11,2$ Гц, 1H), 3,74 (d, $J = 5,2$ Гц, 2H), 3,59 (d, $J = 8,4$ Гц, 1H), 3,52 (t, $J = 6,8$ Гц, 1H), 2,37 - 2,24 (m, 2H).
43		402	403	δ 8,89 (s, 2H), 8,29 (s, 1H), 7,47 (d, $J = 4,0$ Гц, 1H), 7,17 - 7,10 (m, 2H), 6,66 (q, $J = 2,0$ Гц, 1H), 5,12 (s, 2H), 3,90 - 3,86 (m, 1H), 3,79 - 3,69 (m, 2H), 3,61 - 3,47 (m, 2H), 2,37 - 2,33 (m, 1H), 2,24 - 2,19 (m, 1H).

44		402	403	δ 8,89 (s, 2H), 8,29 (s, 1H), 7,47 (d, $J=4,0$ Гц, 1H), 7,17 - 7,10 (m, 2H), 6,66 (q, $J=2,0$ Гц, 1H), 5,12 (s, 2H), 3,90 - 3,86 (m, 1H), 3,79 - 3,69 (m, 2H), 3,61 - 3,47 (m, 2H), 2,37 - 2,33 (m, 1H), 2,24 - 2,19 (m, 1H).
45		402	403	δ 8,95 (d, $J=5,2$ Гц, 2H), 8,46 (s, 1H), 7,60 (t, $J=8,4$ Гц, 1H), 7,49 (d, $J=8,4$ Гц, 1H), 7,17 (t, $J=4,0$ Гц, 1H), 7,12 (d, $J=8,0$ Гц, 1H), 6,68 - 6,66 (m, 1H), 5,15 (s, 2H), 4,12 - 4,04 (m, 2H), 3,86 (t, $J=10,0$ Гц, 1H), 3,66 (t, $J=8,0$ Гц, 1H), 2,68 - 2,54 (m, 2H).
46		381	382	δ 8,35 (s, 1H), 7,97 (q, $J=6,4$ Гц, 2H), 7,54 (d, $J=8,4$ Гц, 1H), 7,24 - 7,15 (m, 3H), 6,76 (s, 1H), 5,13 (s, 2H), 3,81 (t, $J=6,4$ Гц, 1H), 3,68 - 3,59 (m, 2H), 3,57 - 3,60 (m, 2H), 2,33 - 2,28 (m, 1H), 2,25 (s, 3H), 2,20 - 2,15 (m, 1H).
47		413	414	CD₃OD как растворитель δ 7,92 - 7,88 (m, 2H), 7,48 (d, $J=8$ Гц, 1H), 7,26 (d, $J=8,4$ Гц, 1H), 7,14 - 7,10 (m, 2H), 6,69 (s, 1H), 3,78 - 3,71 (m, 1H), 3,67 - 3,61 (m, 1H), 3,54 - 3,47 (m, 1H), 3,26 - 3,21 (m, 1H), 2,89 (d, $J=7,2$ Гц, 2H), 2,78 - 2,73 (m, 1H), 2,30

				(d, $J = 0,8$ Гц, 3H), 2,17 - 2,14 (m, 1H), 1,84 - 1,77 (m, 1H).
48		378	379	δ 8,80 (d, $J = 5,2$ Гц, 2H), 8,33 (s, 1H), 7,93 - 7,89 (m, 1H), 7,43 - 7,36 (m, 2H), 7,36 - 7,31 (m, 1H), 7,27 - 7,22 (m, 2H), 7,16 (d, $J = 8,4$ Гц, 1H), 5,22 (s, 2H), 3,90 - 3,87 (m, 1H), 3,78 - 3,75 (m, 2H), 3,63 - 3,60 (m, 1H), 3,56 - 3,50 (m, 1H), 2,37 - 2,33 (m, 1H), 2,27 - 2,22 (m, 1H).
49		384	385	δ 8,78 (s, 2H), 8,18 (s, 1H), 7,38 - 7,35 (m, 2H), 7,30 (dd, $J = 5,2, 0,8$ Гц, 1H), 7,00 (d, $J = 8,4$ Гц, 1H), 6,94 (dd, $J = 5,2, 3,6$ Гц, 1H), 4,99 (s, 2H), 3,80 - 3,75 (m, 1H), 3,68 - 3,58 (m, 2H), 3,48 - 3,46 (m, 1H), 3,42 - 3,37 (m, 1H), 2,28 - 2,19 (m, 1H), 2,16 - 2,01 (m, 1H),

