

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 044151

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента

2023.07.26

(21) Номер заявки

202192981

(22) Дата подачи заявки

2020.09.23

(51) Int. Cl. C07D 401/12 (2006.01)
C07D 401/14 (2006.01)
C07D 413/14 (2006.01)
A61K 31/4439 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 19/06 (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01)
A61P 17/06 (2006.01)
A61P 3/00 (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)
A61P 11/06 (2006.01)
A61P 37/08 (2006.01)

(54) ИНГИБИТОР IRAK И СПОСОБ ЕГО ПОЛУЧЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ

(31) 201910906833.7

(32) 2019.09.24

(33) CN

(43) 2022.07.07

(86) PCT/CN2020/117093

(87) WO 2021/057785 2021.04.01

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:

ШАНХАЙ МЭЙЮЭ БИОТЕК
ДИВЕЛОПМЕНТ КО., ЛТД. (CN)

(72) Изобретатель:

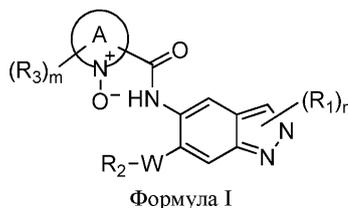
Е Гочжун, Дин Чэньли, Дин Явэнь, Хэ
Цянь, Ван Чаодун (CN)

(74) Представитель:

Нилова М.И. (RU)

(56) CN-A-111499612
WO-A1-2020135513
WO-A1-2017207385
WO-A1-2017108744
WO-A1-2017148902
WO-A1-2017207481
WO-A1-2016083433

(57) Предложены соединение, представленное формулой I, его стереоизомер, рацемат, таутомер, соединение с изотопной меткой, сложный эфир или фармацевтически приемлемая соль, и фармацевтическая композиция, содержащая указанные соединения, способ их получения и применение.



B1

044151

044151 B1

Настоящая заявка испрашивает приоритет по китайской заявке на патент № 201910906833.7, поданной в Национальное управление интеллектуальной собственности Китая 24 сентября 2019 г., под названием "Ингибитор IRAK и способ его получения и применения", полное содержание которой включено в настоящее описание посредством ссылки.

Область техники

Настоящее изобретение относится к области фармацевтической химии, в частности, к соединению, подходящему для лечения рака и воспалительных заболеваний, связанных с киназой, ассоциированной с рецептором интерлейкина-1 (IRAK), и, более конкретно, к соединению для регулирования функции IRAK-4.

Уровень техники

Семейство ассоциированных с рецептором интерлейкина-1 киназ (IRAK) представляет собой внутриклеточные серин-треониновые протеинкиназы, в том числе: IRAK1, IRAK2, IRAK-M и IRAK4. Общей особенностью этих четырех членов семейства является типичный N-концевой домен смерти, который опосредует взаимодействие между адаптером семейства MyD88 и центральным доменом киназы, при этом IRAK1 и IRAK4 обладают активностью. IRAK-4 является ключевым фактором ниже опосредованного Toll-подобным рецептором (TLR)/рецептором интерлейкина-1 (IL-1R) воспалительного сигнального пути. Когда связывание лиганда с патоген-специфической молекулой (например, липополисахаридом, полипептидом и вирусной ДНК) распознается внеклеточной частью TLR, внутриклеточная часть рекрутирует MyD88 и остальные факторы с образованием комплексов и инициирует аутофосфорилирование IRAK1, при этом активируется в прямом направлении серин-треонинкиназа TAK1, стимулируются сигнальные пути NF-κB и MAPK, продуцируются провоспалительные цитокины, хемокины и деструктивные ферменты, что в конечном итоге приводит к воспалительным реакциям, опосредующим врожденный иммунитет. IL-1R задействован в иммунной защите организма и гемопоэзе и служит мостом, соединяющим врожденный и приобретенный иммунитет. (Flannery, et. al, Biochem. Pharmacol., 2010, 80 (12):1981-1991).

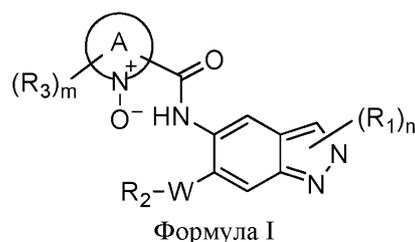
Ревматоидный артрит (РА) представляет собой хроническое, воспалительное, системное аутоиммунное заболевание, характеризующееся явным негнойным воспалением в суставах и тканях суставов. РА в основном проявляется синовитом суставов, который в конечном итоге приводит к повреждению различных тканей (таких как хрящи суставов, связки и сухожилия) и некоторых органов. Исследования показали, что различные иммунные клетки участвуют и опосредуют аутоиммунное воспаление у пациентов с РА, в том числе Т/В-лимфоциты, макрофаги, нейтрофилы и т.п. Между тем, в большом количестве исследований была установлена прямая зависимость между цитокинами и РА, такими как интерлейкины (IL-1/IL-6) и ФНО-альфа.

Исследования показали, что ингибиторы IRAK4 могут эффективно блокировать продуцирование провоспалительного фактора некроза опухоли цитокинов (ФНО) в лейкоцитах человека, индуцированных LPS или CpG; у мышей с коллаген-индуцированным артритом ингибиторы IRAK4 могут значительно ингибировать высвобождение ФНО, при этом контролируется прогрессирование заболевания; у мышей с MyD88-зависимой воспалительной подагрой ингибиторы IRAK4 дозозависимо блокируют инфильтрацию лейкоцитов (Priscilla N, et al., J. Exp. Med., 2015, 13 (212):2189-2201).

Поэтому полагают, что чрезмерная активация IRAK4-зависимого сигнального пути TLR/IL-1R тесно связана с развитием и прогрессированием ревматоидного артрита. В различных исследованиях было установлено, что активация IRAK4 тесно связана с возникновением и прогрессированием таких заболеваний, как опухоли, подагра, системная красная волчанка, рассеянный склероз, метаболический синдром, атеросклероз, инфаркт миокарда, сепсис, воспалительное заболевание кишечника, астма и аллергия (Chaudhary D, et. al., J. Med. Chem. 2015, 58 (1):96-110).

Сущность изобретения

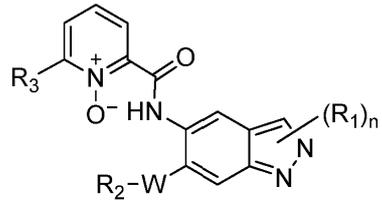
Для решения проблем уровня техники в настоящем изобретении предложены соединение формулы I или его стереоизомер, рацемат, таутомер, изотопно меченое соединение, пролекарство или фармацевтически приемлемая соль,



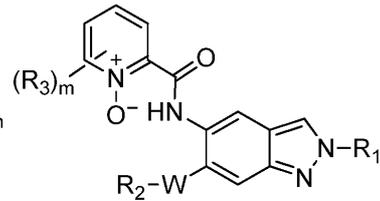
где

кольцо А представляет собой 5-14-членный гетероарил или 5-12-членный гетероциклический, содержащий по меньшей мере один атом N;

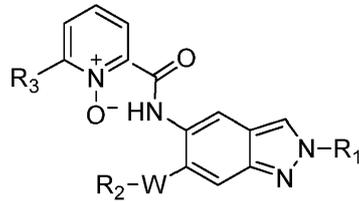
R₁, R₂ и R₃ каждый независимо выбран из водорода, галогена, CN, OH и следующих групп, необязательно замещенных одним, двумя или более R: (C₁-C₁₂)алифатический гидрокарбил, (C₁-C₁₂)алифатический гидрокарбил, необязательно содержащий один, два или более гетероатомов, C₃₋₁₂ циклоалкил, 3-12-членный ге-



формула Ic

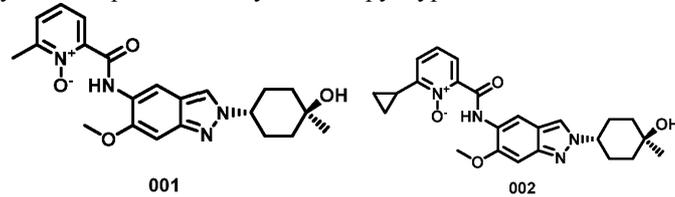


формула Id



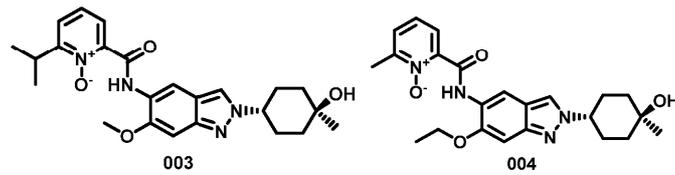
формула Ie

в формулах Ia, Ib, Ic, Id и Ie R_1 , R_2 , R_3 , m , n и W являются такими, как показано в формуле I. В соответствии с вариантом реализации настоящего изобретения в соединении формулы I или его стереоизомере, рацемате, таутомере, изотопно меченом соединении, пролекарстве или фармацевтически приемлемой соли соединение формулы I выбрано из следующих структур:



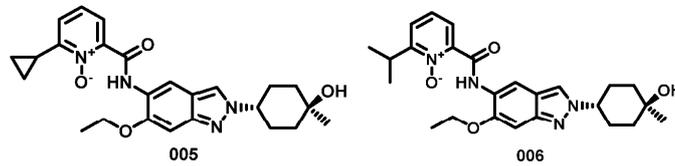
001

002



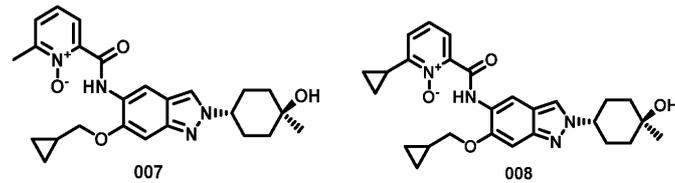
003

004



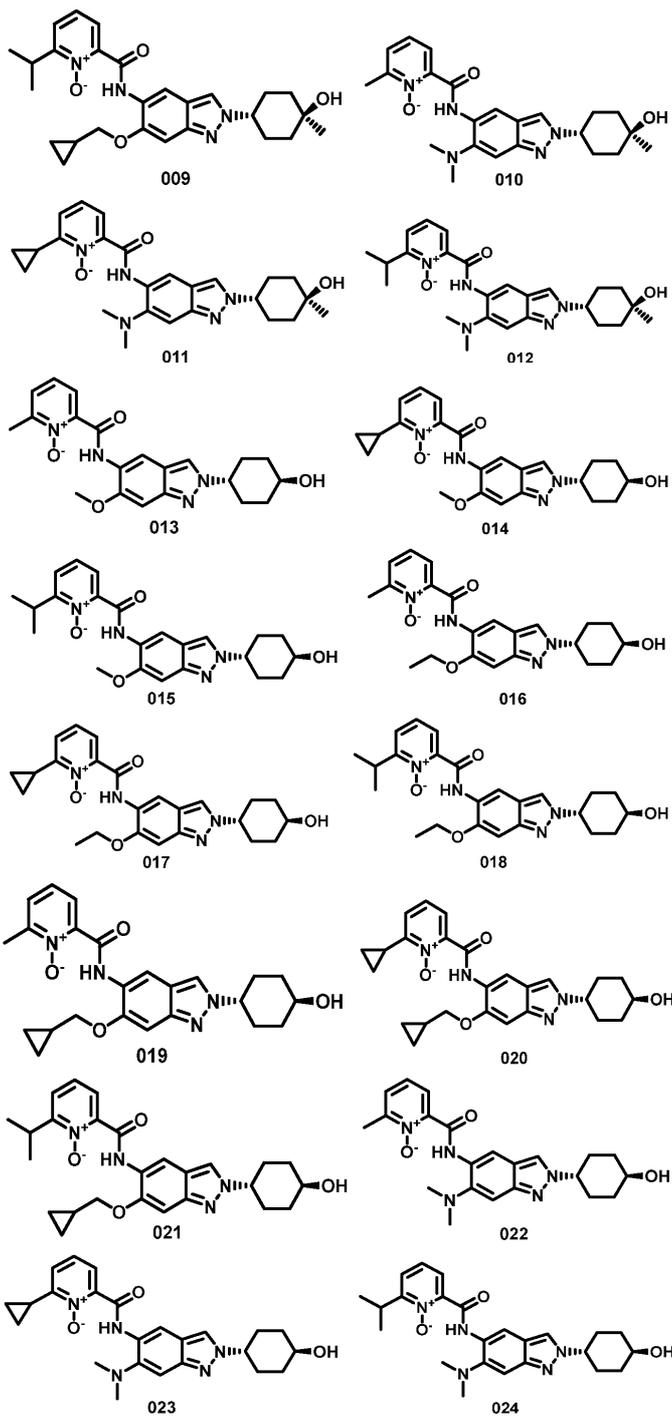
005

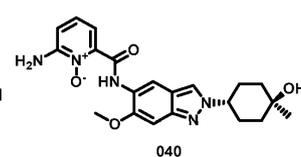
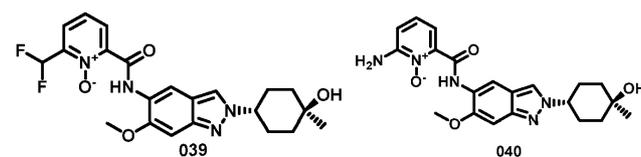
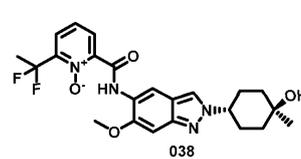
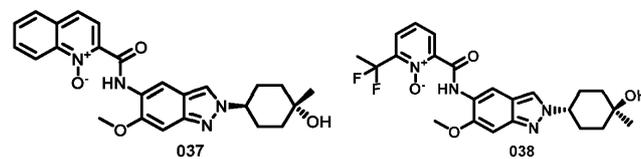
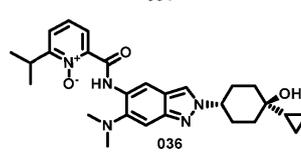
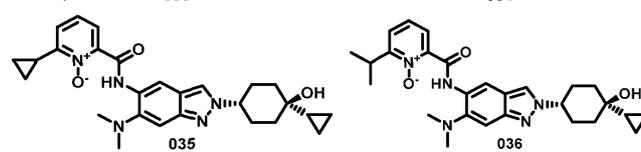
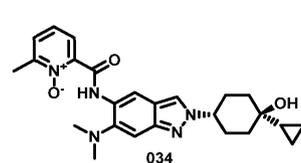
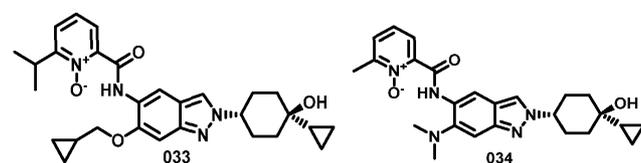
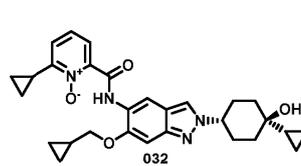
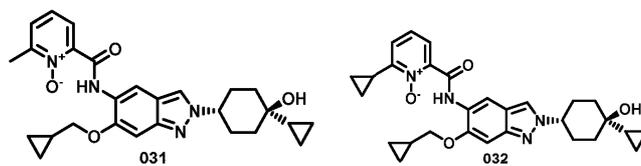
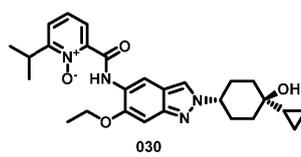
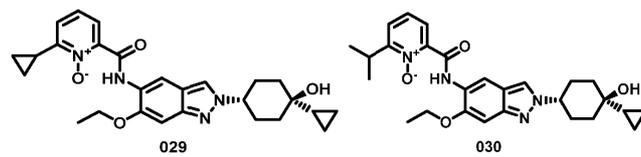
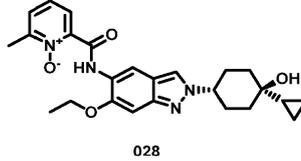
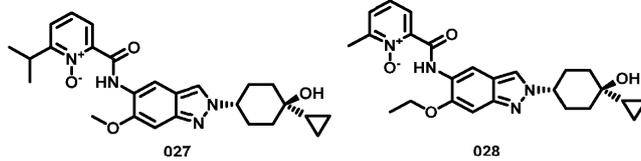
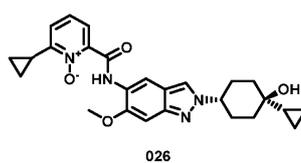
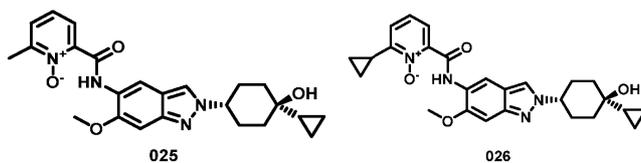
006

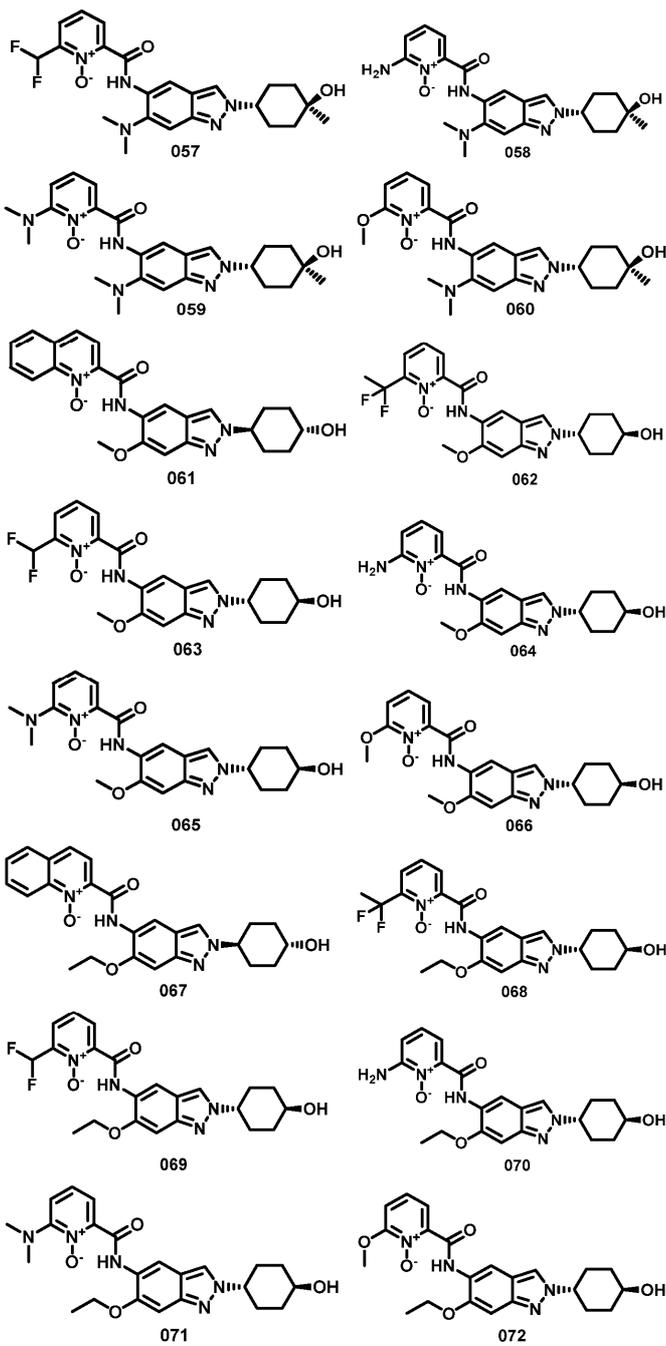


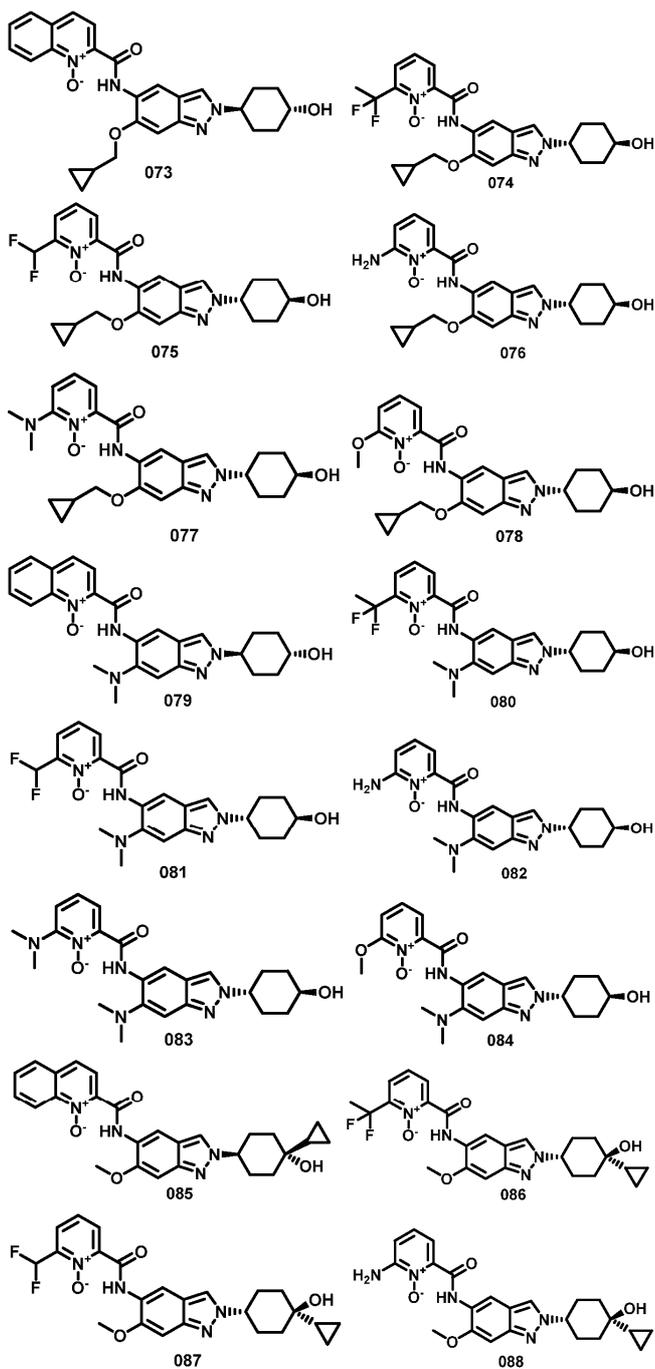
007

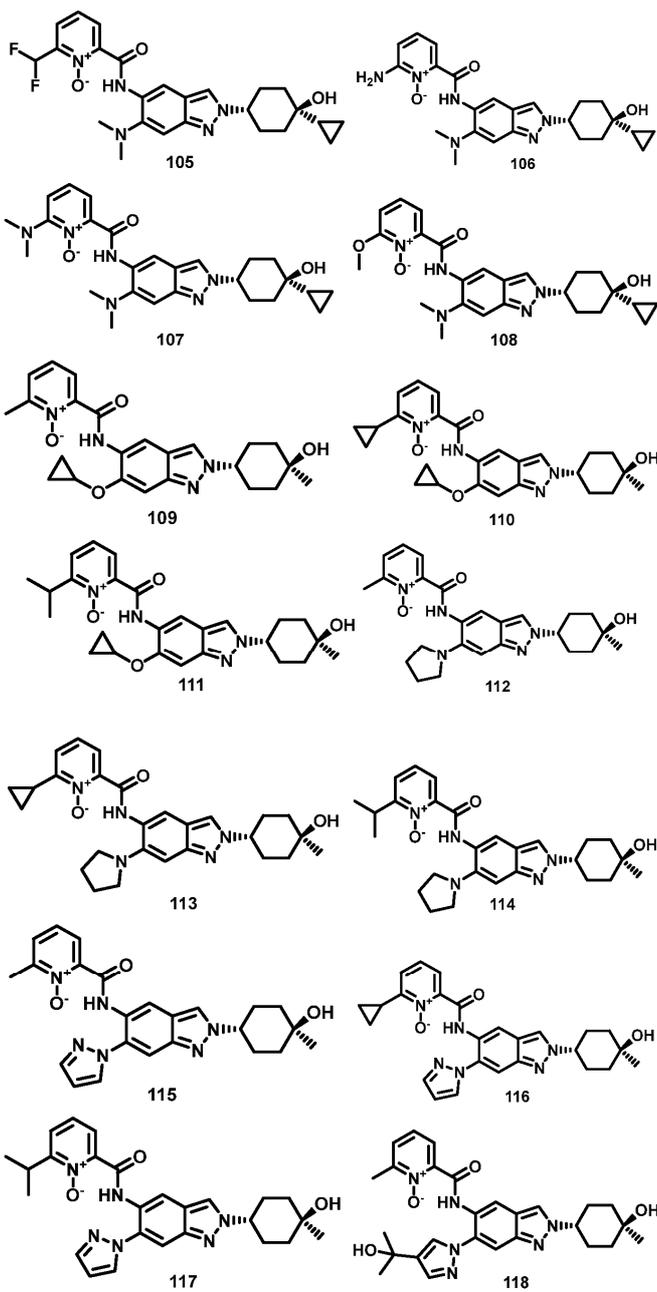
008

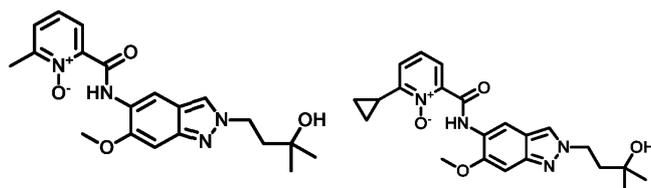






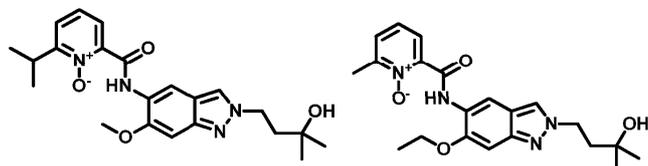






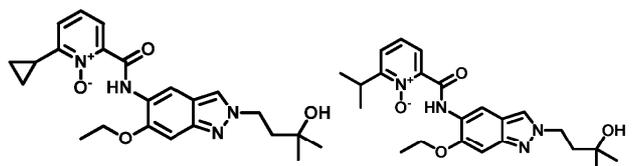
163

164



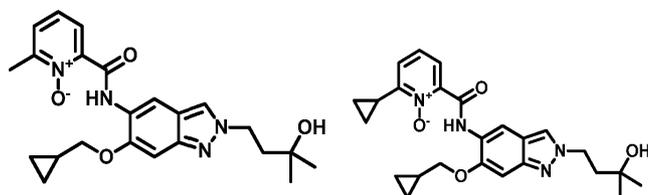
165

166



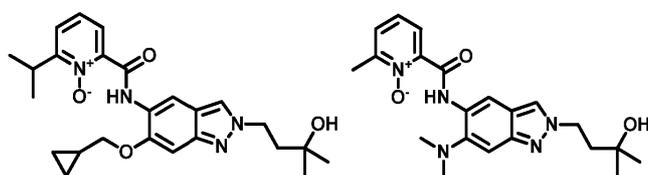
167

168



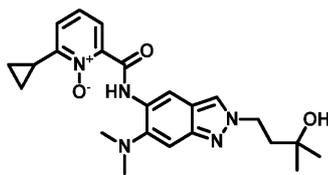
169

170

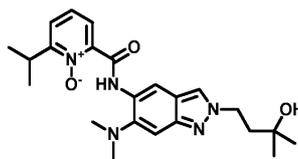


171

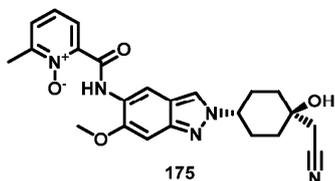
172



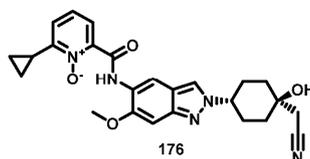
173



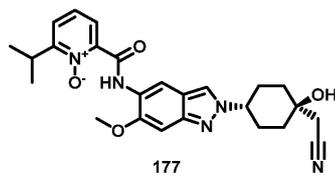
174



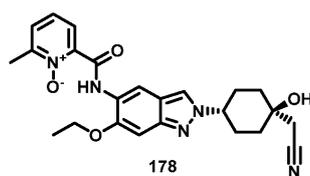
175



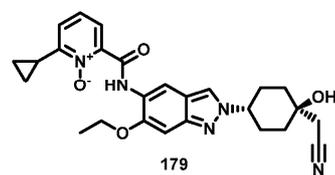
176



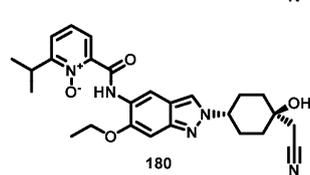
177



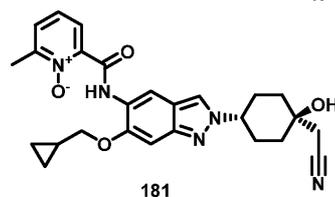
178



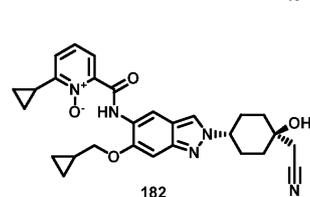
179



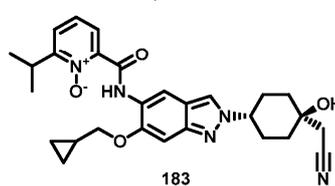
180



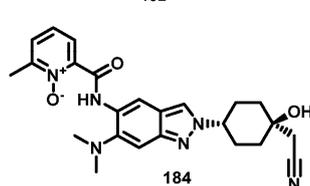
181



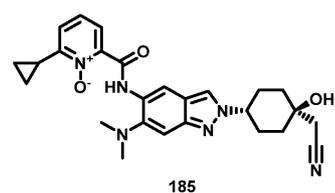
182



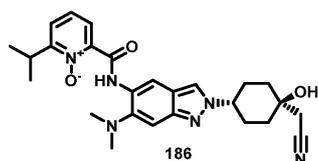
183



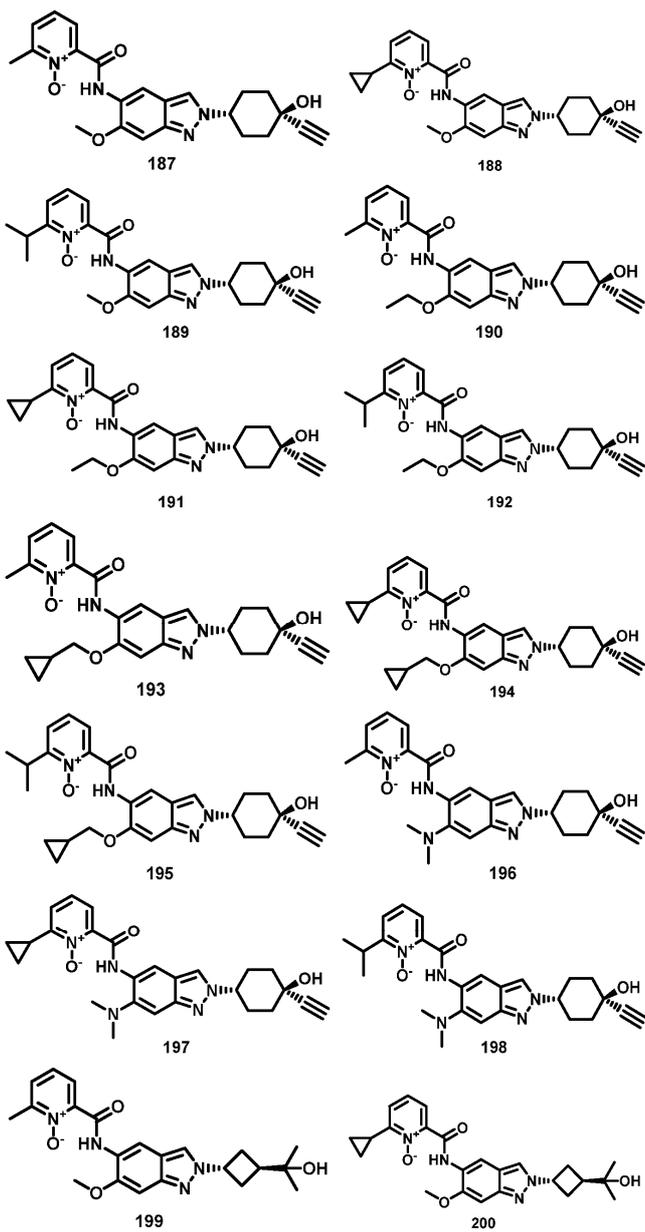
184

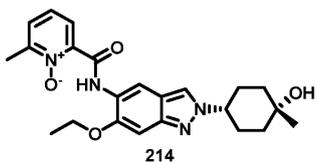
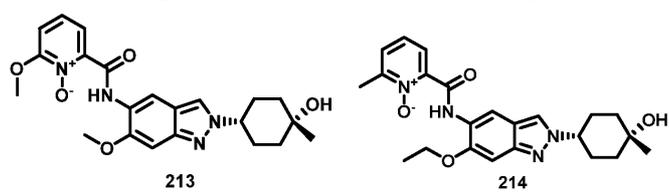
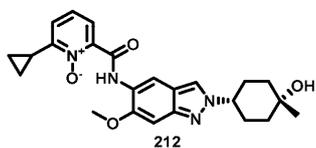
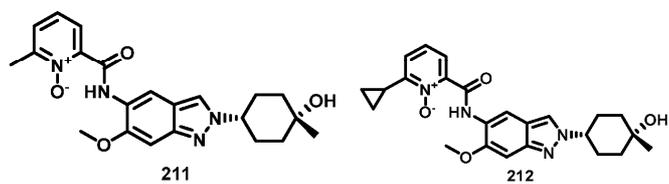
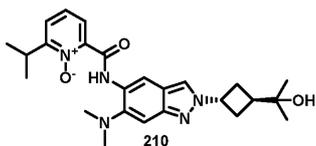
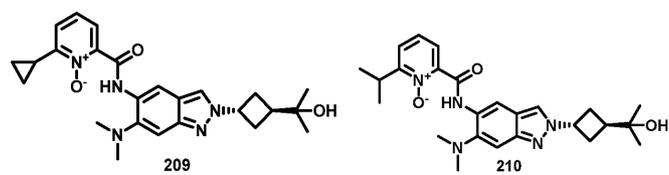
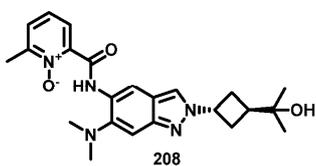
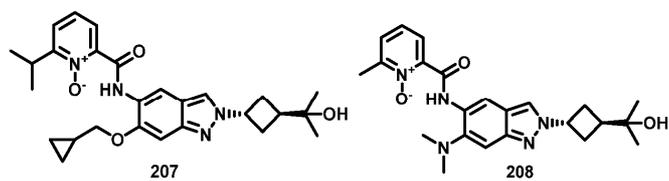
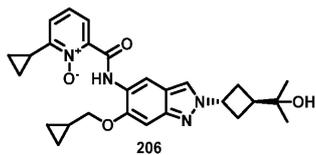
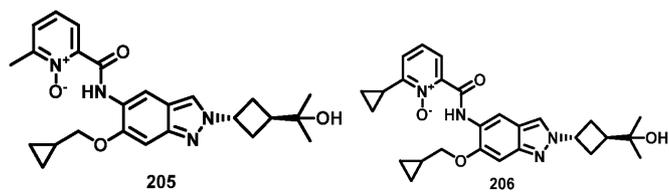
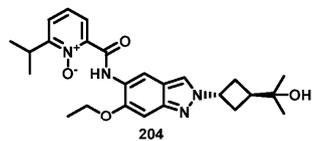
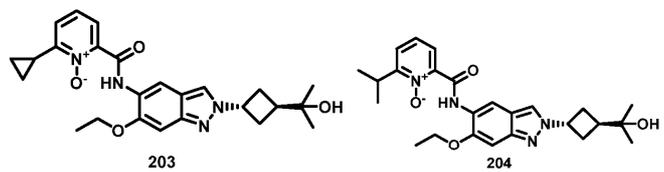
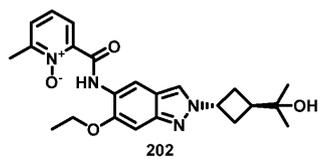
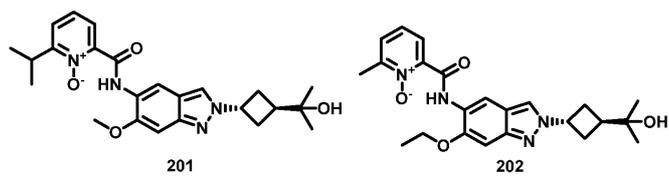


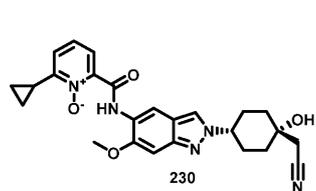
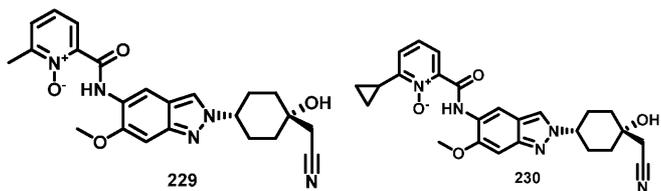
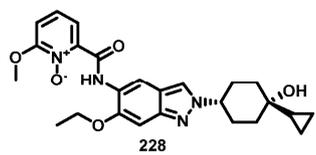
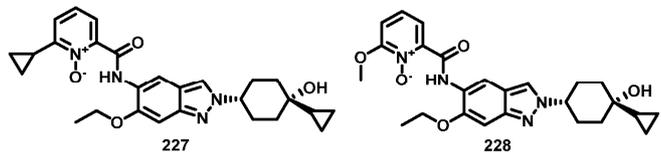
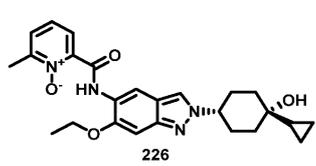
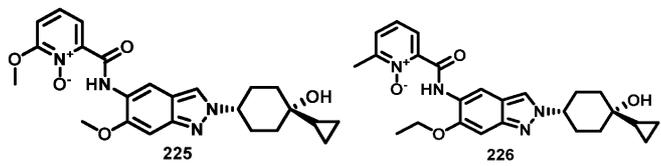
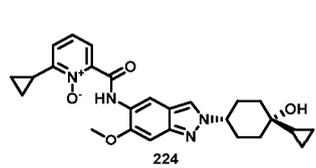
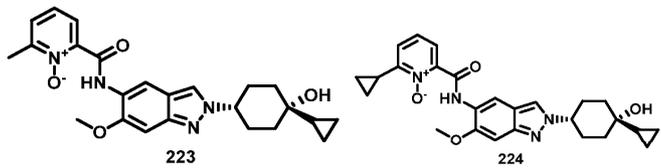
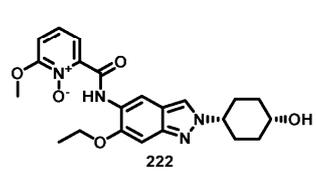
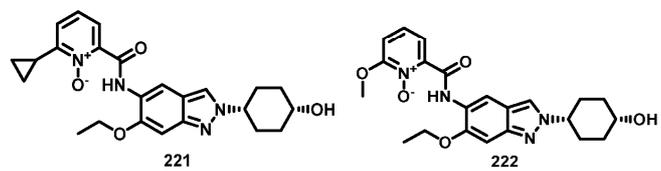
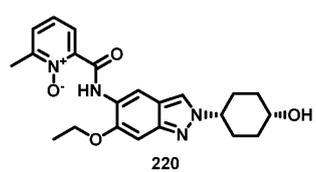
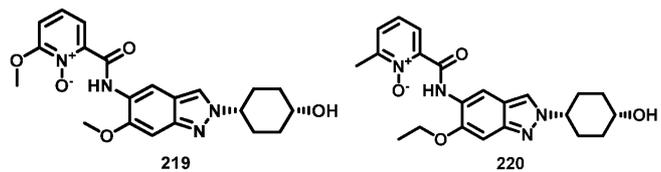
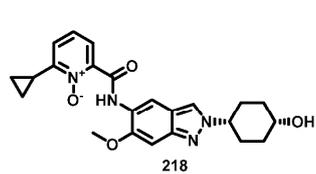
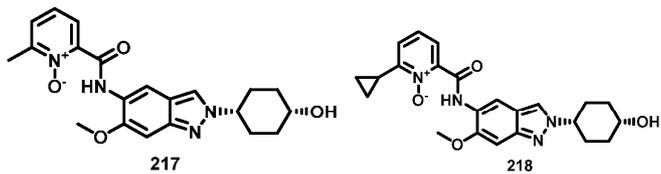
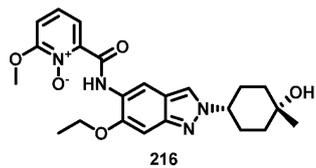
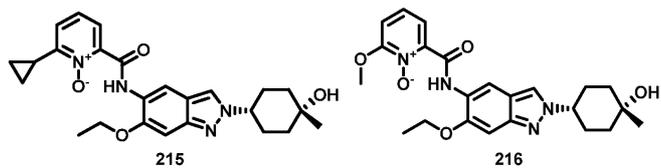
185