50		392	393	δ 8,63 (d, $J=5,2$ Гц, 1H), 8,30 (s, 1H), 7,99 - 7,95 (m, 2H), 7,53 (d, $J=8,0$ Гц, 1H), 7,27 (d, $J=5,2$ Гц, 1H), 7,24 - 7,19 (m, 2H), 7,15 (d, $J=8,0$ Гц, 1H), 5,12 (s, 2H), 3,90 - 3,85 (m, 1H), 3,76 - 3,61 (m, 3H), 3,54 - 3,52 (m, 1H), 2,47 (s, 3H), 2,33 - 2,26 (m, 2H).
51		392	393	δ 8,66 (d, $J=5,2$ Гц, 1H), 8,28 (s, 1H), 7,97 - 7,93 (m, 2H), 7,51 (d, $J=8,4$ Гц, 1H), 7,25 (d, $J=5,2$ Гц, 1H), 7,21 - 7,17 (m, 2H), 7,14 (d, $J=8,0$ Гц, 1H), 5,10 (s, 2H), 3,88 - 3,84 (m, 1H), 3,74 - 3,59 (m, 3H), 3,52 - 3,46 (m, 1H), 2,45 (s, 3H), 2,32 - 2,19 (m, 2H).
52		414	415	δ 9,02 (s, 2H), 8,47 (s, 1H), 7,97 - 7,94 (m, 2H), 7,53 (d, $J=8,4$ Гц, 1H), 7,24 - 7,14 (m, 3H), 5,10 (s, 2H), 4,12 - 3,98 (m, 2H), 3,85 (t, $J=8,4$ Гц, 1H), 3,69 - 3,62 (m, 1H), 2,68 - 2,55 (m, 2H).
53		414	415	δ 9,02 (s, 2H), 8,47 (s, 1H), 7,97 - 7,94 (m, 2H), 7,53 (d, $J=8,4$ Гц, 1H), 7,22 - 7,14 (m, 3H), 5,10 (s, 2H), 4,12 - 4,01 (m, 2H), 3,85 (t, $J=8,4$ Гц, 1H), 3,69 - 3,62 (m, 1H), 2,66 - 2,55 (m, 2H).
54		396	397	δ 8,95 (d, $J=5,2$ Гц, 2H), 8,49 (s, 1H), 7,98 (t, $J=8,4$ Гц, 2H), 7,62 - 7,55 (m, 2H), 7,24 - 7,16 (m, 3H), 5,13 (s, 2H), 4,14 - 4,04 (m, 2H), 3,90 - 3,86 (m, 1H), 3,68 (t, $J=5,2$ Гц, 1H), 2,67 - 2,57 (m, 2H).
55		396	397	δ 8,95 (d, $J=5,2$ Гц, 2H), 8,49 (s, 1H), 7,98 (t, $J=8,4$ Гц, 2H), 7,62 - 7,55 (m, 2H), 7,24 - 7,16 (m, 3H), 5,13 (s, 2H), 4,14 - 4,04 (m, 2H), 3,90 - 3,86 (m, 1H), 3,68 (t, $J=5,2$ Гц, 1H), 2,67 - 2,57 (m, 2H).

Ферментативный анализ HDAC2 и HDAC1 (данные по IC50 в отношении HDAC2 и HDAC1).
Ниже описан протокол анализа для измерения деацетилирования пептида-субстрата с помощью

HDAC2 или HDAC1.

Состав белка HDAC и соответствующие пептиды-субстраты приведены ниже.

Название анализа	Экспрессионный конструктор	Регуляторная субъединица	Пептид-субстрат
HDAC1	Полноразмерный HDAC1 человека с С-концевой His-меткой и С-концевой FLAG-меткой, экспрессируемой в системе экспрессии бакуловируса.	Отсутствует	FAM-TSRHK(Ac)KL-NH2
HDAC2	Полноразмерный HDAC2 человека с С-концевой FLAG-меткой, экспрессируемый в системе экспрессии бакуловируса.	Отсутствует	FAM-TSRHK(Ac)KL-NH2

Подготовка анализа.

Реакции HDAC собирают в 384-луночных планшетах (Greiner) в общем объеме 20 мкл следующим образом.

Белки HDAC предварительно разбавляют в буфере для анализа, содержащем 100 мМ HEPES, pH 7,5, 0,1% BSA, 0,01% Triton X-100, 25 мМ KCl и разливают в 384-луночный планшет (10 мкл на лунку).

Тестовые соединения серийно предварительно разводят в ДМСО и добавляют к образцам белка акустическим дозированием (Labcyte Echo). Концентрацию ДМСО во всех пробах доводят до 1%.

Контрольные образцы (0%-ное ингибирование в отсутствие ингибитора, только ДМСО) и 100%-ное ингибирование (в отсутствие фермента) собирают в четырех репликатах и используют для расчета%-ингибирования в присутствии соединений.

На данном этапе соединения могут быть предварительно инкубированы с ферментом, если необходимо.

Реакции инициируют добавлением 10 мкл FAM-меченного пептида-субстрата, предварительно разведенного в том же буфере для анализа. Конечная концентрация пептида-субстрата составляет 1 мкМ (HDAC 1-2). Реакциям дают возможность протекать при комнатной температуре. После инкубации реакции гасят добавлением 50 мкл буфера для терминации (100 мМ HEPES, pH 7,5, 0,01% Triton X-100, 0,1% SDS). Планшеты с концевыми частями анализируют на приборе для микрофлюидного электрофореза (Caliper LabChip® 3000, Caliper Life Sciences/Perkin Elmer), который позволяет электрофоретически отделить деацетилованный продукт от ацетилованного субстрата. Измеряемым параметром является изменение относительной интенсивности пептида-субстрата и продукта. Активность в каждом тестируемом образце определяется как соотношение продукта к сумме (PSR): $P/(S+P)$, где P является высотой пика продукта, а S является высотой пика субстрата. Процент ингибирования ($P_{инг}$) определяется с использованием следующего уравнения:

$$P_{инг} = (PSR_{0\%инг} - PSR_{соединения}) / (PSR_{0\%инг} - PSR_{100\%инг}) \times 100,$$

где $PSR_{соединения}$ представляет собой соотношение продукт/сумма в присутствии соединения;

$PSR_{0\%инг}$ представляет собой соотношение продукт/сумма в отсутствие соединения; и

$PSR_{100\%инг}$ представляет собой соотношение продукт/сумма в отсутствие фермента.