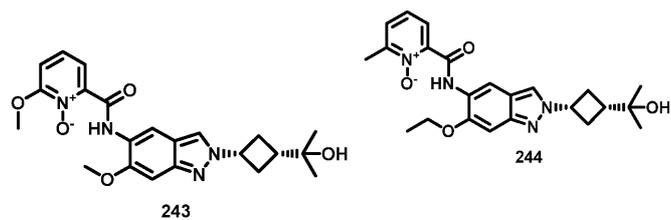
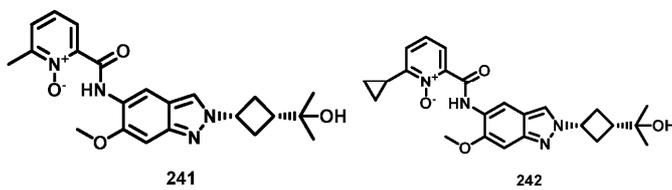
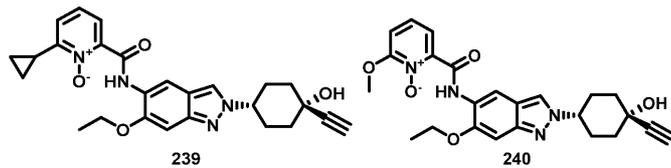
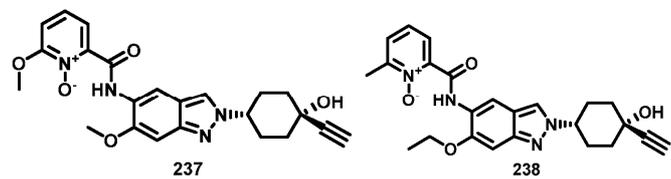
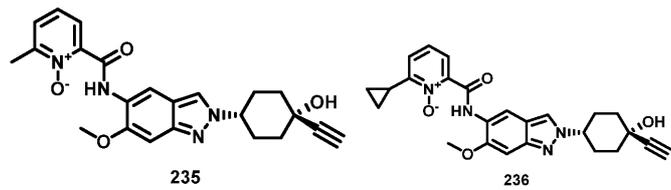
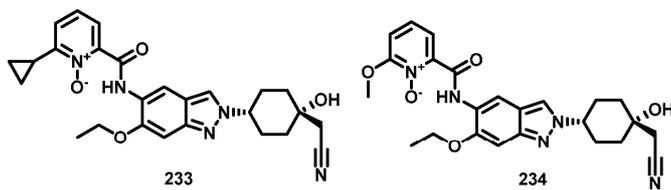
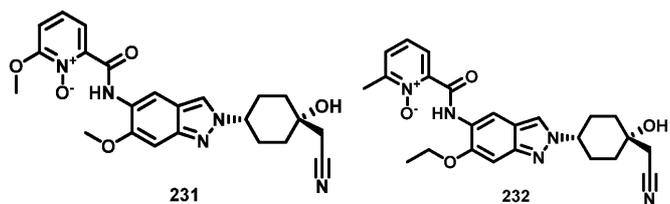


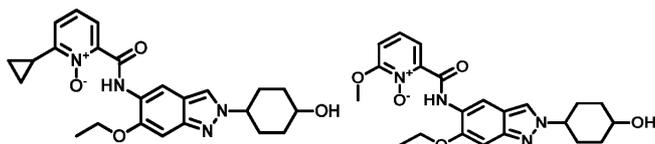
186





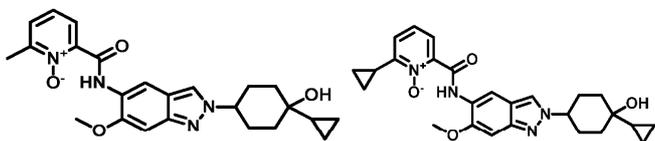






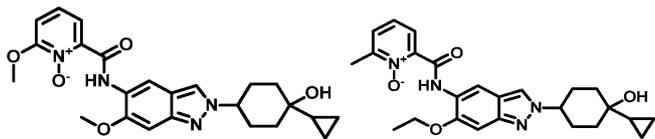
257

258



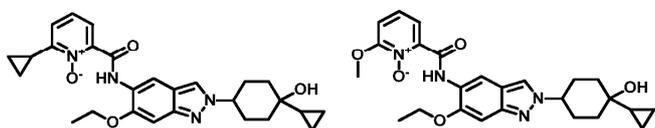
259

260



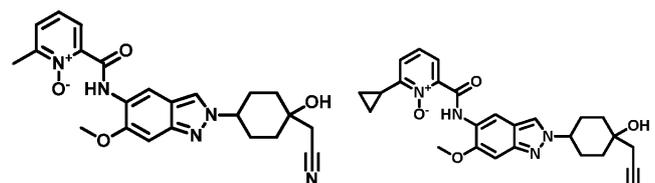
261

262



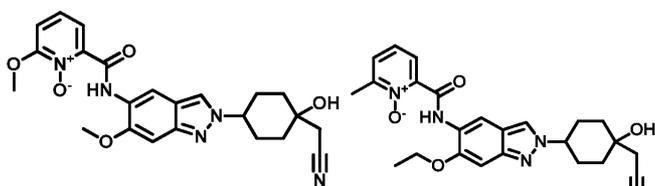
263

264



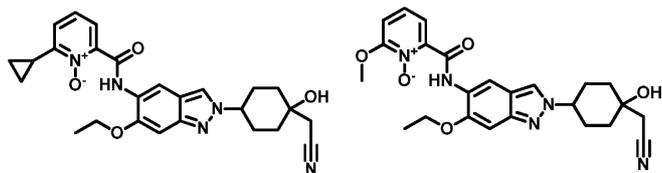
265

266



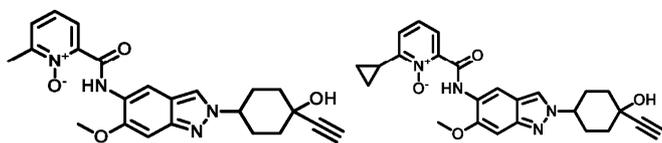
267

268



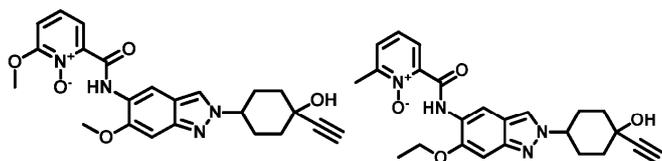
269

270



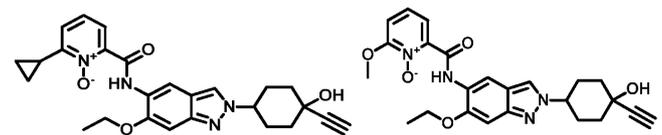
271

272



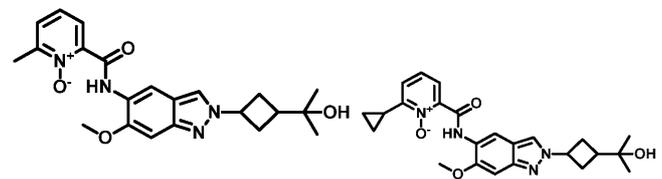
273

274



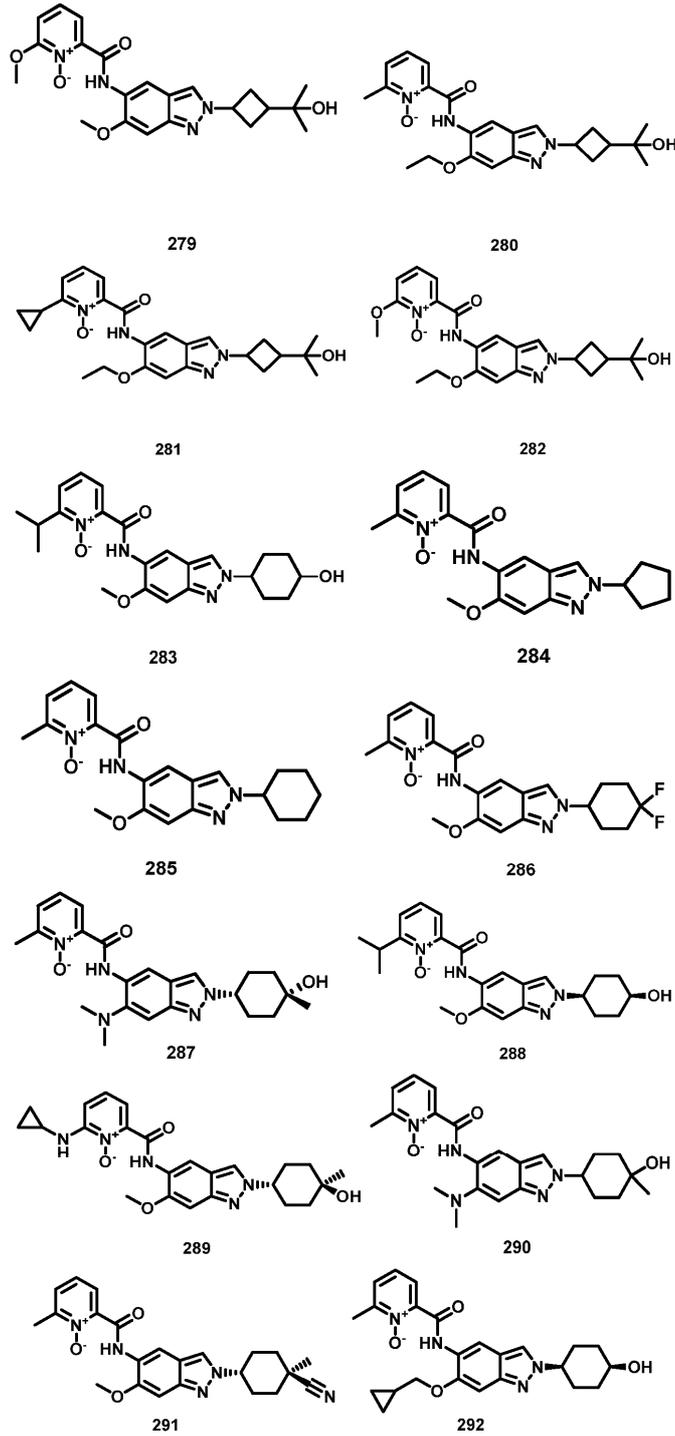
275

276

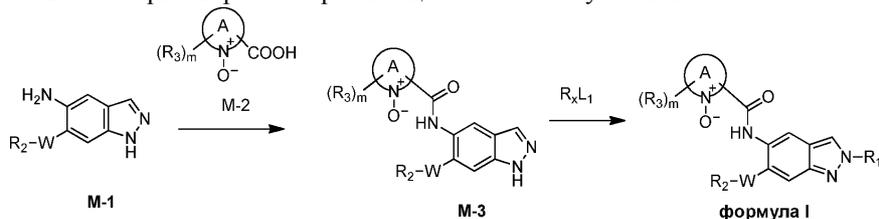


277

278



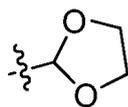
В настоящем изобретении предложен способ получения соединения формулы I (включающей формулы Ia-Ie) или его стереоизомера, рацемата, таутомера, изотопно меченого соединения, пролекарства или фармацевтически приемлемой соли, но при этом способ получения не ограничивается способом, описанным ниже. В некоторых вариантах реализации способ получения включает:



(a1) приведение во взаимодействие M-1 и M-2 с получением M-3, при этом реакцию проводят в присутствии EDCI.HCl и пиридина; и

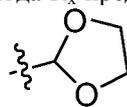
(a2) приведение во взаимодействие M-3 и R_xL_1 , где R_x выбран из R_1 и группы R_1 , содержащей

гидроксил, при этом указанный гидроксил замещен



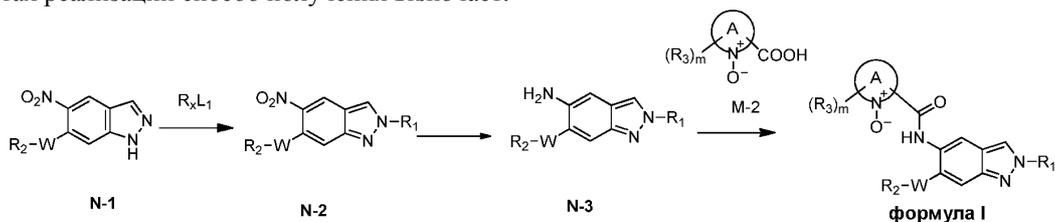
, когда R_x представляет собой групп-

пу R_1 , содержащую гидроксил, при этом указанный гидроксил замещен



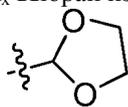
, реакцию проводят в присутствии кислоты и восстановителя с получением соединения формулы I, при этом кислота представляет собой HCl, а восстановитель представляет собой борогидрид натрия;

R_1 , R_2 , R_3 , m и W на вышеуказанных стадиях являются такими, как определено в формуле I, L_1 представляет собой уходящую группу и выбран из галогена и -OTs (тозилатная группа). В некоторых вариантах реализации способ получения включает:



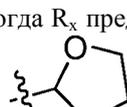
(b1) приведение во взаимодействие N-1 и R_xL_1 , где R_x выбран из R_1 и группы R_1 , содержащей

гидроксил, при этом указанный гидроксил замещен



, когда R_x представляет собой групп-

пу R_1 , содержащую гидроксил, при этом указанный гидроксил замещен



, реакцию проводят в присутствии кислоты и восстановителя с получением N-2, при этом кислота представляет собой HCl, а восстановитель представляет собой борогидрид натрия; (b2) восстановление N-2, полученного на предыдущей стадии, с получением N-3, при этом восстановитель представляет собой Pd/C; и (b3) приведение во взаимодействие N-3 и M-2 с получением соединения формулы I.

R_1 , R_2 , R_3 , m и W на вышеуказанных стадиях являются такими, как определено в формуле I, L_1 представляет собой уходящую группу и выбран из галогена и -OTs.

В настоящем изобретении дополнительно предложена фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы I или его стереоизомер, рацемат, таутомер, изотопно меченое соединение, пролекарство или фармацевтически приемлемую соль, описанные в настоящем изобретении.

В некоторых вариантах реализации изобретения описанная фармацевтическая композиция дополнительно содержит терапевтически эффективное количество соединения формулы I или его стереоизомера, рацемата, таутомера, изотопно меченого соединения, пролекарства или фармацевтически приемлемой соли, описанных в настоящем изобретении, и фармацевтически приемлемый носитель.

В настоящем изобретении дополнительно предложен способ применения соединения формулы I или его стереоизомера, рацемата, таутомера, изотопно меченого соединения, пролекарства или его фармацевтически приемлемой соли для получения ингибитора IRAK. В настоящем изобретении дополнительно предложен способ применения соединения формулы I или его стереоизомера, рацемата, таутомера, изотопно меченого соединения, пролекарства или фармацевтически приемлемой соли для получения лекарственного средства для предотвращения и/или лечения заболеваний или расстройств, опосредуемых IRAK. В соответствии с вариантом реализации настоящего изобретения IRAK-опосредуемые заболевания или расстройства выбраны из опухолей, подагры, системной красной волчанки, рассеянного склероза, метаболического синдрома, атеросклероза, инфаркта миокарда, сепсиса, воспалительного заболевания кишечника, астмы, аллергии и т.п.

В настоящем изобретении дополнительно предложен способ применения соединения формулы I или его стереоизомера, рацемата, таутомера, изотопно меченого соединения, пролекарства или его фармацевтически приемлемой соли для получения лекарственного средства для предотвращения и/или лечения заболеваний или расстройств, связанных с киназой, ассоциированной с рецептором интерлейкина-1.

В настоящем изобретении дополнительно предложен способ профилактики и/или лечения IRAK-опосредуемых заболеваний или расстройств, включающий введение индивидууму, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества соединения формулы I или его стереоизомера, рацемата, таутомера, изотопно меченого соединения, пролекарства или фармацевтически приемлемой соли или фармацевтической композиции.

В некоторых вариантах реализации IRAK представляет собой IRAK4-ассоциированную киназу.

В настоящем изобретении дополнительно предложен способ профилактики и/или лечения заболе-

ваний, связанных с рецептором интерлейкина-1, включающий введение индивидууму, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества соединения формулы I или его стереоизомера, рацемата, таутомера, изотопно меченого соединения, пролекарства или фармацевтически приемлемой соли, или фармацевтической композиции. В соответствии с вариантом реализации настоящего изобретения заболевания или расстройства, связанные с киназой, ассоциированной с рецептором интерлейкина-1, выбраны из опухолей, подагры, системной красной волчанки, рассеянного склероза, метаболического синдрома, атеросклероза, инфаркта миокарда, сепсиса, воспалительного заболевания кишечника, астмы, ревматоидного артрита, септицемии, аутоиммунного заболевания, аллергии и т.п. Способ согласно настоящему изобретению может включать введение описанных соединений отдельно или в комбинации с одним или более другими химиотерапевтическими агентами. Несколько лекарственных средств могут быть введены одновременно или последовательно.

Определения и сокращения терминов

Если не указано иное, определения групп и терминов, приведенные в описании и формуле настоящего изобретения, включая их определения в примерах, типовые определения, предпочтительные определения, определения, указанные в таблицах, определения отдельных соединений в примерах и т.п., могут быть произвольно объединены и рассматриваться совместно. Определения групп и структур соединений в таких сочетаниях и объединениях также входит в объем описания настоящего изобретения.

Когда числовой диапазон, определяемый "целым числом", приведен в описании и формуле изобретения в рамках настоящей заявки, его следует толковать как перечисление как конечных точек диапазона, так и каждого целого числа в пределах диапазона. Например, "целое число от 0 до 6" должно толковаться как диапазон, включающий каждое целое число 0, 1, 2, 3, 4, 5 и 6. Термин "больше" означает три или более.

"Необязательно замещенный заместителем" согласно настоящему изобретению означает как незамещенный, так и замещенный одним или более заместителями, например, "необязательно замещенный одним, двумя или более R" означает, что соединение не может быть замещено (не замещено) одним R или замещено одним, двумя или более R.

Термин "галоген" относится к F, Cl, Br и I. Т.е. атомы F, Cl, Br и I относятся к термину "галоген".

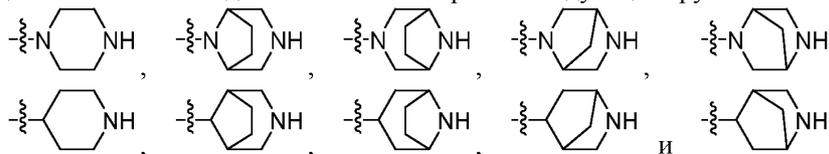
Термин "алифатический гидрокарбил" включает насыщенные или ненасыщенные и линейные или разветвленные или циклические углеводородные группы. Алифатический гидрокарбил выбран из алкила, алкенила, алкинила и т.п., содержит предпочтительно 1-12 или 1-10 атомов углерода и более предпочтительно 1-6 атомов углерода, и, в частности, включает, но без ограничения, следующие группы: метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, изобутил, трет-бутил, н-пентил, изопентил, неопентил, н-гексил, этенил, 1-пропенил, 2-пропенил, 1-метилфенил, 1-бутенил, 1-этилфенил, 1-метил-2-пропенил, 2-бутенил, 3-бутенил, 2-метил-1-пропенил, 2-метил-2-пропенил, 1-пентенил, 1-гексенил, этинил, 1-пропинил, 2-пропинил, 1-бутинил, 1-метил-2-пропинил, 3-бутинил, 1-пентинил, 1-гексинил, циклопентил, циклопентил и циклогексил;

"алифатический гидрокарбил" необязательно содержит один, два или более гетероатомов (которые могут быть истолкованы как необязательное включение гетероатомов в любую связь C-C и связь C-H алифатического гидрокарбила). Подходящие гетероатомы хорошо известны для специалистов в данной области техники и включают, например, серу, азот, кислород, фосфор и кремний. Алифатический гидрокарбил, содержащий гетероатомы, выбран из следующих групп: (C₁-C₆)алифатическая гидрокарбилокси, (C₁-C₆)алифатическая гидрокарбилтио, (C₁-C₆)алифатическая гидрокарбилокси (C₁-C₆)алифатическая гидрокарбилокси, (C₁-C₆)алифатическая гидрокарбилокси, N-(C₁-C₃)алифатическая гидрокарбиламино (C₁-C₆)алифатическая гидрокарбилокси и N,N-ди-(C₁-C₃)алифатическая гидрокарбиламино (C₁-C₆)алифатическая гидрокарбилокси, например, метокси, этокси, пропокси, бутокси, пентокси, метоксиметил, этоксиметил, пропоксиметил, метоксиэтил, этоксиэтил, пропоксиметил, метоксиэтил, метоксиэтил, метоксипропил, этоксипропил, этоксипропил, пропоксипропил, N-метиламинометил, N-метиламиноэтил, N-этиламиноэтил, N,N-диметиламинометил, N,N-диметиламиноэтил и N,N-диэтиламиноэтил; "алифатическая группа" содержит другие группы, описанные выше.

Термин "C₃₋₁₂ циклоалкил" относится к насыщенному или ненасыщенному одновалентному моноциклическому или бициклическому углеводородному кольцу, имеющему 3-12 атомов углерода, и предпочтительно представляет собой "C₃₋₁₀ циклоалкил". Термин "C₃₋₁₀ циклоалкил" относится к насыщенному одновалентному моноциклическому или бициклическому углеводородному кольцу, содержащему 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 атомов углерода. C₃₋₁₀ циклоалкил представляет собой моноциклический гидрокарбил, такой как циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклогексил, циклогептил, циклооктил, циклононил или циклодецил, или представляет собой бициклический гидрокарбил, такой как декагидронафталиновое кольцо.

Термин "3-12-членный гетероцикл" относится к насыщенному или ненасыщенному одновалентному моноциклическому или бициклическому кольцу, содержащему 1-5 гетероатомов, независимо выбранных из N, O и S. Термин "3-10-членный гетероцикл" относится к насыщенному одновалентному моноциклическому или бициклическому кольцу, содержащему 1-5, предпочтительно 1-3, гетероатомов, выбранных из N, O и S. Гетероцикл может быть соединен с остальной частью молекулы через любой

из атомов углерода или азота (при их наличии). В частности, гетероцикллил включает, но без ограничения: 4-членные кольца, такие как азетидинил или оксетанил; 5-членные кольца, такие как тетрагидрофурил, тетрагидротиенил, диоксолил, пирролидинил, имидазолидинил, пиразолидинил или пирролинил; 6-членные кольца, такие как тетрагидропиранил, пиперидинил, морфолинил, дитианил, тиоморфолинил, пиперазинил или тритианил; или 7-членные кольца, такие как диазепанил. Необязательно, гетероцикллил может быть бензоконденсированным. Гетероцикллил может быть бициклическим, таким как, но без ограничения, 5,5-членное кольцо, такое как гексагидроциклопента [с]пиррол-2(1H)-ильное кольцо, или 5,6-членное бициклическое кольцо, такое как гексагидропирроло[1,2-а]пиазин-2(1H)-ильное кольцо. Кольцо, содержащее атомы азота, может быть частично ненасыщенным, то есть оно может содержать одну или более двойных связей, таких как, но без ограничения, 2,5-дигидро-1H-пирролил, 4H-[1,3,4] тиадиазинил, 4,5-дигидрооксазолил или 4H-[1,4] тиазинил, или оно может быть бензоконденсированным, таким как, но без ограничения, дигидроизохинолинил. В соответствии с настоящим изобретением 3-12-членный гетероцикллил может быть дополнительно выбран из следующих групп:



Термин "C₆₋₂₀ арил" предпочтительно относится к ароматическому или частично ароматическому моноциклическому, бициклическому или трициклическому одновалентному углеводородному кольцу, содержащему 6-20 атомов углерода, и предпочтительно представляет собой "C₆₋₁₄ арил". Термин "C₆₋₁₄ арил" предпочтительно относится к ароматическому или частично ароматическому одновалентному моноциклическому, бициклическому или трициклическому углеводородному кольцу, имеющему 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 или 14 атомов углерода ("C₆₋₁₄ арил"), в частности, кольцу, имеющему 6 атомов углерода ("C₆ арил"), такому как фенил; или бифенилу, кольцу, имеющему 9 атомов углерода ("C₉ арил"), такому как инданил или инденил, кольцу, имеющему 10 атомов углерода ("C₁₀ арил"), такому как тетрагидронафтил, дигидронафтил или нафтил, кольцу, имеющему 13 атомов углерода ("C₁₃ арил"), такому как флуоренил, или кольцу, имеющему 14 атомов углерода ("C₁₄ арил"), такому как антраценил.

Термин "5-14-членный гетероарил" относится к ароматическому одновалентному моноциклическому, бициклическому или трициклическому кольцу, которое имеет 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 или 14 кольцевых атомов, в частности, 5, 6, 9 или 10 атомов углерода, содержит 1-5, предпочтительно 1-3 гетероатома, независимо выбранных из N, O и S, и может быть бензоконденсированным в каждом отдельном случае. В частности, гетероарил выбран из тиенила, фурила, пирролила, оксазолила, тиазолила, имидазолила, пиразолила, изоксазолила, изотиазолила, оксадиазолила, триазолила, тиадиазолила, тиа-4H-пиразолила и т.п. и их бензопроизводных, таких как бензофуранил, бензотиенил, бензоксазолил, бензоизоксазолил, бензимидазолил, бензотриазолил, индазолил, индолил и изоиндолил; или пиридинил, пиридазинил, пиримидинил, пиазинил, триазинил и т.п. и их бензопроизводных, таких как хинолил, хиназолинил и изохинолил; или азоцинил, индолизинил, пуринил и т.п. и их производных; или циннолил, финтазинил, хиназолил, хиназолил, ниназинил, нитридинил, карбаридинил, фенил, фенилазинил и т.п.

Если не указано иное, гетероцикллил или гетероарил включает все возможные изомерные формы, например, позиционные изомеры. Поэтому для некоторых иллюстративных примеров без ограничения пиридинил или пиридинилен включает пиридин-2-ил, пиридинилен-2-ил, пиридин-3-ил, пиридинилен-3-ил, пиридин-4-ил и пиридинилен-4-ил; тиенил или тиенилен включает тиен-2-ил, тиен-2-илен, тиен-3-ил и тиен-3-илен.

"3-12-членный гетероцикллил" и "5-14-членный гетероарил", описанные в настоящем изобретении, могут дополнительно содержать 5-12-членный гетероцикллил или 5-14-членный гетероарил, содержащий N, то есть азотсодержащий 5-12-членный гетероцикллил или 5-14-членный гетероарил выбран из соответствующих групп под определением "3-12-членный гетероцикллил" и "5-14-членный гетероарил".

Согласно структуре соединения, описанные в настоящем изобретении, могут быть хиральными и, следовательно, могут существовать в различных энантиомерных формах. Поэтому эти соединения могут существовать в рацемической или оптически активной форме. Соединения, описанные в настоящем изобретении, или их промежуточные соединения могут быть разделены на энантиомеры с помощью химических или физических способов, хорошо известных специалистам в данной области техники, или использованы в этой форме для синтеза. В случае рацемических аминов диастереоизомеры получают из смесей путем реакции с оптически активными разделяющими агентами. Примеры подходящих разделяющих агентов включают оптически активные кислоты, такие как R- или S-винная кислота, диацетилвинная кислота, дибензоилвинная кислота, миндальная кислота, яблочная кислота, молочная кислота, подходящие N-защищенные аминокислоты (например, N-бензоилпролин или N-бензолсульфонилпролин) или различные оптически активные камфорсульфоновые кислоты. Энантиомерное разделение с помощью хроматографии преимущественно может быть осуществлено с помощью оптически активных разделяющих агентов, таких как динитробензоилфенилглицин, триацетат целлюло-

зы или другие производные углеводов или хирально дериватизированные метакрилатные полимеры, иммобилизованные на силикагеле. Подходящими элюентами для этого являются смеси растворителей, содержащих воду или спирт, например, гексан/изопропанол/ацетонитрил.

Фармацевтически приемлемая соль представляет собой, например, кислотно-аддитивные соли соединений, описанных в настоящем изобретении, имеющие атом азота в цепи или кольце с достаточной основностью, например, кислотно-аддитивные соли, полученные со следующими неорганическими кислотами: хлористоводородная кислота, фтористоводородная кислота, бромистоводородная кислота, иодистоводородная кислота, серная кислота, пироксерная кислота, фосфорная кислота или азотная кислота; гидросульфаты; или кислотно-аддитивные соли со следующими органическими кислотами: муравьиная кислота, уксусная кислота, ацетоуксусная кислота, пировиноградная кислота, трифторуксусная кислота, пропионовая кислота, масляная кислота, гексановая кислота, гептановая кислота, ундекановая кислота, лауриновая кислота, бензойная кислота, салициловая кислота, 2-(4-гидроксibenзоил)бензойная кислота, камфоровая кислота, коричная кислота, циклопентанпропионовая кислота, диглюконовая кислота, 3-гидрокси-2-нафтеновая кислота, никотиновая кислота, памовая кислота, пектиновая кислота, пероксосульфоновая кислота, 3-фенилпропионовая кислота, пикановая кислота, пивалиансульфоновая кислота, 2-гидроксиэтансульфоновая кислота, итаконовая кислота, сульфаминовая кислота, трифторметансульфоновая кислота, додецилсульфуровая кислота, этансульфоновая кислота, бензолсульфоновая кислота, п-толуолсульфонокислота, метансульфонокислота, 2-нафталинсульфонокислота, нафталиндисульфокислота, камфорсульфонокислота, лимонная кислота, винная кислота, стеариновая кислота, молочная кислота, щавелевая кислота, малоновая кислота, янтарная кислота, яблочная кислота, адипиновая кислота, альгиновая кислота, малеиновая кислота, фумаровая кислота, D-глюконовая кислота, миндальная кислота, аскорбиновая кислота, глюкогептоевая кислота, глицерофосфорная кислота, аспарагиновая кислота, сульфосалициловая кислота, полусерная кислота или тиоциановая кислота.

Кроме того, другая подходящая фармацевтически приемлемая соль соединений, описанных в настоящем изобретении, обладающая достаточной кислотностью, представляет собой соль щелочного металла (например, натриевая соль или калийная соль), соль щелочноземельного металла (например, соль кальция или магния), соль аммония или соль, образованную органическим основанием, которое дает физиологически приемлемый катион, например, соль, образованную: ионом натрия, ионом калия, N-метилглюкамин, диметилглюкамин, этилглюкамин, лизин, дициклогексиламин, 1,6-гександиамином, этаноламином, глюкозамином, меглюмином, саркозином, сериолом, тригидроксиметиламинометаном, аминопропандиолом или 1-амино-2,3,4-бутантриолом. В качестве примера могут служить фармацевтически приемлемые соли, которые включают соли, образованные группой -COOH, со следующими катионами: ион натрия, ион калия, ион кальция, ион магния, N-метилглюкамин, диметилглюкамин, этилглюкамин, лизин, дициклогексиламин, 1,6-гександиамин, этаноламин, глюкозамин, меглюмин, саркозин, сериол, тригидроксиметиламинометан, аминопропандиол или 1-амино-2,3,4-бутантриол. Кроме того, основные азотсодержащие группы могут быть кватернизированы следующими агентами: низшие алкилгалогениды, такие как метил-, этил-, пропил- и бутилхлориды, бромиды и йодиды; диалкилсульфаты, такие как диметилсульфат, диэтилсульфат, дибутилсульфат и дипентилсульфат; длинноцепочечные галогениды, такие как децил-, лаурил-, миристил- и стеарилхлориды, бромиды и йодиды; и аралкилгалогениды, такие как бензил- и фенилбромиды. Например, фармацевтически приемлемые соли включают гидрохлорид, сульфат, нитрат, бисульфат, гидробромид, ацетат, оксалат, цитрат, мезилат, формиат, меглюмин и т.п.

Поскольку соединения, описанные в настоящем изобретении, могут иметь множество солеобразующих фрагментов, "фармацевтически приемлемая соль" включает не только соль, образованную на 1 солеобразующем фрагменте соединений, описанных в настоящем изобретении, но и соли, образованные на 2, 3 или во всех солеобразующих фрагментах. Для этого молярное отношение соединения формулы I к радикальному иону (аниону) кислоты или катиону основания, необходимому для образования соли, может варьироваться в широком диапазоне и может составлять, например, от 4:1 до 1:4, например, 3:1, 2:1, 1:1, 1:2 и 1:3. В соответствии с настоящим изобретением фармацевтически приемлемые анионы включают анионы, выбранные из анионов, полученных в результате ионизации неорганических или органических кислот. "Неорганическая кислота" включает, но без ограничения, хлористоводородную кислоту, фтористоводородную кислоту, бромистоводородную кислоту, иодистоводородную кислоту, серную кислоту, пироксерную кислоту, фосфорную кислоту или азотную кислоту. "Органическая кислота" включает, но без ограничения, муравьиную кислоту, уксусную кислоту, ацетоуксусную кислоту, пировиноградную кислоту, трифторуксусную кислоту, пропионовую кислоту, масляную кислоту, гексановую кислоту, гептановую кислоту, ундекановую кислоту, лауриновую кислоту, бензойную кислоту, салициловую кислоту, 2-(4-гидроксibenзоил)бензойную кислоту, камфоровую кислоту, коричную кислоту, циклопентанпропионовую кислоту, диглюконовую кислоту, 3-гидрокси-2-нафтеновую кислоту, никотиновую кислоту, памовую кислоту, пектиновую кислоту, пероксосульфоновую кислоту, 3-фенилпропионовую кислоту, пикановую кислоту, пивалиансульфоновую кислоту, 2-гидроксиэтансульфоновую кислоту, итаконовую кислоту, сульфаминовую кислоту, трифторметансульфоновую кислоту, додецилсульфуровую кислоту, этансульфоновую кислоту, бензолсульфоновую кислоту, п-толуолсульфонокислоту, метансульфо-

кислоту, 2-нафталинсульфокислоту, нафталиндисульфокислоту, камфорсульфокислоту, лимонную кислоту, винную кислоту, стеариновую кислоту, молочную кислоту, щавелевую кислоту, малоновую кислоту, янтарную кислоту, яблочную кислоту, адипиновую кислоту, альгиновую кислоту, малеиновую кислоту, фумаровую кислоту, D-глюконовую кислоту, миндальную кислоту, аскорбиновую кислоту, глюкгоптеовую кислоту, глицерофосфорную кислоту, аспарагиновую кислоту, сульфосалициловую кислоту, полусерную кислоту или тиоциановую кислоту.

В соответствии с положением и природой различных заместителей, соединения, описанные в настоящем изобретении, также могут содержать один или более асимметричных центров. Могут присутствовать асимметричные атомы углерода в (R) или (S) конфигурации. При наличии только одного асимметричного центра образуется рацемическая смесь, а при наличии нескольких асимметричных центров образуется диастереоизомерная смесь. В некоторых случаях асимметрия также может наблюдаться из-за затрудненного вращения относительно определенной связи, например, два замещенных ароматических кольца определенного соединения, соединенного простой связью, могут быть асимметричными. Кроме того, заместители могут существовать в цис- или транс-изомерных формах.

Соединения, описанные в настоящем изобретении, также включают все возможные их стереоизомеры, либо в форме одного стереоизомера, либо в форме любой смеси стереоизомеров (например, R- или S-изомеров, или E- или Z-изомеров) в любом соотношении. Одиночные стереоизомеры (например, одиночные энантиомеры или диастереоизомеры) соединений, описанных в настоящем изобретении, могут быть разделены любым подходящим способом согласно известному уровню техники (например, хроматографией, в частности, например, хиральной хроматографией).

Термин "таутомер" относится к функциональным изомерам, образующимся в результате быстрого перемещения атома в молекуле между двумя положениями. Соединения, описанные в настоящем изобретении, могут проявлять таутомеризм. Таутомерные соединения могут существовать в двух или более взаимно превращающихся формах. Прототропные таутомеры являются результатом миграции ковалентно связанного атома водорода между двумя атомами. Таутомеры, как правило, находятся в равновесной форме. Попытка выделить один таутомер обычно приводит к образованию смеси, физико-химические свойства которой соответствуют смеси соединений. Положение равновесия зависит от химических свойств молекулы. Например, во многих алифатических альдегидах и кетонах, таких как ацетальдегид, преобладает кетоформа; тогда как в феноле - енольная форма. В объем настоящего изобретения входе все таутомерные формы соединения.