Для определения IC50 соединений (50%-ингибирования) данные%-инг ($P_{инг}$ относительно концентрации соединения) подгоняют по 4 параметрической сигмоидальной модели доза-ответ с использованием программного обеспечения XLfit (IDBS).

Результаты данного анализа для определенных соединений представлены в табл. 2 ниже. В таблице "А" указывает на значение IC50 менее 0,5 мкМ; "В" - на значение IC50 от 0,5 мкМ до 1,0 мкМ; "С" - на значение IC50 более 1,0 мкМ и менее или равное 2,0 мкМ; и "D" указывает на значение IC50 более 2,0 мкМ. НТ=не тестировалось.

Таблица 2

Соединение №	IC50 в отношении HDAC2, (мкМ)	IC50 в отношении HDAC1, (мкМ)	Соединение №	IC50 в отношении HDAC2, (мкМ)	IC50 в отношении HDAC1, (мкМ)

1	C	B
2	D	C
3	D	D
4	C	B
5	HT	HT
6	HT	HT
7	B	A
8E1	A	A
8E2	C	C
9	C	B
10	B	A
11	HT	HT
12	HT	HT
13	HT	HT
14	B	B
14E1	B	A
14E2	D	B
15	HT	HT
16	HT	HT
17	HT	HT
18	B	B
19	A	A
19E1	A	B
19E2	A	A
20	B	A
20E1	B	B
20E2	A	A
21	C	B
22	HT	HT
23	D	D
24	C	C
25E1	C	C
25E2	D	C
26	C	C
27	HT	HT
28	HT	HT
29	B	A
29E1	A	A
29E2	C	C
30	HT	HT
31	HT	HT
32	HT	HT
33	HT	HT
34	HT	HT
35	HT	HT
36	B	A
37	HT	HT
39	C	C
40	A	A
41	B	A
42	HT	HT
43	D	C
44	B	A
45	C	B
46	C	B
47	HT	HT
48	C	B
49	C	A
50	C	I
51	B	A
52	C	B
53	B	A
54	B	B
55	A	A

Анализ ферментативного ингибирования HDAC2 в лизате клеток SH-SY5Y с экзогенным субстратом

Клетки SH-SY5Y (Sigma) были культивированы в модифицированной основной среде Игла с добавлением 10% фетальной бычьей сыворотки и пен/стреп. За 24 ч до дозирования соединения 20 мкл клеток высевали в белые 384-луночные планшеты с плотностью 1500 клеток/луночка. Соединения серийно разводили в чистом ДМСО, а затем разводили 1:100 об./об. в среде, не содержащей FBS, и перемешивали. Среду удаляли из клеток на чашках, добавляли разбавленные соединения в бессывороточной среде (1% об./об. конечного ДМСО) и инкубировали при 37°C в течение 5 ч. Затем добавляли 10 мкл реагента HDAC-Glo2 с 0,1% Triton X-100, планшет перемешивали и давали возможность развиваться при комнатной температуре в течение 100 м. Затем планшеты считывали с помощью люцинометра Spectramax LMax, используя время интегрирования 0,4 с. Кривые доза-ответ были построены с нормализованными данными, где СИ-994 при 100 мкМ был определен как 100% ингибирование, а чистый ДМСО как 0% ингибирование.

Результаты данного анализа для определенных соединений представлены в табл. 3 ниже. В таблице "А" указывает на значение IC50 менее 0,5 мкМ; "В" представляет собой значение IC50 от 0,5 до 1,0 мкМ; "С" представляет собой значение IC50 более чем 1,0 мкМ и менее чем или равное 2,0 мкМ; и "D" указывает на значение IC50 более чем 2,0 мкМ. HT=не тестировалось.

Таблица 3

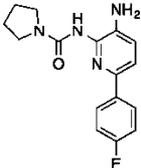
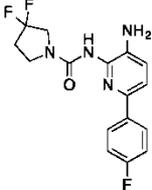
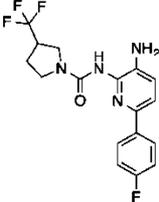
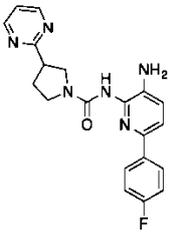
Соединение №	IC50 в отношении HDAC2, лизат клеток SH- SY5Y (мкМ)
1	D
2	D
3	D
4	D
5	D
6	D
7	B
8E2	D
8E2	B
9	C
10	C
11	D
12	D
13	D
14	C
14E1	B
14E2	D
15	D
16	D
17	C
18	B
19	A
19E1	C
19E2	B
20	C
20E1	C
20E2	B
21	C
22	D
23	D
24	C
25E1	B
25E2	B