В настоящем изобретении рассматриваемые соединения также включают изотопно меченые соединения, которые аналогичны соединению формулы I, но имеют один или более атомов, замещенных атомами с атомной массой или массовым числом, отличным от атомной массы или массового числа, обычно встречающихся в природе. Примеры изотопов, которые могут быть включены в соединения, описанные в настоящем изобретении, включают изотопы H, C, N, O, S, F и Cl, такие как ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{11}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{17}O , ^{32}P , ^{35}S , ^{18}F и ^{36}Cl . Соединение или его пролекарство, или его фармацевтически приемлемые соли, содержащие вышеуказанные изотопы и/или изотопы других атомов, входят в объем настоящего изобретения. Некоторые изотопно меченые соединения, описанные в настоящем изобретении, например, соединения, в которые включены радиоактивные изотопы, такие как ^3H и ^{14}C , можно применять в анализах распределения лекарственного средства и/или субстрата в тканях. Изотопы трития (т.е. ^3H) и углерода 14 (т.е. ^{14}C) являются более предпочтительными по причине простоты получения и обнаруживаемости. Кроме того, замена более тяжелыми изотопами, такими как дейтерий (т.е. ^2H), может давать определенные терапевтические преимущества (например, увеличение периода полувыведения *in vivo* или снижение дозы) по причине большей метаболической стабильности и, следовательно, может быть предпочтительной в некоторых вариантах. Соединения, описанные в настоящем изобретении, могут быть, в частности, ограничены соединениями с заменой на дейтерий или тритий. Кроме того, отсутствие отдельного описания для водорода в заместителе для термина "дейтерий" или "тритий" не означает, что дейтерий или тритий исключаются, наоборот, дейтерий или тритий могут быть включены в заместитель. Термин "эффективное количество" или "терапевтически эффективное количество" относится к количеству соединений, описанных в настоящем изобретении, достаточному для осуществления предполагаемого применения, включая, но без ограничения, лечение заболеваний, как указано ниже. Терапевтически эффективное количество может варьироваться в зависимости от следующих факторов: предполагаемого применения (*in vitro* или *in vivo*) или субъекта и заболеваний или состояний, подлежащих лечению, таких как масса тела и возраст субъекта, тяжесть заболеваний или состояний и способ применения, которые могут быть легко определены специалистом в данной области техники. Определенная доза может варьироваться в зависимости от следующих факторов: выбранное соединение, соблюдаемый режим дозирования, необходимость применения комбинации с другими соединениями, график применения, ткань, в которую вводится соединение, и физическая система доставки.

Термин "вспомогательное вещество" относится к фармацевтически приемлемому инертному ингредиенту. Примеры типов вспомогательных веществ включают, но без ограничения, связующие вещества, разрыхлители, смазывающие вещества, глйданты, стабилизаторы, наполнители, разбавители и т.п. Вспомогательные вещества способны улучшать рабочие характеристики фармацевтической композиции, т.е.

повышать способность композиции к прямому сжатию за счет увеличения текучести и/или адгезии. Примеры типичных фармацевтически приемлемых носителей, подходящих для применения в вышеуказанных композициях, включают: сахарады, такие как лактоза, сахароза, маннитол и сорбитол; крахмалы, такие как кукурузный крахмал, тапиоковый крахмал и картофельный крахмал; целлюлоза и ее производные, такие как карбоксиметилцеллюлоза натрия, этилцеллюлоза и метилцеллюлоза; фосфаты кальция, такие как гидрофосфат кальция и фосфат кальция; сульфат натрия; сульфат кальция; поливинилпирролидон; поливиниловый спирт; стеариновая кислота; стеарат щелочноземельного металла, такой как стеарат магния и стеарат кальция; растительные масла, такие как арахисовое масло, хлопковое масло, кунжутное масло, оливковое масло и кукурузное масло; неионогенные, катионные и анионные поверхностно-активные вещества; гликолевый полимер; жирные спирты; и соли гидролиза зерна и другие нетоксичные совместимые вспомогательные вещества, обычно применяемые в фармацевтических композициях, например, наполнители, связующие вещества, дезинтегранты, консерванты, антиоксиданты и красители.

Термин "сольват" относится к формам соединений, описанных в настоящем изобретении, в которых комплекс образуется путем координации соединения в твердом или жидком состоянии с молекулами растворителя. Гидрат является определенной формой сольвата, в котором имеется координация с водой. В настоящем изобретении предпочтительным сольватом является гидрат. Кроме того, фармацевтически приемлемые сольваты (гидраты) соединения формулы I, описанного в настоящем изобретении, относятся к сокристаллам и клатратам, образованным из соединения формулы I и одной или более молекул воды или других растворителей в стехиометрических количествах. Доступные растворители для сольватов включают, но без ограничения, воду, метанол, этанол, этиленгликоль и уксусную кислоту.

Термин "пролекарство", также известный под названием "предшественник лекарственного средства", относится к соединению, которое превращается *in vivo* в соединение вышеуказанной общей формулы или определенное соединение. На подобное превращение оказывает влияние гидролиз пролекарства в крови или ферментативное превращение пролекарства в исходное соединение в крови или ткани. Пролекарство, описанное в настоящем документе, представляет собой сложные эфиры, а в настоящем изобретении сложные эфиры, которые применяют в качестве пролекарств, включают фениловые сложные эфиры, алифатические (C_{1-24}) сложные эфиры, ацилосиметилловые сложные эфиры, карбонаты, карбаматы и сложные эфиры аминокислот. Например, соединения, описанные в настоящем изобретении, содержащие гидроксил/карбоксил, могут быть ацилированы с получением пролекарства. Другие пролекарства включают фосфатные сложные эфиры, которые получают путем фосфорилирования по гидроксильной группе исходного соединения.

Названия реагентов, соответствующие сокращенным наименованиям реагентов

Сокращенные наименования реагентов	Наименование реагента
m-CPBA	<i>m</i> -Хлорпероксибензойная кислота
DCM	Дихлорметан
DIPEA	<i>N,N</i> -Диизопропилэтиламин
DMF	<i>N,N</i> -Диметилформамид
HATU	<i>O</i> -(7-Азабензотриазол-1-ил)- <i>N,N,N',N'</i> -тетраметилуруния гексафторфосфат
EDCI.HCl	1-(3-Диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида гидрохлорид
Py	Пиридин
DMAP	4-Диметиламинопиридин
ЭА	Этилацетат
TsCl или TosCl	<i>n</i> -Толуолсульфонилхлорид
NMP	<i>N</i> -Метилпирролидин-2-он
ПЭ	Петролейный эфир
DAST	Трифторид диэтиламиносеры

Благоприятные эффекты.

1) В настоящем изобретении предложено соединение общей формулы I с новой структурой, а в экспериментах показано, что соединение, описанное в настоящем изобретении, оказывает значительное ингибирующее действие на активность IRAK4 и обладает хорошим селективным ингибирующим действием в отношении активности IRAK4 в сравнении с другими киназами.

2) Соединение, описанное в настоящем изобретении, обладает высокой безопасностью при применении, широкой применимостью и низкой токсичностью, а эксперименты показывают, что соединение согласно настоящему изобретению имеет очень низкую степень ингибирования hERG человека, не имеет явного зависящего от времени ингибирования CYP3A4 человека, имеет умеренную скорость связывания белка с плазмой человека, крыс и мышей и небольшую разницу связывания между видами; в то же время

соединения, описанные в настоящем изобретении, не оказывают явного ингибирующего эффекта на 5 подтипов СYP человека.

3) Соединение, описанное в настоящем изобретении, оказывает значительное ингибирующее действие на высвобождение ФНО-альфа у самок мышей линии Balb/c, индуцированных ЛПС.

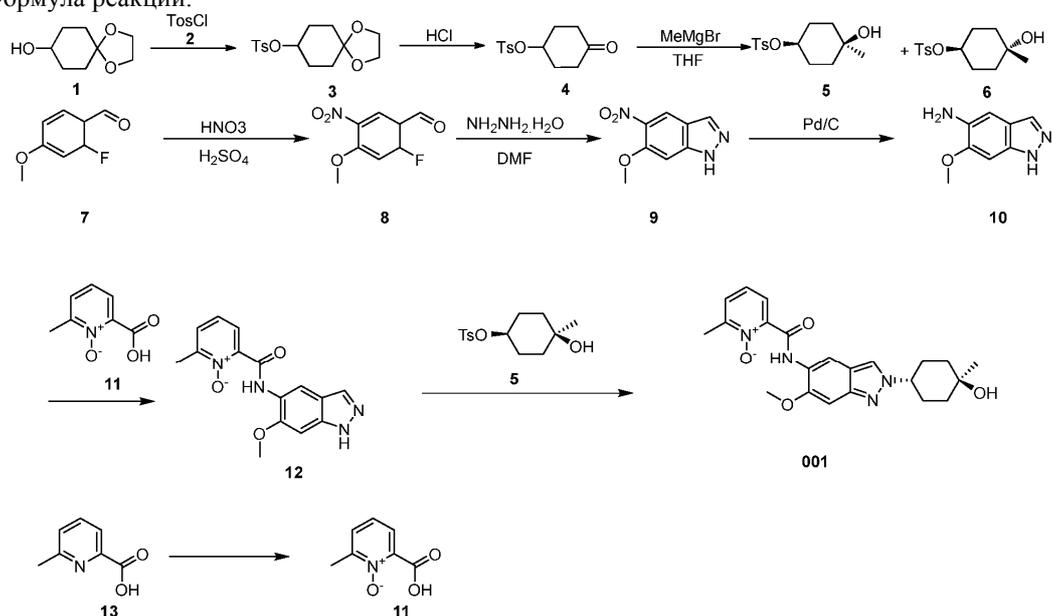
4) Соединение, описанное в настоящем изобретении, имеет хорошие фармакокинетические характеристики, демонстрирует высокую экспозицию и удержание у животных и имеет подходящий период полувыведения и хорошую абсорбцию лекарственного средства.

Подробное описание изобретения

Техническая схема согласно настоящему изобретению будет дополнительно подробно проиллюстрирована с указанием следующих конкретных примеров. Следует учитывать, что описанные примеры являются лишь демонстрацией и объяснением настоящего изобретения и не должны рассматриваться как ограничивающие объем правовой охраны настоящего изобретения. Все способы, реализованные с учетом вышеупомянутого содержания настоящего изобретения, входят в объем правовой охраны настоящего изобретения. Если не указано иное, исходные материалы и реагенты, используемые в описанных примерах, являются коммерчески доступными продуктами или могут быть получены известными способами.

Пример 1. Синтез соединения 001.

Формула реакции:



1. Синтез соединения 3.

DMAP (42,5 г), соединение 2 (63,4 г) и триэтиламин (63,9 г) последовательно добавляли к раствору соединения 1 (50 г) в дихлорметане (500 мл) при 15°C. Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 18 ч. В реакционный раствор добавляли дихлорметан (200 мл) и промывали водой (300 мл × 2) и 1 М соляной кислотой (300 мл × 3). Органическую фазу дегидратировали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении, в результате получали соединение 3 (98 г, выход: 99%).

2. Синтез соединения 4.

1 М соляную кислоту (300 мл) добавляли в раствор соединения 3 (50 г) в тетрагидрофуране (300 мл) при 15°C. Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 20 ч. При 0°C реакционный раствор доводили до pH = 9 с помощью 1 М раствора гидроксида натрия. Для выполнения экстракции добавляли этилацетат (200 мл × 3). Экстракты промывали насыщенным раствором хлорида натрия (300 мл), дегидратировали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток суспендировали с петролевым эфиром (150 мл), при этом получали соединение 4 (39 г, выход: 91%).

3. Синтез соединений 5 и 6.

Раствор соединения 4 (34,5 г) в тетрагидрофуране (200 мл) по каплям добавляли к раствору бромида метилмагния (85,8 мл) в тетрагидрофуране (500 мл) при -40°C. Реакционную смесь перемешивали при -40°C в течение 4 ч. После того, как реакционную смесь гасили насыщенным раствором хлорида аммония (100 мл), для экстракции добавляли этилацетат (500 мл × 3), а полученные экстракты промывали насыщенным соевым раствором (300 мл), обезвоживали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Указанный остаток очищали с использованием колоночной хроматографии на силикагеле (петролевым эфир: этилацетат = 5:1), в результате получали соединение 5 (4,3 г, выход: 10%), соединение 6 (7,0 г, выход: 17%) и смесь (12 г).

Соединение 5.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3): δ 7,79 (d, $J = 8,0$ Гц, 2H), 7,32 (d, $J = 8,4$ Гц, 2H), 4,52-4,41 (m, 1H), 2,44 (s, 3H), 1,95-1,80 (m, 2H), 1,77-1,61 (m, 4H), 1,46-1,35 (m, 2H), 1,19 (s, 3H).

Соединение 6.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3): δ 7,79 (d, $J = 8,4$ Гц, 2H), 7,33 (d, $J = 8,0$ Гц, 2H), 4,74-4,64 (m, 1H), 2,44 (s, 3H), 1,92-1,79 (m, 2H), 1,77-1,62 (m, 4H), 1,49-1,38 (m, 2H), 1,23 (s, 3H).

4. Синтез соединения 8.

Раствор азотной кислоты (1,6 мл, 70%) в концентрированной серной кислоте (1,6 мл, 98%) по каплям добавляли к раствору соединения 7 (2,0 г) в концентрированной серной кислоте (12 мл, 98%) при -15°C . Реакционную смесь перемешивали при -15°C в течение 2 ч после завершения добавления. Реакционный раствор медленно вливали в ледяную воду, перемешивали в течение 5 мин и фильтровали под вакуумом. Остаток на фильтре промывали водой, а твердое вещество собирали и сушили при пониженном давлении, в результате получали соединение 8 (2,5 г, выход: 97%).

5. Синтез соединения 9.

Гидразингидрат (2,4 мл, 98%) добавляли к раствору соединения 8 (2,0 г) в DMF (20 мл). После завершения добавления реакционную систему нагревали до 120°C , перемешивали в течение 16 ч и охлаждали до комнатной температуры. Реакционную систему медленно вливали в ледяную воду, перемешивали и фильтровали под вакуумом. Остаток на фильтре промывали водой, а твердое вещество собирали и сушили при пониженном давлении, в результате получали соединение 9 (1,3 г, выход: 67%).

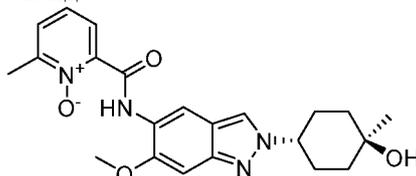
6. Синтез соединения 10.

Соединение 9 (12,4 г) и палладиевый катализатор на углеродном носителе (7 г, 10%) последовательно добавляли к 400 мл этилацетата при 15°C . Реакционную систему перемешивали в течение 18 ч при 15°C в атмосфере водорода после завершения добавления. После завершения фильтрации палладиевого катализатора на углеродном носителе в реакционном растворе фильтрат дегидратировали и концентрировали, при этом получали соединение 10 (10,4 г, выход: 99%).

7. Синтез соединения 12.

EDCI.HCl (2,6 г) добавляли к раствору соединения 10 (1,5 г) и соединения 11 (1,4 г) в Py (15 мл) при 25°C . Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 16 ч. Реакционный раствор дегидратировали и концентрировали, а остаток суспендировали с $\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O} = 20 \text{ мл}:\text{20 мл}$, в результате получали соединение 12 (1,3 г, выход: 48%).

8. Синтез соединения 001 2-((2-((1r,4r)-4-гидрокси-4-метилциклогексидио-6-метокси-2H-индазол-5-ил)карбамоил)-6-метилпиридин 1-оксид.



001

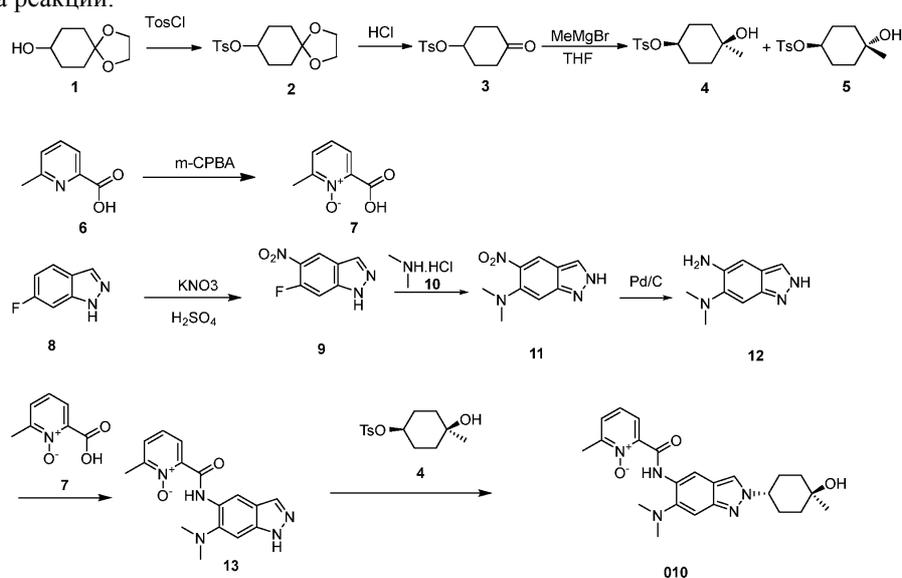
Карбонат цезия (985 мг) добавляли в раствор соединения 12 (300 мг) и соединения 5 (344 мг) в DMF (5 мл) при 25°C . Реакционную смесь перемешивали при 90°C в течение 16 ч. Реакционный раствор добавляли в воду (30 мл) и экстрагировали с использованием этилацетата (10 мл \times 3). Органическую фазу концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии ($\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ (0,1% NH_4HCO_3) = 15-45%, УФ: 214 нм, скорость потока: 15 мл/мин), в результате чего получали соединение 001 (70 мг, выход: 17%). ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$): δ 14,16 (s, 1H), 8,78 (s, 1H), 8,34 (s, 1H), 8,32-8,30 (m, 1H), 7,77 (d, $J = 7,6$ Гц, 1H), 7,58 (t, $J = 8,0$ Гц, 1H), 7,13 (s, 1H), 4,45 (s, 1H), 4,43-4,40 (m, 1H), 3,95 (s, 3H), 2,53 (s, 3H), 2,09-2,00 (m, 4H), 1,68-1,58 (m, 4H), 1,22 (s, 3H). ЖХ-МС: $R_t = 3,646$ мин, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 411,1$.

9. Синтез соединения 11.

Добавляли m-CPBA (25 г) в раствор соединения 13 (10 г) в DCM (200 мл) при 25°C . Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 16 ч. Реакционный раствор фильтровали, а фильтрат блокировали насыщенным раствором сульфита натрия (15,6 г). Реакционную систему перемешивали в течение 2 ч и экстрагировали. Водную фазу доводили до $\text{pH} < 7$ соляной кислотой и экстрагировали DCM (50 мл \times 3). Органические фазы объединяли и концентрировали, а остаток суспендировали с EA (300 мл), в результате получали соединение 11 (10,1 г, выход: 90%).

Пример 2. Синтез соединения 010.

Формула реакции:



1. Синтез соединения 2.

DMAP (42,5 г), TsCl (63,4 г) и триэтиламин (63,9 г) последовательно добавляли к раствору соединения 1 (50 г) в дихлорметане (500 мл) при 15°C . Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 18 ч. В реакционный раствор добавляли дихлорметан (200 мл) и промывали водой (300 мл \times 2) и 1 М соляной кислотой (300 мл \times 3). Органическую фазу дегидратировали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении, в результате получали соединение 2 (98 г, выход: 99%).

2. Синтез соединения 3.

1 М соляную кислоту (300 мл) добавляли в раствор соединения 2 (50 г) в тетрагидрофуране (300 мл) при 15°C . Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 20 ч. При 0°C реакционный раствор доводили до $\text{pH} = 9$ с помощью 1 М раствора гидроксида натрия. Для выполнения экстракции добавляли этилацетат (200 мл \times 3). Экстракты промывали насыщенным раствором хлорида натрия (300 мл), дегидратировали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток суспендировали с петролейным эфиром (150 мл), при этом получали соединение 3 (39 г, выход: 91%).