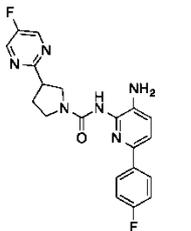
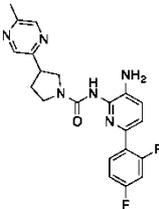
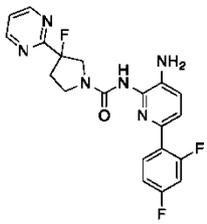
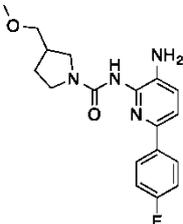
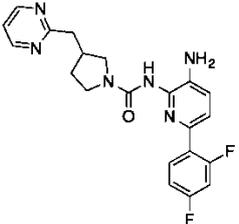
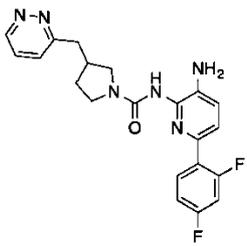
Соединение №	IC50 в отношении HDAC2, лизат клеток SH- SY5Y (мкМ)
26	B
27	C
28	C
29	B
29E1	B
29E2	C
30	D
31	D
32	C
33	D
34	D
35	D
36	B
37	D
39	D
40	B
41	B
42	D
43	C
44	B
45	B
46	D
47	D
48	C
49	C
50	D
51	C
52	D
53	B
54	C
55	B

Сравнение пирролидиновых колец, замещенных в положении 3 гетероароматическими кольцами или присоединенными через метиленовую группу гетероароматическими кольцами, с пирролидинами, замещенными неароматическими группами в положении 3, для пирролидинмочевин.

В табл. 4 ниже показано прямое сравнение уровней активности между некоторыми соединениями, имеющими неароматическое замещение в положении 3 пирролидина, и соединениями в соответствии с настоящим изобретением, имеющими ароматическое замещение в положении 3 пирролидинильного фрагмента (т.е. R¹ с или без спейсерной группы X). Как показывают данные, повышение эффективности в анализе активности в отношении HDAC2 в лизате клеток SH-SY5Y происходит, когда нециклические, неароматические заместители R¹ в соединениях сравнения А-С замещены ароматическим пиримидином в соединениях 19 и 20. Аналогичная тенденция показана для других соединений в табл. 4. Соединение 20 с 5-F-пиримидином, непосредственно связанным с положением 3, более чем в 2 раза эффективнее, чем соединение сравнения А.

Таблица 4

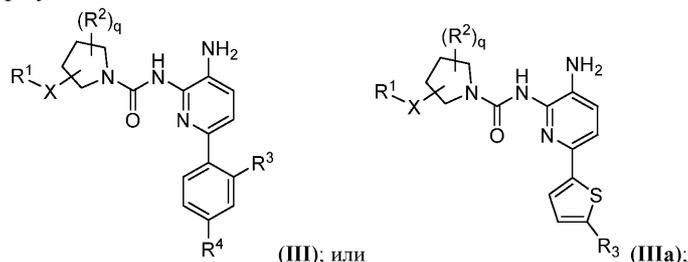
№	Структура	IC ₅₀ в отношении HDAC2, лизат клеток SH-SY5Y (мкМ)
Соединение сравнения А		2,64
Соединение сравнения В		14
Соединение сравнения С		6,36
19		0,421

0		1,13
18		0,550
29		0,768
Соединение сравнения E		>100
24		1,42
26		0,535

Содержание всех ссылок (включая литературные ссылки, выданные патенты, опубликованные патентные заявки и находящиеся на рассмотрении патентные заявки), упоминаемых в настоящей заявке, явным образом включено в настоящую заявку полностью посредством ссылки. Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в настоящей заявке, имеют значения, широко известные специалисту в данной области техники.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы III или IIIa



или его фармацевтически приемлемая соль,

где X представляет собой $(CR^aR^b)_t$, где t представляет собой 0 или 1, или 0;

q представляет собой 0 или 1;

R^1 представляет собой фенил, пиридинил, пиазинил, пиридазинил, пиримидинил, тиазолил, тиадiazолил, имидазолил, пиазолил или оксазолил, каждый из которых необязательно замещен от 1 до 3 групп, выбранных из R^c ;

R^2 представляет собой галоген;

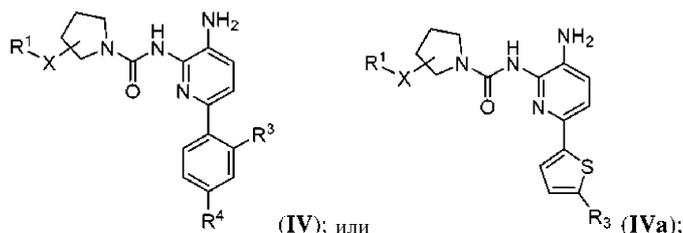
R^3 представляет собой водород или галоген;

R^4 представляет собой галоген;

R^a и R^b каждый представляет собой водород;

R^c представляет собой галоген, галоген(C_1-C_4)алкил, (C_1-C_4)алкил или (C_1-C_4)алкилO(C_1-C_4)алкил.

2. Соединение по п.1, отличающееся тем, что соединение представляет собой соединение формулы IV или IVa



или его фармацевтически приемлемую соль.

3. Соединение по п.1 или 2, отличающееся тем, что R^3 представляет собой галоген.

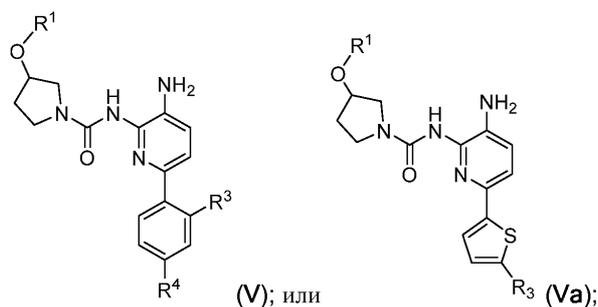
4. Соединение по любому из пп.1-3, отличающееся тем, что R^3 представляет собой фтор.

5. Соединение по п.1 или 2, отличающееся тем, что R^3 представляет собой водород.

6. Соединение по любому из пп.1-5, отличающееся тем, что R^4 представляет собой фтор.

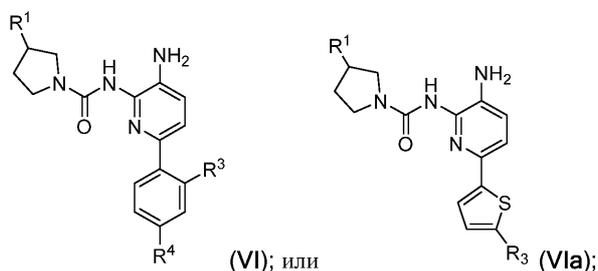
7. Соединение по любому из пп.1-6, отличающееся тем, что X представляет собой (CR^aR^b) .

8. Соединение по любому из пп.1-7, отличающееся тем, что соединение представляет собой соединение формулы V или Va



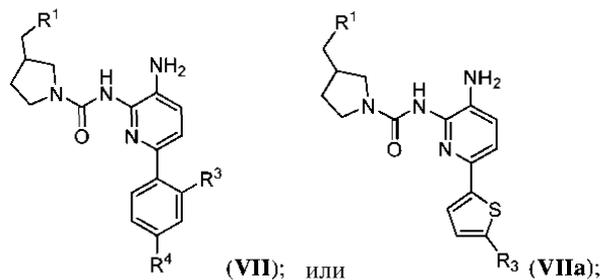
или его фармацевтически приемлемую соль.

9. Соединение по любому из пп.1-7, отличающееся тем, что соединение представляет собой соединение формулы VI или VIa



или его фармацевтически приемлемую соль.

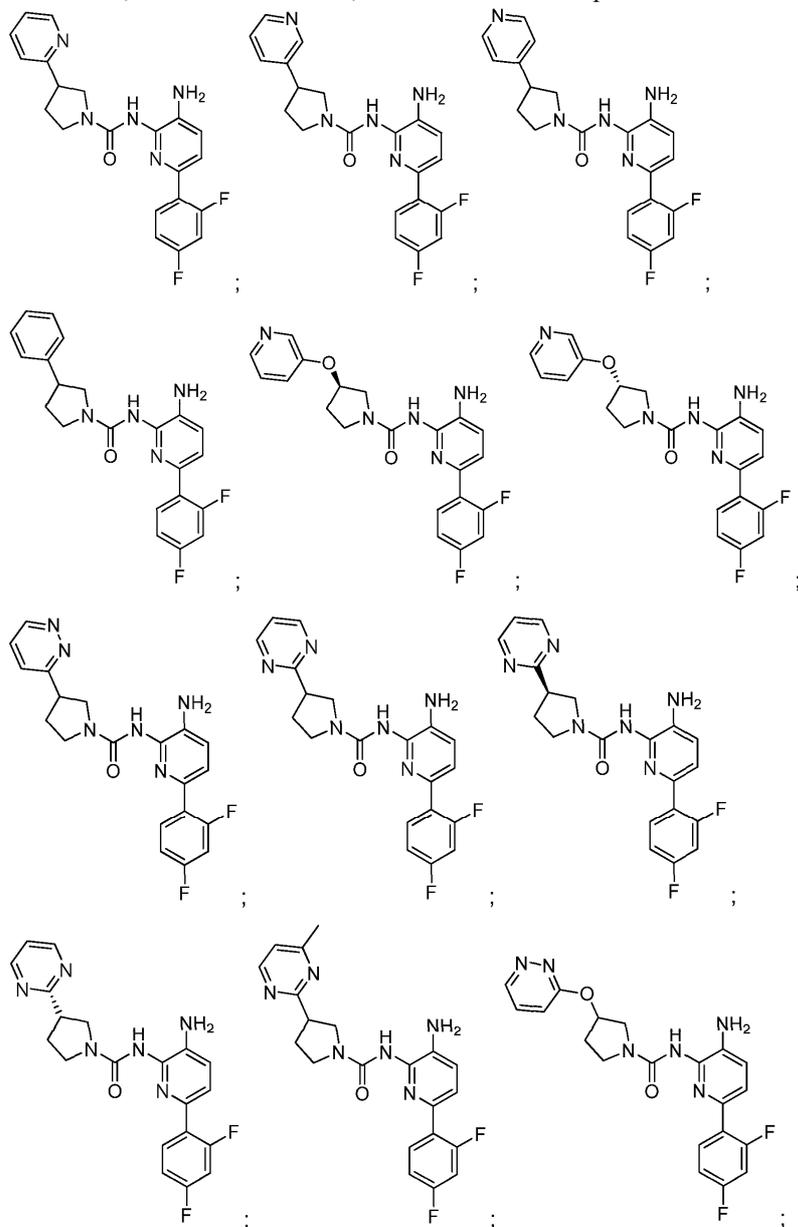
10. Соединение по любому из пп.1-7, отличающееся тем, что соединение представляет собой соединение формулы VII или VIIa