3. Синтез соединений 4 и 5.

Раствор соединения 3 (34,5 г) в тетрагидрофуране (200 мл) по каплям добавляли к раствору бромида метилмагния (85,8 мл) в тетрагидрофуране (500 мл) при -40°C . Реакционную смесь перемешивали при -40°C в течение 4 ч. После того, как реакционную смесь гасили насыщенным раствором хлорида аммония (100 мл), для экстракции добавляли этилацетат (500 мл \times 3), а полученные экстракты промывали насыщенным соевым раствором (300 мл), обезвоживали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Указанный остаток очищали с использованием колоночной хроматографии на силикагеле (петролейный эфир: этилацетат = 5:1), в результате получали соединение 4 (4,3 г, выход: 10%), соединение 5 (7,0 г, выход: 17%) и смесь (12 г).

Соединение 4.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3): δ 7,79 (d, $J = 8,0$ Гц, 2H), 7,32 (d, $J = 8,4$ Гц, 2H), 4,52-4,41 (m, 1H), 2,44 (s, 3H), 1,95-1,80 (m, 2H), 1,77-1,61 (m, 4H), 1,46-1,35 (m, 2H), 1,19 (s, 3H).

Соединение 5.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3): δ 7,79 (d, $J = 8,4$ Гц, 2H), 7,33 (d, $J = 8,0$ Гц, 2H), 4,74-4,64 (m, 1H), 2,44 (s, 3H), 1,92-1,79 (m, 2H), 1,77-1,62 (m, 4H), 1,49-1,38 (m, 2H), 1,23 (s, 3H).

4. Синтез соединения 7.

$m\text{-CPBA}$ (25 г) добавляли в раствор соединения 6 (10 г) в DCM (200 мл) при 25°C . Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 16 ч. Реакционный раствор фильтровали, а фильтрат блокировали насыщенным раствором сульфита натрия (15,6 г). Реакционную систему перемешивали в течение 2 ч и экстрагировали. Водную фазу доводили до $\text{pH} < 7$ соляной кислотой и экстрагировали DCM (50 мл \times 3). Органические фазы объединяли и концентрировали, а остаток суспендировали с EA (300 мл), в результате получали соединение 7 (10,1 г, выход: 90%).

5. Синтез соединения 9.

Добавляли 80 мл концентрированной серной кислоты в трехгорлую бутылку вместимостью 500 мл. Реакционную систему охлаждали до -7°C , медленно добавляли соединение 8 (10 г) и перемешивали в течение 5 мин при -7°C , а затем реакционную систему охлаждали до -15°C , медленно добавляли нитрат

калия (8,9 г) и перемешивали при -15°C в течение 1 ч. Смешанный реакционный раствор вливали в 1,2 л ледяной воды. Выпавшее в осадок твердое вещество фильтровали, а фильтровальный осадок растворяли в 2 л этилацетата. В реакционный раствор добавляли 4 л раствора бикарбоната натрия для доведения значения pH до > 7 и подвергали экстракции с использованием этилацетата (2 л \times 3). Органическую фазу концентрировали и дегидратировали, а остаток очищали на колонке с силикагелем (DCM: MeOH = 300:1), в результате получали соединение 9 (12,3 г, выход: 27%).

6. Синтез соединения 11.

Соединение 9 (400 мг), соединение 10 (1,81 г) и DIPEA (2,86 г) последовательно добавляли к 20 мл DMF при комнатной температуре. Реакционный раствор быстро перемешивали при 80°C в закрытом контейнере. После завершения реакции добавляли воду с последующими тремя стадиями экстракции с использованием этилацетата. Экстракты концентрировали при пониженном давлении и очищали на колонке с силикагелем (DCM: CH_3OH = 200:1), в результате получали соединение 11 (570 мг, выход: 83%).

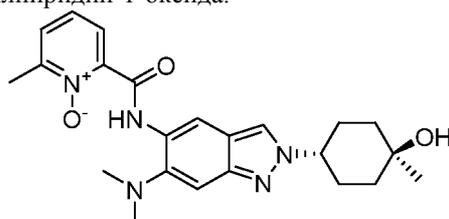
7. Синтез соединения 12.

Соединение 11 (80 мг), Pd/C (5 мг) последовательно добавляли к 10 мл ДМФА при комнатной температуре. Реакционный раствор быстро перемешивали при 55°C в атмосфере водорода. После завершения реакции реакционный раствор фильтровали, а фильтрат концентрировали при пониженном давлении и очищали на колонке с силикагелем (ДХМ: CH_3OH = 100:1), в результате получали соединение 12 (60 мг, выход: 65%).

8. Синтез соединения 13.

EDCI.HCl (950 мг) добавляли в раствор соединения 12 (580 мг) и соединения 7 (505 мг) в Py (11 мл) при 25°C . Реакционную смесь перемешивали при 40°C в течение 16 ч. Реакционный раствор концентрировали и выпаривали, а остаток очищали на колонке с силикагелем (ПЭ: ЭА = 1:1), в результате получали соединение 13 (550 мг, выход: 55%).

9. Синтез соединения 010 2-((6-(диметиламино)-2-((1г,4г)-4-гидрокси-4-метилциклогексил)-2Н-индазол-5-ил) карбамоил)-6-метилпиридин-1-оксида.



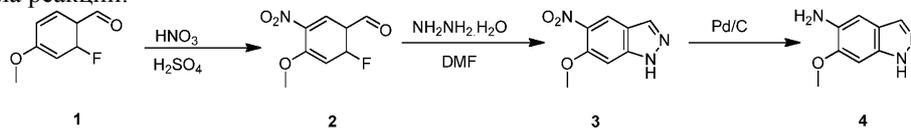
010

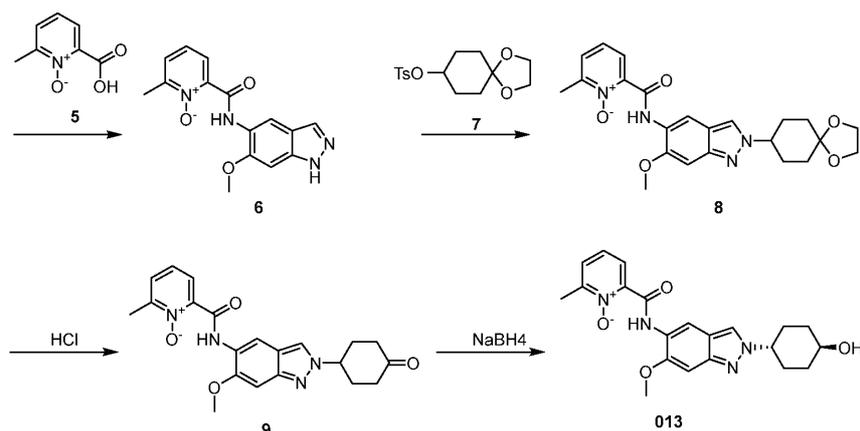
Карбонат цезия (936 мг) добавляли в раствор соединения 13 (300 мг) и соединения 4 (409 мг) в DMF (6 мл) при 25°C . Реакционную смесь перемешивали при 90°C в течение 16 ч. Реакционный раствор добавляли в воду (30 мл) и экстрагировали с использованием этилацетата (10 мл \times 3). Органическую фазу концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии ($\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ (0,1% NH_4HCO_3) = 20-70%, УФ: 214 нм, скорость потока: 15 мл/мин), в результате получали соединение 010 (59 мг, выход: 14%).

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6): δ 14,01 (s, 1H), 8,80 (s, 1H), 8,34 (s, 1H), 8,33-8,30 (m, 1H), 7,77-7,74 (m, 1H), 7,56 (t, $J = 7,6$ Гц, 1H), 7,33 (s, 1H), 4,44-4,41 (m, 2H), 2,72 (s, 6H), 2,52 (s, 3H), 2,06-2,01 (m, 4H), 1,68-1,55 (m, 4H), 1,23 (s, 3H). ЖХ-МС: $R_t = 3,318$ мин, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 424,2$.

Пример 3. Синтез соединения 013.

Формула реакции:





1. Синтез соединения 2.

Раствор азотной кислоты (1,6 мл, 70%) в концентрированной серной кислоте (1,6 мл, 98%) по каплям добавляли к раствору соединения 1 (2,0 г) в концентрированной серной кислоте (12 мл, 98%) при -15°C. Реакционную смесь перемешивали при -15°C в течение 2 ч после завершения добавления. Реакционный раствор медленно вливали в ледяную воду, перемешивали в течение 5 мин и фильтровали под вакуумом. Остаток на фильтре промывали водой, а твердое вещество собирали и сушили при пониженном давлении, в результате получали соединение 2 (2,5 г, выход: 97%).

2. Синтез соединения 3.

Гидразингидрат (2,4 мл, 98%) добавляли к раствору соединения 2 (2,0 г) в ДМФА (20 мл). После завершения добавления реакционную систему нагревали до 120°C, перемешивали в течение 16 ч и охлаждали до комнатной температуры. Реакционную систему медленно вливали в ледяную воду, перемешивали и фильтровали под вакуумом. Остаток на фильтре промывали водой, а твердое вещество собирали и сушили при пониженном давлении, в результате получали соединение 3 (1,3 г, выход: 67%).

3. Синтез соединения 4.

Соединение 3 (12,4 г) и палладиевый катализатор на углеродном носителе (7 г, 10%) последовательно добавляли к 400 мл этилацетата при 15°C. Реакционную систему перемешивали в течение 18 ч при 15°C в атмосфере водорода после завершения добавления. После завершения фильтрации палладиевого катализатора на углеродном носителе в реакционном растворе фильтрат дегидратировали и концентрировали, при этом получали соединение 4 (10,4 г, выход: 99%).

4. Синтез соединения 6.

EDCI.HCl (2,6 г) добавляли к раствору соединения 4 (1,5 г) и соединения 5 (1,4 г) в Py (15 мл) при 25°C. Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 16 ч. Реакционный раствор дегидратировали и концентрировали, а остаток суспендировали с MeOH:H₂O = 20 мл:20 мл, в результате получали соединение 6 (1,3 г, выход: 48%).

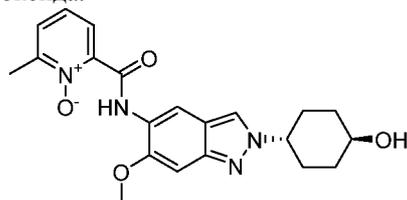
5. Синтез соединения 8.

Карбонат цезия (3,3 г) добавляли в раствор соединения 6 (1 г) и соединения 7 (1,3 г) в ДМФА (20 мл) при 25°C. Реакционную смесь перемешивали при 90°C в течение 16 ч. В реакционный раствор добавляли воду (50 мл) и экстрагировали с использованием этилацетата (30 мл × 3). Органическую фазу концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии (CH₃CN:H₂O (0,1% NH₄HCO₃) = 20-60%, УФ: 214 нм, скорость потока: 15 мл/мин), в результате получали соединение 8 (370 мг, выход: 25%).

6. Синтез соединения 9.

5 мл 2 М соляной кислоты добавляли в раствор соединения 8 (350 мг) в диоксане (5 мл) при 25°C. Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 16 ч. Реакционный раствор доводили до pH > 7 раствором карбоната натрия и экстрагировали с использованием этилацетата (10 мл × 3). Органическую фазу концентрировали при пониженном давлении, в результате получали соединение 9 (150 мг, выход: 48%).

7. Синтез соединения 013 2-((2-((1г,4г)-4-гидроксициклогексил)-6-метокси-2Н-индазол-5-ил)карбамоил)-6-метилпиридин-1-оксида.



013

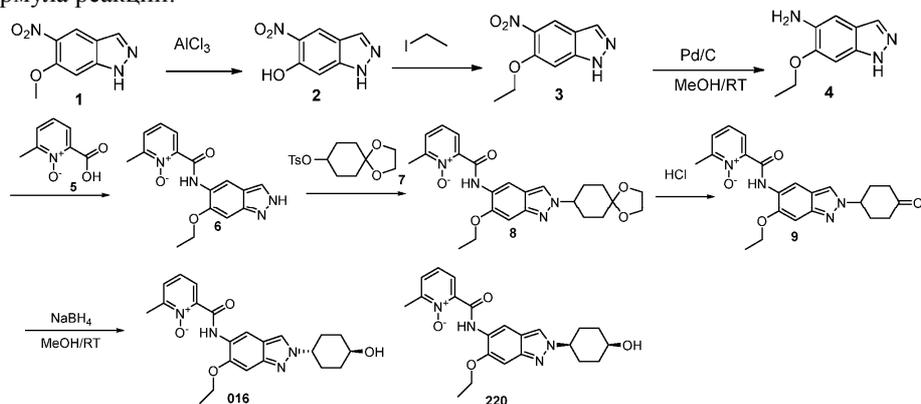
Боргидрид натрия (25 мг) добавляли в раствор соединения 9 (130 мг) в метаноле (2 мл) при 0°C. Ре-

акционную смесь перемешивали при 25°C в течение 2 ч. Реакционный раствор гасили раствором хлорида аммония (10 мл) и подвергали экстракции с использованием этилацетата (5 мл × 3). Органическую фазу концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии (CH₃CN:H₂O (0,1% NH₄HCO₃) = 10-60%, УФ: 214 нм, скорость потока: 15 мл/мин), в результате получали соединение 013 (54 мг, выход: 41%).

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆): δ 14,16 (s, 1H), 8,78 (s, 1H), 8,31-8,29 (m, 2H), 7,78-7,76 (m, 1H), 7,58 (t, J= 8,0 Гц, 1H), 7,10 (s, 1H), 4,71 (d, J= 4,4 Гц, 1H), 4,40-4,34 (m, 1H), 3,95 (s, 3H), 3,57-3,50 (m, 1H), 2,53 (s, 3H), 2,09-2,06 (m, 2H), 1,97-1,88 (m, 4H), 1,45-1,34 (m, 2H). ЖХ-МС: Rt = 2,541 мин, [M+H]⁺ = 397,2.

Пример 4. Синтез соединений 016 и соединения.

220 Формула реакции:



1. Синтез соединения 2.

Соединение 1 (2 г) и AlCl₃ (4,13 г) последовательно добавляли в дихлорметан (150 мл) при 18 °С. Реакционную смесь перемешивали при 55°C в течение 18 ч. Реакционный раствор гасили водой (50 мл), экстрагировали дихлорметаном (150 мл) и затем экстрагировали этилацетатом (150 мл × 3). Органическую фазу концентрировали и дегидратировали, а остаток суспендировали с дихлорметаном (30 мл), в результате получали соединение 2 (1,6 г, выход: 86%).

2. Синтез соединения 3.

Карбонат калия (93 мг) добавляли в раствор соединения 2 (0,1 г) и йодэтана (105 мг) в ДМФА (2 мл) при 25°C. Реакционную смесь перемешивали при 60°C в течение 16 ч. Реакционный раствор добавляли в воду (20 мл). Реакционный раствор подвергали экстракции с использованием этилацетата (5 мл × 3). Органическую фазу концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали на колонке с силикагелем (петролейный эфир: этилацетат = 2:1), в результате получали соединение 3 (0,1 г, выход: 86%).

3. Синтез соединения 4.

Pd/C (0,3 г) добавляли в раствор соединения 3 (1,1 г) в метаноле (100 мл) при 25°C. Реакционную систему перемешивали при 25°C в течение 16 ч в атмосфере водорода при 760 Торр. Реакционный раствор фильтровали, а фильтрат концентрировали ротационным выпариванием, в результате получали соединение 4 (0,71 г, выход: 76%).

4. Синтез соединения 6.

Соединение 5 (558 мг) добавляли в раствор соединения 4 (710 мг) и EDCI (840 мг) в пиридине (25 мл) при 25°C. Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 16 ч. Реакционный раствор добавляли в воду (100 мл). Реакционный раствор подвергали экстракции с использованием этилацетата (30 мл × 3). Органическую фазу концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали на колонке с силикагелем (дихлорметан: метанол = 60:1), в результате получали соединение 6 (0,67 г, выход: 54%).

5. Синтез соединения 8.

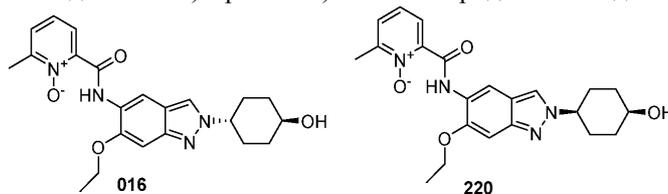
Соединение 6 (630 мг) добавляли к раствору соединения 7 (945 мг) и карбоната цезия (1,97 г) в ДМФА (25 мл) при 25°C. Реакционную смесь перемешивали при 90°C в течение 16 ч. Реакционный раствор добавляли в воду (100 мл) и экстрагировали с использованием этилацетата (30 мл × 3). Органическую фазу концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии (CH₃CN:H₂O (0,1%NH₄HCO₃) = 5-95%, УФ: 214 нм, скорость потока: 15 мл/мин), в результате получали соединение 8 (160 мг, выход: 18%).

6. Синтез соединения 9.

Соединение 8 (180 мг) растворяли в смешанном растворе диоксана (30 мл) и 2 М соляной кислоты (10 мл) при 25°C. Реакционную смесь перемешивали при 45°C в течение 16 ч. Реакционный раствор доводили до pH > 7 насыщенным раствором бикарбоната натрия и экстрагировали с использованием этилацетата (30 мл × 3). Органическую фазу концентрировали ротационным выпариванием, при этом получали соединение 9 (180 мг, выход: 97%).

7. Синтез соединения 016 2-(((6-этокси-2-((1*r*,4*r*)-4-гидроксициклогексил)-2*H*-индазол-5-ил)карбамоил)-6-метилпиридин-1-оксида и соединения 220 2-(((6-этокси-2-((1*s*,4*s*)-4-

гидроксициклогексил)-2Н-индазол-5-ил)карбамоил)-6-метилпиридин-1-оксида.



Боргидрид натрия (50 мг) добавляли в раствор соединения 9 (180 мг) в метаноле (20 мл) при 0°C. Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 1 ч. Реакционный раствор гасили раствором хлорида аммония (10 мл) и подвергали экстракции с использованием этилацетата (20 мл × 3). Органическую фазу концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии (CH₃CN:H₂O (0,1% NH₄HCO₃)=20-50%, УФ: 214 нм, скорость потока: 15 мл/мин), в результате получали соединение 016 (время удерживания Rt = 11,25 мин, 123 мг, выход: 68%) и соединение 220 (время удерживания Rt = 11,75 мин, 30 мг, выход: 17%).

Соединение 016.

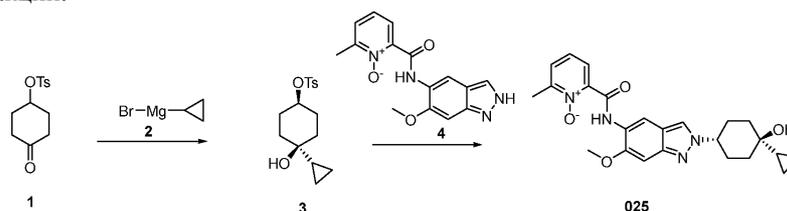
¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): δ 14,30 (s, 1H), 8,88 (s, 1H), 8,45 (d, J = 7,6 Гц, 1H), 7,83 (s, 1H), 7,43-7,36 (m, 2H), 7,03 (s, 1H), 4,37-4,30 (m, 1H), 4,24 (q, J = 6,8 Гц, 2H), 3,82-3,80 (m, 1H), 2,63 (s, 3H), 2,28 (d, J = 12,8 Гц, 2H), 2,18 (d, J = 14,8 Гц, 2H), 2,06 (q, J = 13,2 Гц, 2H), 1,65-1,56 (m, 3H), 1,55-1,50 (m, 2H). ЖХ-МС: Rt = 2,486 мин, [M+H]⁺ = 411,2.