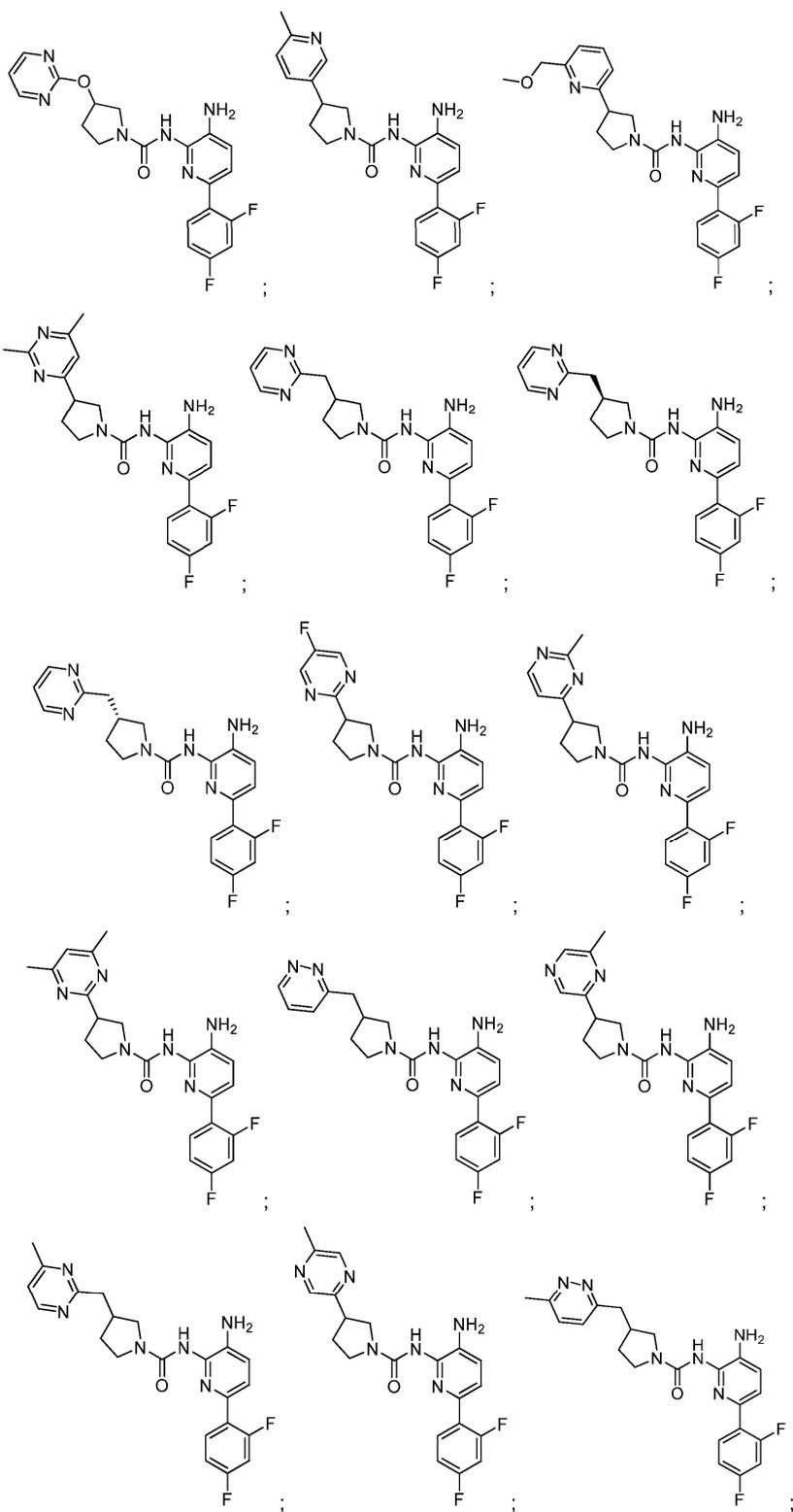


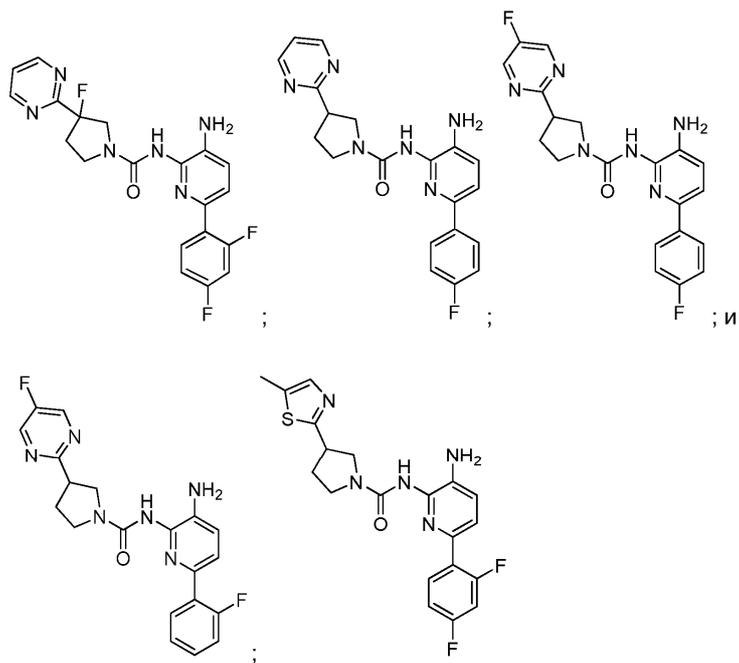
или его фармацевтически приемлемую соль.

11. Соединение по любому из пп.1-10, отличающееся тем, что R^c представляет собой фтор, метил, CHF₂ или CH₂OCH₃.

12. Соединение по п.1, отличающееся тем, что соединение выбрано из

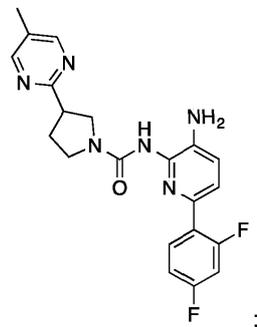
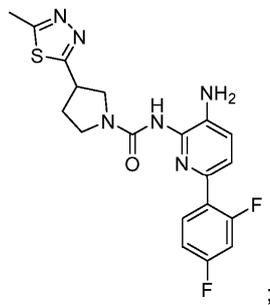
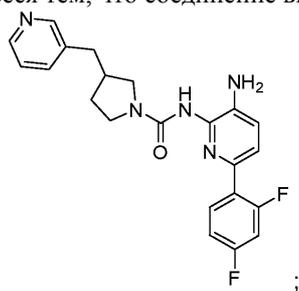




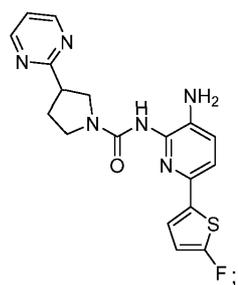
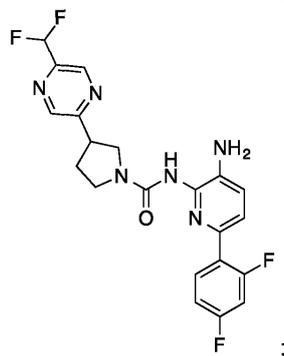
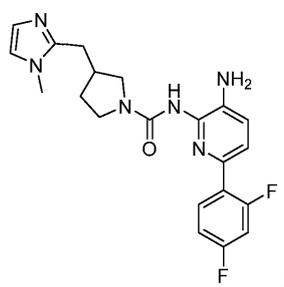
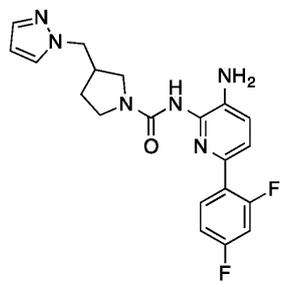
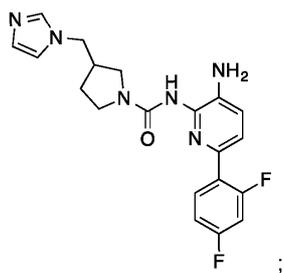


или их фармацевтически приемлемых солей.

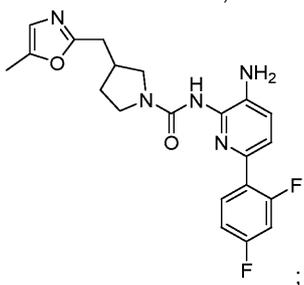
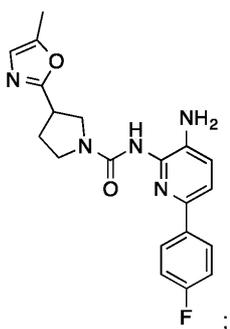
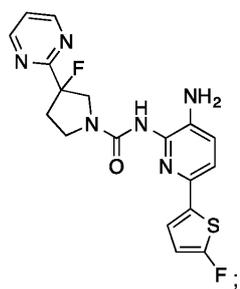
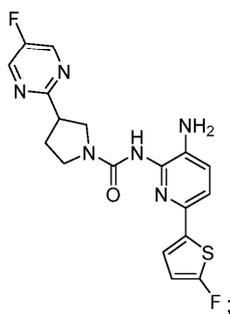
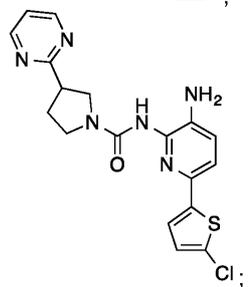
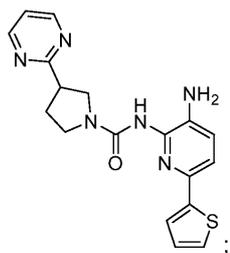
13. Соединение по п.1, отличающееся тем, что соединение выбрано из