Соединение 220.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): δ 14,30 (s, 1H), 8,89 (s, 1H), 8,45 (d, J = 7,6 Гц, 1H), 7,89 (s, 1H), 7,43-7,36 (m, 2H), 7,04 (s, 1H), 4,41-4,35 (m, 1H), 4,24 (q, J = 8,8 Гц, 2H), 4,14 (br s, 1H), 2,63 (s, 3H), 2,35 (q, J = 8,8 Гц, 2H), 2,08 (d, J = 8,4 Гц, 2H), 1,98 (d, J = 13,2 Гц, 2H), 1,75 (t, J = 13,2 Гц, 2H), 1,64 (t, J = 6,8 Гц, 3H). ЖХ-МС: Rt = 2,642 мин, [M+H]⁺ = 411,2.

Пример 5. Синтез соединения 025.

Формула реакции:

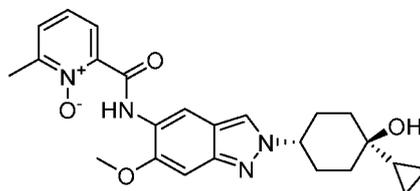


1. Синтез соединения 3.

К раствору соединения 1 (3 г) в тетрагидрофуране (10 мл) по каплям добавляли раствор соединения 2 (45 мл) в тетрагидрофуране (100 мл) при -40°C. Реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 8 ч. После того, как реакцию гасили насыщенным раствором хлорида аммония (200 мл), для экстракции добавляли этилацетат (200 мл × 3), а полученные экстракты промывали насыщенным соевым раствором (400 мл), обезвоживали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с использованием колоночной хроматографии на силикагеле (петролейный эфир: этилацетат = 5:1), в результате получали соединение 3 (1,5 г, выход: 44%).

2. Синтез соединения 025.

2-((2-((1г,4г)-4-циклопропил-4-гидроксициклогексил)-6-метокси-2Н-индазол-5-ил)карбамоил)-6-метилпиридин-1-оксида.



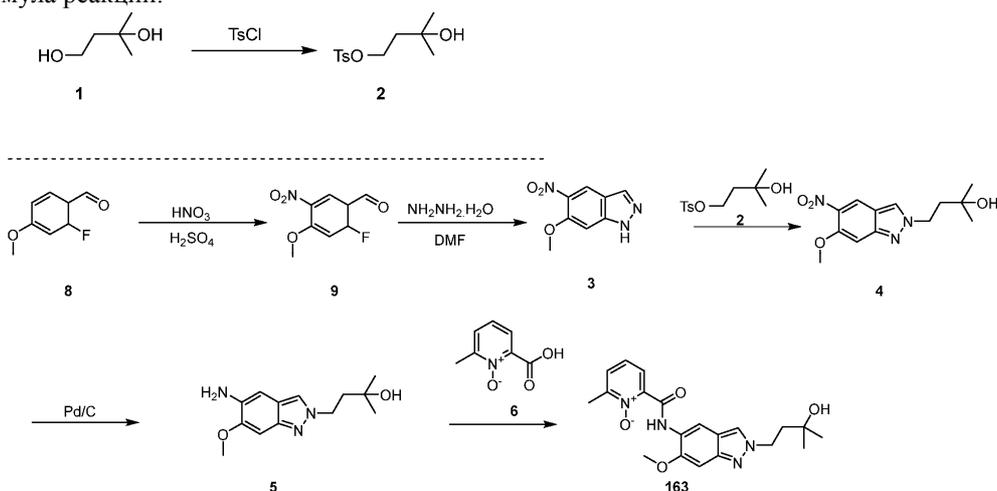
025

Карбонат цезия (820 мг) добавляли в раствор соединения 4 (300 мг) и соединения 3 (374 мг) в NMP (30 мл) при 25°C. Реакционную смесь перемешивали при 90°C в течение 16 ч. Реакционный раствор охлаждали и добавляли воду (100 мл). Добавляли этилацетат для проведения экстракции (80 мл × 4). Органическую фазу концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии (CH₃CN:H₂O (0,1% NH₄HCO₃) = 5-95%, УФ: 214 нм, скорость потока: 15 мл/мин), в результате получали соединение 025 (79 мг, выход: 18%).

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): δ 14,13 (s, 1H), 8,89 (s, 1H), 8,45 (d, J = 12 Гц, 1H), 7,89 (s, 1H), 7,42-7,37 (m, 2H), 7,07 (s, 1H), 4,49-4,41 (m, 1H), 4,05 (s, 3H), 2,64 (s, 3H), 2,38-2,22 (m, 4H), 1,92-1,88 (m, 2H), 1,72-1,64 (m, 2H), 1,31-1,26 (m, 1H), 0,98 (s, 1H), 0,43-0,41 (m, 4H). ЖХ-МС: Rt = 3,198, [M+H]⁺ = 437,2.

Пример 6. Синтез соединения 163.

Формула реакции:



1. Синтез соединения 2.

p-Толуолсульфонилхлорид (11,8 г) добавляли в раствор соединения 1 (6,1 г), триэтиламина (14,8 г) и DMAP (7,2 г) в DCM (120 мл) при 15°C. Реакционную смесь перемешивали при 10°C в течение 16 ч. Реакционный раствор промывали 1 н. HCl (100 мл × 3). Органическую фазу сушили и концентрировали, в результате получали соединение 2 (13,1 г, выход: 84%).

2. Синтез соединения 9.

Раствор азотной кислоты (1,6 мл) в концентрированной серной кислоте (1,6 мл, 98%) по каплям добавляли к раствору соединения 8 (2,0 г) в концентрированной серной кислоте (12 мл, 98%) при -15°C. Реакционную смесь перемешивали при -15°C в течение 2 ч после завершения добавления. Реакционный раствор медленно вливали в ледяную воду, перемешивали в течение 5 мин и фильтровали под вакуумом. Остаток на фильтре промывали водой, а твердое вещество собирали и сушили при пониженном давлении, в результате получали соединение 9 (2,5 г, выход: 97%).

3. Синтез соединения 3.

Гидразингидрат (2,4 мл, 98%) добавляли к раствору соединения 8 (2,0 г) в DMF (20 мл). После завершения добавления реакционную систему нагревали до 120°C, перемешивали в течение 16 ч и охлаждали до комнатной температуры. Реакционную систему медленно вливали в ледяную воду, перемешивали и фильтровали под вакуумом. Остаток на фильтре промывали водой, а твердое вещество собирали и сушили при пониженном давлении, в результате получали соединение 3 (1,3 г, выход: 67%).

4. Синтез соединения 4.

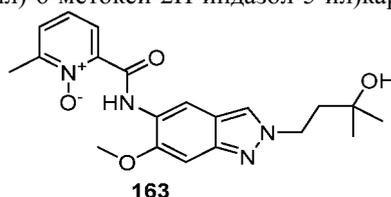
DIPEA (13,4 г) добавляли в раствор соединения 3 (4,0 г) и соединения 2 (10,7 г) в толуоле (80 мл) при 15°C. Реакционную смесь перемешивали при 130°C в течение 48 ч. Реакционный раствор добавляли в воду (100 мл) и экстрагировали с использованием этилацетата (50 мл × 3). Органическую фазу концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии (CH₃CN:H₂O (0,1% NH₄HCO₃) = 10-50%, УФ: 214 нм, скорость потока: 15 мл/мин), в результате получали соединение 4 (2,5 г, выход: 43%).

5. Синтез соединения 5.

Pd/C (400 мг) добавляли к раствору соединения 4 (1,3 г) в этилацетате (30 мл) при 30°C и реакционную систему перемешивали в течение 16 ч в атмосфере водорода. Органические фазы объединяли, а реакционный раствор фильтровали и концентрировали при пониженном давлении, в результате получали соединение 5 (1,9 г, выход: 95%).

6. Синтез соединения 163.

2-((2-(3-гидрокси-3-метилбутил)-6-метокси-2H-индазол-5-ил)карбамоил)-6-метилпиридин-1-оксида.

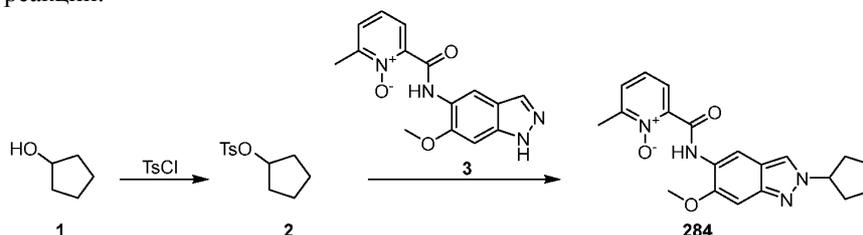


NATU (273 мг) и Et₃N (145 мг) добавляли в раствор соединения 5 (120 мг) и соединения 6 (81 мг) в DMF (2 мл) при 30°C. Реакционную смесь перемешивали при 30°C в течение 18 ч. Реакционный раствор концентрировали при пониженном давлении, а неочищенный продукт дополнительно очищали с помощью препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии (CH₃CN:H₂O (0,1 % NH₄HCO₃) = 5-95%, УФ: 214 нм, скорость потока: 15 мл/мин), в результате получали соединение 163 (110 мг, выход: 60%).

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6): δ 14,13 (s, 1H), 8,78 (s, 1H), 8,31-8,28 (m, 2H), 7,77-7,75 (m, 1H), 7,60-7,55 (m, 1H), 7,09 (s, 1H), 4,50 (s, 1H), 4,44-4,40 (m, 2H), 3,93 (s, 3H), 2,53 (s, 3H), 2,04-2,00 (m, 2H), 1,15 (s, 6H). ЖХ-МС: Rt = 2,784 мин, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 385,2$.

Пример 7. Синтез соединения 284.

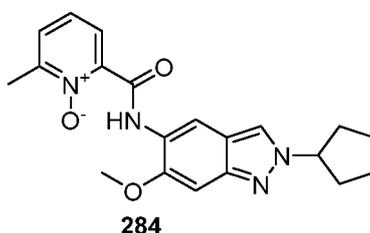
Формула реакции:



1. Синтез соединения 2.

п-Толуолсульфонилхлорид (2,3 г) добавляли к раствору соединения 1 (1 г), триэтиламина (2,9 г) и DMAP (1,4 г) в DCM (20 мл) при 25°C. Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 16 ч. Реакционный раствор промывали 1 н. HCl (200 мл \times 3). Органическую фазу сушили и концентрировали, в результате получали соединение 2 (2,1 г, выход: 75%).

2. Синтез соединения 284 2-((2-циклопентил-6-метокси-2H-индазол-5-ил)карбамоил)-6-метилпиридин-1-оксида.

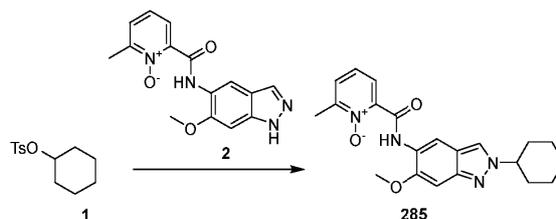


Карбонат цезия (1,6 г) добавляли в раствор соединения 3 (500 мг) и соединения 2 (485 г) в DMF (10 мл) при 25°C. Реакционную смесь перемешивали при 90°C в течение 16 ч. В реакционный раствор добавляли воду (50 мл) и экстрагировали с использованием этилацетата (30 мл \times 3). Органическую фазу концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии ($\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ (0,1 % NH_4HCO_3) = 25-60%, УФ: 214 нм, скорость потока: 15 мл/мин), в результате получали соединение 284 (123 мг, выход: 20%).

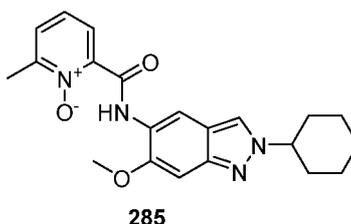
^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6): δ 14,15 (s, 1H), 8,78 (s, 1H), 8,32-8,29 (m, 2H), 7,77-7,75 (m, 1H), 7,57 (t, J = 7,6 Гц, 1H), 7,13 (s, 1H), 4,97-4,90 (m, 1H), 3,96 (s, 3H), 2,53 (s, 3H), 2,22-2,13 (m, 2H), 2,10-2,01 (m, 2H), 1,92-1,82 (m, 2H), 1,74-1,65 (m, 2H). ЖХ-МС: Rt = 3,562 мин, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 367,2$.

Пример 8. Синтез соединения 285.

Формула реакции:



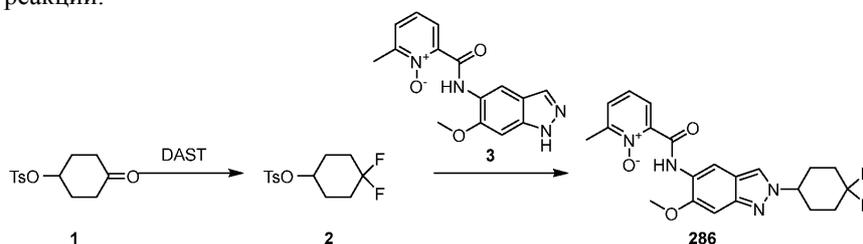
1. Синтез соединения 285 2-((2-циклогексил-6-метокси-2H-индазол-5-ил)карбамоил)-6-метилпиридин-1-оксида.



Карбонат цезия (1,3 г) добавляли в раствор соединения 2 (400 мг) и соединения 1 (511 мг) в NMP (8 мл) при 25°C. Реакционную смесь перемешивали при 90°C в течение 16 ч. Реакционный раствор добавляли в воду (30 мл) и экстрагировали с использованием этилацетата (10 мл \times 3). Органическую фазу концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии ($\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ (0,1% NH_4HCO_3) = 25-75%, УФ: 214 нм, скорость потока: 15 мл/мин), в результате получали соединение 285 (68 мг, выход: 13%).

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6): δ 14,15 (s, 1H), 8,79 (s, 1H), 8,32-8,29 (m, 2H), 7,78-7,76 (m, 1H), 7,58 (t, $J = 8,0$ Гц, 1H), 7,11 (s, 1H), 4,40-4,34 (m, 1H), 3,95 (s, 3H), 2,53 (s, 3H), 2,11-2,07 (m, 2H), 1,90-1,80 (m, 4H), 1,70 (d, $J = 12,8$ Гц, 1H), 1,50-1,40 (m, 2H), 1,31-1,23 (m, 1H). ЖХ-МС: $R_t = 3,971$ мин, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 381,2$.
Пример 9. Синтез соединения 286.

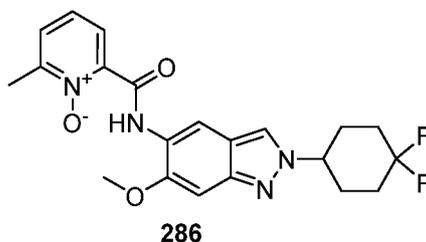
Формула реакции:



1. Синтез соединения 2.

DAST (6 г) добавляли в раствор соединения 1 (2 г) в DCM (70 мл) при 0°C. Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 3 ч. Реакционный раствор добавляли в воду (50 мл). Реакционный раствор экстрагировали дихлорметаном (30 мл \times 2). Органическую фазу концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали на колонке с силикагелем (ПЭ: ЭА = 10:1), в результате получали соединение 2 (1,8 г, выход: 82%).

2. Синтез соединения 286 2-((2-(4,4-дифторциклогексил)-6-метокси-2H-индазол-5-ил)карбамоил)-6-метилпиридин-1-оксида.

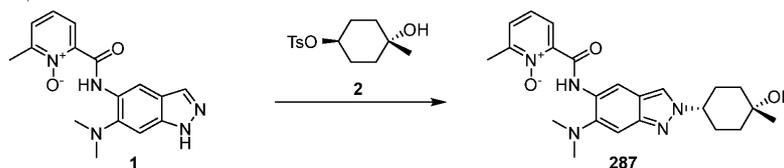


Карбонат цезия (1,6 г) добавляли в раствор соединения 3 (500 мг) и соединения 2 (731 мг) в NMP (10 мл) при 25°C. Реакционную смесь перемешивали при 90°C в течение 16 ч. Реакционный раствор добавляли в воду (30 мл) и экстрагировали с использованием этилацетата (10 мл \times 3). Органическую фазу концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии ($\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ (0,1% NH_4HCO_3) = 40-70%, УФ: 214 нм, скорость потока: 15 мл/мин), в результате получали соединение 286 (129 мг, выход: 18%).

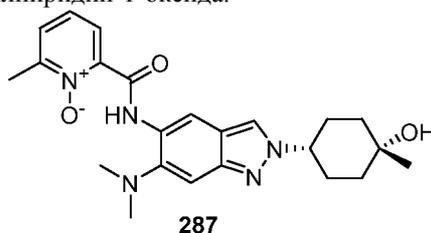
^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6): δ 14,17 (s, 1H), 8,80 (s, 1H), 8,35 (s, 1H), 8,32-8,29 (m, 1H), 7,78-7,76 (m, 1H), 7,58 (t, $J = 8,0$ Гц, 1H), 7,13 (s, 1H), 4,68-4,57 (m, 1H), 3,97 (s, 3H), 2,53 (s, 3H), 2,32-2,07 (m, 8H). ЖХ-МС: $R_t = 3,692$ мин, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 417,2$.

Пример 10. Синтез соединения 287.

Формула реакции:



1. Синтез соединения 287 2-(((6-(диметиламино)-2-((1г,4г)-4-гидрокси-4-метилциклогексил)-2H-индазол-5-ил)карбамоил)-6-метилпиридин-1-оксида.

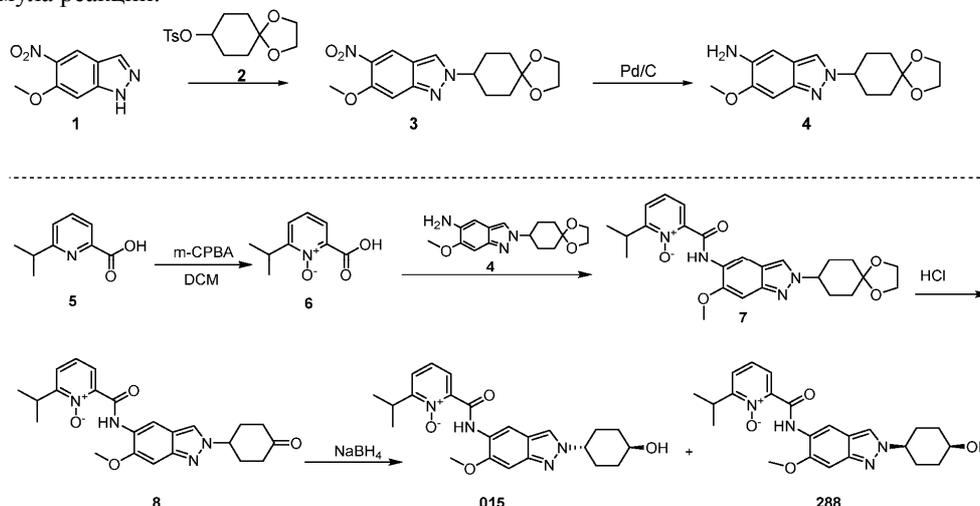


Карбонат цезия (800 мг) добавляли в раствор соединения 1 (255 мг) и соединения 2 (350 мг) в NMP (5 мл) при 25°C. Реакционную смесь перемешивали при 90°C в течение 16 ч. Реакционный раствор добавляли в воду (30 мл) и экстрагировали с использованием этилацетата (10 мл \times 3). Органическую фазу концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии ($\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ (0,1% NH_4HCO_3) = 35-60%, УФ: 214 нм, скорость потока: 15 мл/мин), в результате получали соединение 287 (51 мг, выход: 15%).