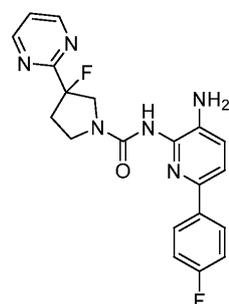
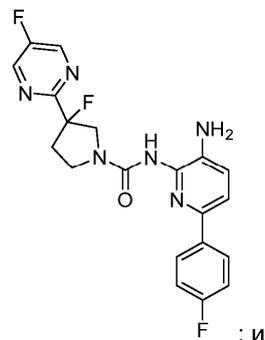
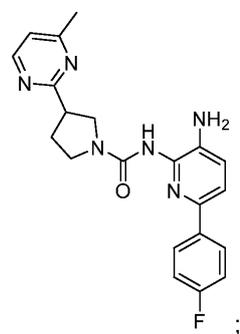
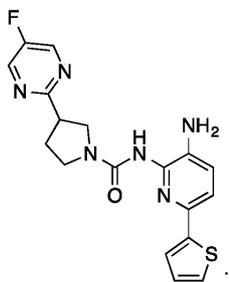
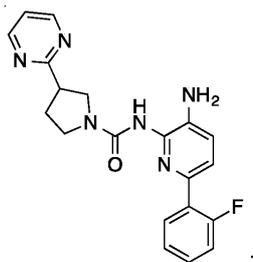


043804



043804





или их фармацевтически приемлемых солей.

14. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по любому из пп.1-13 или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель.

15. Применение соединения по любому из пп.1-13, или его фармацевтически приемлемой соли, или композиции по п.14 для ингибирования активности гистондеацетилазы (HDAC) у субъекта.

16. Применение соединения по любому из пп.1-13, или его фармацевтически приемлемой соли, или композиции по п.14 для лечения состояния у субъекта, выбранного из неврологического расстройства, расстройства или нарушения когнитивной функции, грибковой инфекции, воспалительного заболевания, психических расстройств и неопластических заболеваний.

17. Применение по п.16, отличающееся тем, что состояние представляет собой

а) расстройство или нарушение когнитивной функции, связанное с болезнью Альцгеймера, задней корковой атрофией, гидроцефалией нормального давления, болезнью Хантингтона, вызванной судорогами потерей памяти, шизофренией, синдромом Рубинштейна-Тейби, синдромом Ретта, депрессией, синдромом ломкой X-хромосомы, деменцией с тельцами Леви, инсультом, сосудистой деменцией, сосудистыми когнитивными нарушениями (VCI), болезнью Бинсвангера, лобно-височной долевого дегенерацией (FTLD), СДВГ, дислексией, большим депрессивным расстройством, биполярным расстройством и социальные, когнитивные расстройства и расстройства обучения, связанные с аутизмом, травматическим повреждением головного мозга (ТВИ), хронической травматической энцефалопатией (ХТЭ), рассеянным склерозом (РС), синдромом дефицита внимания, тревожным расстройством, условной реакцией страха, паническим расстройством, обсессивно-компульсивным расстройством, посттравматическим стрессовым расстройством (ПТСР), фобией, социальным тревожным расстройством, восстановлением после лекарственной зависимости, возрастным нарушением памяти (ААМ), возрастным снижением когнитивных функций (ARCD), атаксией, болезнью Паркинсона или деменцией при болезни Паркинсона; или

б) гематологическое заболевание, выбранное из острого миелоидного лейкоза, острого промиелоцитарного лейкоза, острого лимфобластного лейкоза, хронического миелогенного лейкоза, миелодиспластических синдромов и серповидно-клеточной анемии; или

в) неопластическое заболевание; или

г) расстройства прекращения обучения (disorder of learning extinction), выбранное из прекращения страха и посттравматического стрессового расстройства; или

д) потерю слуха или нарушение слуха; или

е) фиброзные заболевания, такие как фиброз легких, фиброз почек, фиброз сердца и склеродермия; или

ж) боль в костях у пациентов, имеющих рак; или

з) нейропатическую боль.

18. Применение по п.17, отличающееся тем, что состояние представляет собой болезнь Альцгеймера, болезнь Хантингтона, лобно-височную деменцию, атаксия Фридрейха, посттравматическое стрессовое расстройство (ПТСР), болезнь Паркинсона или восстановление после лекарственной зависимости.

19. Применение по п.16, отличающееся тем, что состояние выбрано из болезни Альцгеймера, болезни Хантингтона, лобно-височной долевого дегенерации, атаксии Фридрейха, посттравматического стрессового расстройства, болезни Паркинсона, деменции при болезни Паркинсона, восстановления после лекарственной зависимости, расстройства или нарушения когнитивной функции, неврологического расстройства с синаптической патологией, расстройства различения в обучении (disorder of learning distinction), психических расстройств, нарушений когнитивных функций или нарушений, связанных с болезнью Альцгеймера, деменции с тельцами Леви, шизофрении, синдрома Рубинштейна-Тейби, синдрома Ретта, синдрома ломкой X-хромосомы, рассеянного склероза, возрастных нарушений памяти, возрастного снижения когнитивных функций, а также социальных, когнитивных нарушений и расстройств обучения, связанных с аутизмом.

20. Применение по п.16, отличающееся тем, что состояние выбрано из расстройства или нарушения памяти, грибкового заболевания, расстройства прекращения обучения (extinction learning disorder) и гематологического заболевания.