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3): δ 14,03 (s, 1H), 8,92 (s, 1H), 8,46 (d, $J = 8,0$ Гц, 1H), 7,89 (s, 1H), 7,41-7,35 (m, 3H), 4,37-4,31 (m, 1H), 2,84 (s, 6H), 2,63 (s, 3H), 2,37-2,27 (m, 2H), 2,11-2,05 (m, 2H), 1,93-1,85 (m, 2H), 1,61-1,58 (m, 2H), 1,33 (s, 3H). ЖХ-МС: $R_t = 3,298$ мин, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 424,3$.

Пример 11. Синтез соединений 015 и соединения 288.

Формула реакции:



1. Синтез соединения 3.

Соединение 1 (5 г), соединение 2 (26 г) и карбонат цезия (29 г) последовательно добавляли в DMF (400 мл) при 20°C . Реакционную смесь перемешивали при 90°C в течение 24 ч в атмосфере азота. Реакционный раствор охлаждали до 20°C , добавляли воду (800 мл) и экстрагировали с использованием этилацетата (800 мл \times 3). Органическую фазу промывали насыщенным раствором хлорида натрия (500 мл \times 3), дегидратировали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (петролейный эфир: этилацетат = 1:1) и суспендировали с помощью МТВЕ (50 мл), в результате получали соединение 3 (1,2 г, выход: 14%).

2. Синтез соединения 4.

Pd/C (0,1 г) добавляли к раствору соединения 3 (1,1 г) в этилацетате (200 мл) при 25°C и перемешивали реакционную систему в течение 16 ч в атмосфере водорода. Реакционный раствор фильтровали и концентрировали при пониженном давлении, в результате получали соединение 4 (901 г, выход: 90%).

3. Синтез соединения 6.

Соединение 5 (900 мг) растворяли в дихлорметане (20 мл) и медленно добавляли реакционный раствор с mCPBA (2,5 г). Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 16 ч. Реакционный раствор фильтровали. Остаток гасили водным раствором сульфита натрия. Реакционный раствор доводили до $\text{pH} < 7$ соляной кислотой и экстрагировали дихлорметаном (50 мл \times 3). Органическую фазу концентрировали и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (петролейный эфир: этилацетат = 1:1), в результате получали соединение 6 (0,68 г, выход: 69%).

4. Синтез соединения 7.

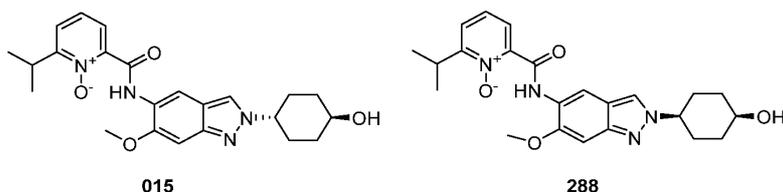
НАТУ (376 мг) и DIPEA (128 мг) добавляли в раствор соединения 6 (164 мг) и соединения 4 (250 мг) в DMF (10 мл) при 25°C . Реакционную систему перемешивали в течение 16 ч. В реакционный раствор добавляли воду (100 мл) и экстрагировали с использованием ЭА (20 мл \times 3). Экстракты промывали насыщенным раствором хлорида натрия (200 мл), дегидратировали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали при помощи колоночной хроматографии на силикагеле (дихлорметан: метанол = 40:1) и суспендировали, в результате получали соединение 7 (480 мг, выход: 99%).

5. Синтез соединения 8.

4 М соляную кислоту (10 мл) добавляли к раствору соединения 7 (480 мг) в диоксане (10 мл) при 0°C . Реакционную систему перемешивали при 30°C в течение 16 ч, охлаждали до 0°C , доводили pH до 8 насыщенным раствором NaHCO_3 , экстрагировали ЭА (40 мл \times 5), промывали насыщенным раствором NaCl (200 мл), дегидратировали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении, в результате получали соединение 8 (435 мг, выход: 99%).

7. Синтез соединения 015.

2-((2-((1r,4r)-4-гидроксициклогексил)-6-метокси-2H-индазол-5-ил)карбамоил)-6-изопропилпиридин-1-оксида и соединения 288 2-((2-((1s,4s)-4-гидроксициклогексил)-6-метокси-2H-индазол-5-ил)карбамоил)-6-изопропилпиридин-1-оксида.



Бор гидрид натрия (118 мг) добавляли в раствор соединения 8 (435 мг) в метаноле (20 мл) при 0°C. Реакционную смесь перемешивали при 30°C в течение 16 ч. Реакционный раствор доводили до pH=7 насыщенным хлоридом аммония, подвергали экстракции с использованием DCM (40 мл × 5) и промывали насыщенным раствором NaCl (200 мл). Остаток очищали с помощью препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии (CH₃CN:H₂O (0,1% NH₄HCO₃) = 30-70%, УФ: 214 нм, скорость потока: 15 мл/мин), в результате получали соединение 015 (время удерживания Rt = 28,13 мин, 171 мг, выход: 39 %) и соединение 288 (время удерживания Rt = 29, 25 мин, 44 мг, выход: 10%).

Соединение 015.

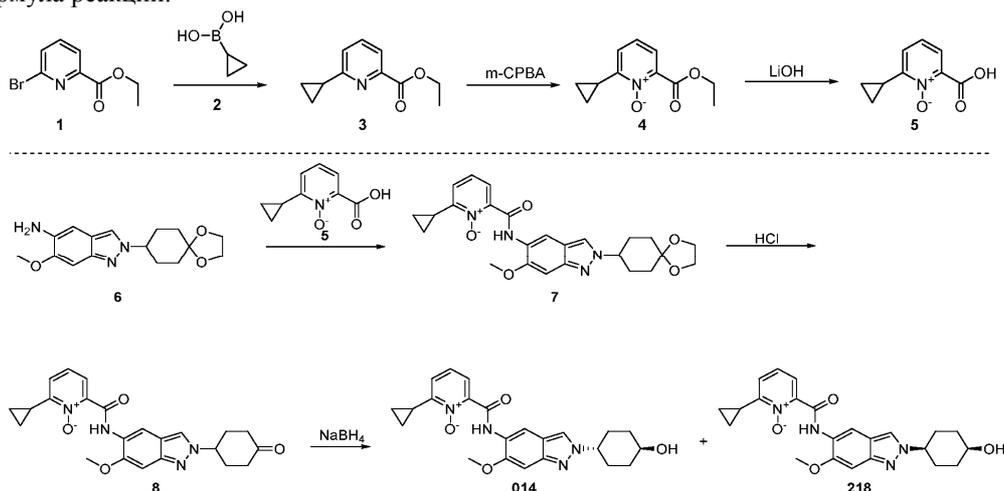
¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): δ 14,18 (s, 1H), 8,88 (s, 1H), 8,44(d, J= 5,2 Гц, 1H), 7,83 (s, 1H), 7,47-7,40 (m, 2H), 7,05 (s, 1H), 4,34-4,33 (m, 1H), 4,04 (s, 3H), 3,99-3,95 (m, 1H), 3,82-3,80 (m, 1H), 2,30-2,26 (m, 2H), 2,19-2,16 (m, 2H), 2,05 (q, J= 9,2 Гц, 2H), 1,60-1,50 (m, 2H), 1,36 (s, 3H). 1,35 (s, 3H). ЖХ-МС: Rt = 3,531, [M+H]⁺ = 425,2.

Соединение 288.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): δ 14,17 (s, 1H), 8,88 (s, 1H), 8,44 (d, J= 5,2 Гц, 1H), 7,89 (s, 1H), 7,47-7,40 (m, 2H), 7,06 (s, 1H), 4,39-4,37 (m, 1H), 4,14 (s, 1H), 4,05 (s, 3H), 3,99-3,95 (m, 1H), 2,38-2,34 (m, 2H), 2,09-2,04 (m, 2H), 2,01-1,96 (m, 2H), 1,80-1,76 (m, 2H), 1,36 (s, 3H). 1,35 (s, 3H). ЖХ-МС: Rt = 3,472, [M+H]⁺ = 425,2.

Пример 12. Синтез соединений 014 и соединения 218.

Формула реакции:



1. Синтез соединения 3.

Pd(dppf)Cl₂ (113 мг) и K₃PO₄ (13,4 г) добавляли в раствор соединения 1 (7,3 г) и соединения 2 (6,5 г) в толуоле (70 мл). Реакционную смесь перемешивали при 100°C в течение 16 ч в атмосфере азота. Реакционный раствор охлаждали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью тонкослойной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 20:1), в результате получали соединение 3 (1,2 г, выход: 20%).

2. Синтез соединения 4.

m-CPBA (5,7 г) добавляли в раствор соединения 3 (1,1 г) в DCM (100 мл) при 25°C. Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 48 ч. Реакционный раствор гасили насыщенным раствором сульфита натрия (2,4 г). Органическую фазу промывали насыщенным раствором бикарбоната натрия (100 мл × 3), дегидратировали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении, в результате получали соединение 4 (1,1 г, выход: 92%).

3. Синтез соединения 5.

Соединение 4 (1,2 г) и LiOH·H₂O (730 мг) последовательно добавляли в THF/H₂O (30 мл/10 мл) в атмосфере азота. Реакционную систему перемешивали при 30°C в течение 4 ч после завершения добавления. В реакционный раствор добавляли воду (50 мл). Значение pH водной фазу доводили до pH = 7 с помощью 1 н. HCl. Реакционный раствор экстрагировали этилацетатом (100 мл × 3), промывали насыщенным соевым раствором (200 мл), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали под вакуумом и концентрировали при пониженном давлении, при этом получали соединение 5 (844 мг, выход 84%).

4. Синтез соединения 7.

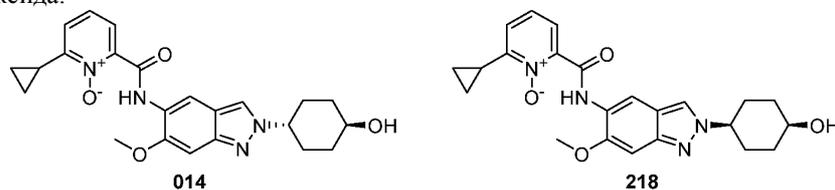
EDCI (427 мг) добавляли в раствор соединения 6 (450 мг) и соединения 5 (319 мг) в пиридине (35 мл) при 25°C. Реакционную систему перемешивали в течение 16 ч. Полностью удаляли растворитель при пониженном давлении. В реакционный раствор добавляли воду (100 мл) и экстрагировали с использованием DCM (100 мл × 3). Экстракты промывали насыщенным раствором хлорида натрия (200 мл), дегидратировали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток суспендировали с этилацетатом (10 мл), в результате получали соединение 7 (314 мг, выход: 45%).

5. Синтез соединения 8.

4 М соляную кислоту (250 мл) добавляли в раствор соединения 7 (289 мг) в тетрагидрофуране (25 мл) при 0°C. Реакционную систему перемешивали при 30°C в течение 16 ч, охлаждали до 0°C, доводили до pH = 8 насыщенным раствором NaHCO₃ и подвергали экстракции с использованием DCM (40 мл × 5). Экстракты промывали насыщенным NaCl (200 мл), дегидратировали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении, в результате получали соединение 8 (249 мг, выход: 95%).

6. Синтез соединения 014 2-циклопропил-6-((2-((1r,4r)-4-гидроксициклогексил)-6-метокси-2H-индазол-5-ил)карбамоил)пиридин-1-оксида и Соединения 218.

Синтез 2-циклопропил-6-((2-((1s,4s)-4-гидроксициклогексил)-6-метокси-2H-индазол-5-ил)карбамоил)пиридин-1-оксида.



Боргидрид натрия (67 мг) добавляли в раствор соединения 8 (249 мг) в метаноле (20 мл) при 0°C. Реакционную смесь перемешивали при 30°C в течение 16 ч. Реакционный раствор доводили до pH=7 насыщенным хлоридом аммония и подвергали экстракции с использованием DCM (40 мл × 5). Экстракты промывали насыщенным раствором NaCl (200 мл). Полученный остаток очищали с помощью препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии (CH₃CN:H₂O (0,1% NH₄HCO₃) = 30-70%, УФ: 214 нм, скорость потока: 15 мл/мин), в результате получали соединение 014 (время удерживания Rt=7,99 мин, 108 мг, выход: 43%) и соединение 218 (время удерживания Rt = 8,50 мин, 14 мг, выход: 5%).

Соединение 014.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): δ 14,26 (s, 1H), 8,87 (s, 1H), 8,39 (d, J = 8,0 Гц, 1H), 7,82 (s, 1H), 7,39-7,35 (m, 1H), 7,04 (s, 2H), 4,37-4,29 (m, 1H), 4,04 (s, 3H), 3,83-3,75 (m, 1H), 2,88-2,80 (m, 1H), 2,28-2,25 (m, 2H), 2,18-2,15 (m, 2H), 2,09-2,00 (m, 2H), 1,58-1,48 (m, 2H), 1,29-1,26 (m, 2H), 0,84-0,82 (m, 2H).

ЖХ-МС: Rt=3,312, [M+H]⁺ = 423,2.

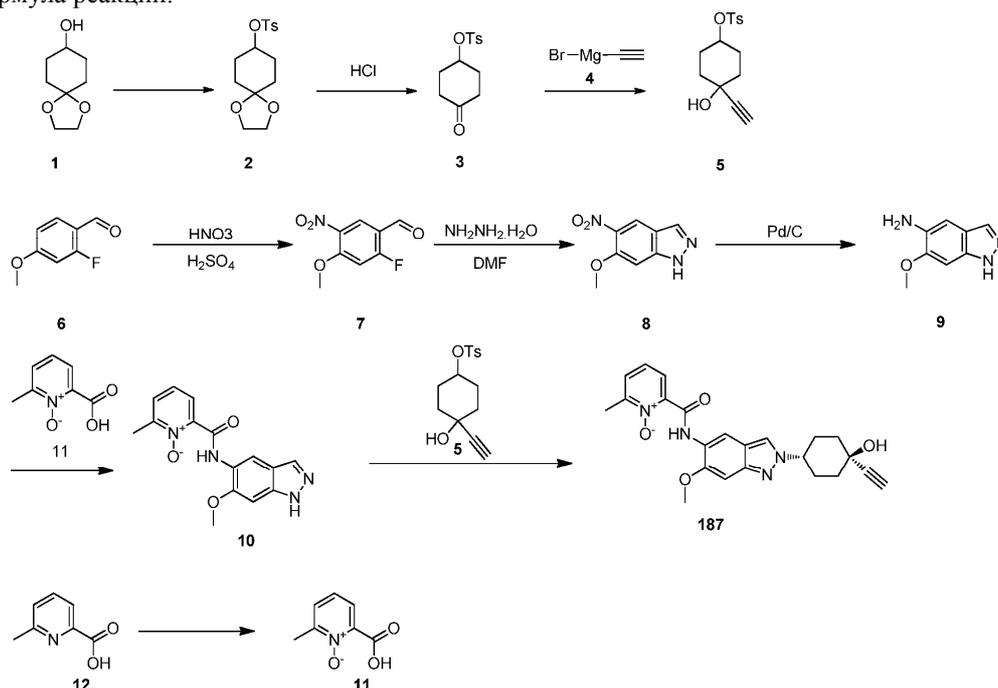
Соединение 218.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): δ 14,20 (s, 1H), 8,88 (s, 1H), 8,40(d, J = 8,0 Гц, 1H), 7,80 (s, 1H), 7,38-7,26 (m, 1H), 7,06 (s, 2H), 4,69 (s, 1H), 4,41-4,35 (m, 1H), 4,14 (s, 1H), 4,05 (s, 3H), 2,89-2,80 (m, 1H), 2,41-2,31 (m, 2H), 2,08-2,04 (m, 2H), 2,00-1,96 (m, 2H), 1,80-1,72 (m, 2H), 1,28-1,26 (m, 2H), 0,84-0,83 (m, 2H).

ЖХ-МС: Rt = 2,807, [M+H]⁺ = 423,2.

Пример 13. Синтез соединения 187.

Формула реакции:



1. Синтез соединения 2.

DMAP (42,5 г), TsCl (63,4 г) и триэтиламин (63,9 г) последовательно добавляли к раствору соединения 1 (50 г) в дихлорметане (500 мл) при 15°C. Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 18 ч. В реакционный раствор добавляли дихлорметан (200 мл) и промывали водой (300 мл × 2) и 1 М соляной кислотой (300 мл × 3). Органическую фазу дегидратировали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении, в результате получали соединение 2 (98 г, выход: 99%).

2. Синтез соединения 3.

1 М соляную кислоту (300 мл) добавляли в раствор соединения 2 (50 г) в тетрагидрофуране (300 мл) при 15°C. Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 20 ч. При 0°C реакционный раствор доводили до pH = 9 с помощью 1 М раствора гидроксида натрия. Для выполнения экстракции добавляли этилацетат (200 мл × 3). Экстракты промывали насыщенным раствором хлорида натрия (300 мл), дегидратировали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток суспендировали с петролейным эфиром (150 мл), при этом получали соединение 3 (39 г, выход: 91%).

3. Синтез соединения 5.

Соединение 3 (74,6 мл) по каплям добавляли к раствору соединения 4 (5,0 г) в тетрагидрофуране (100 мл) при -40°C. Реакционную смесь перемешивали при -40°C в течение 4 ч. После окончания реакции согласно данным ТСХ реакцию останавливали при добавлении насыщенного раствора хлорида аммония (50 мл), для экстракции добавляли этилацетат (100 мл × 3), а полученные экстракты промывали насыщенным раствором хлорида натрия (50 мл), обезвоживали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали с использованием колоночной хроматографии на силикагеле (петролейный эфир: этилацетат = 5:1), в результате получали соединение 5 (900 мг, выход: 16%).

4. Синтез соединения 7.

Концентрированную серную кислоту (80 мл) добавляли в трехгорлую колбу вместимостью 1 л. Реакционную систему перемешивали при -12°C в течение 5 мин (часть концентрированной серной кислоты находилась в состоянии обледенения), затем медленно добавляли соединение 6 (10 г) при -12°C и выполняли реакцию, не допуская значительных колебаний температуры. Реакционный раствор перемешивали при -12°C в течение 5 мин, затем по каплям медленно добавляли смешанный раствор азотной кислоты (8 мл) и концентрированной серной кислоты (8 мл) при температуре около -12°C и перемешивали в течение 1,5 ч приблизительно при -12°C. Осуществляли полное расходование исходного материала с контролем при помощи точечной пластины. Реакционный раствор медленно вливали в ледяную воду, перемешивали при низкой температуре в течение 20 мин, фильтровали и промывали водой. Фильтрат упаривали досуха при пониженном давлении, в результате получали соединение 7 (13 г, выход: 100%).

5. Синтез соединения 8.

Соединение 7 (30 г) растворяли в ДМФА (450 мл) и медленно по каплям добавляли гидразингидрат

(36,3 мл, 98%) при 0°C. Реакционный раствор перемешивали при 120°C в течение 18 ч. После завершения реакции реакционный раствор охлаждали, затем медленно вливали в ледяную воду, перемешивали в течение 10 мин, фильтровали и промывали водой. Фильтрат упаривали досуха при пониженном давлении, в результате получали соединение 8 (20 г, выход: 69%).

6. Синтез соединения 9.

Соединение 8 (10 г) и палладиевый катализатор на углеродном носителе (5 г, 10%) последовательно добавляли в этилацетат (200 мл). Реакционный раствор перемешивали при 20°C в течение 16 ч в атмосфере водорода. После завершения реакции добавляли целит для фильтрации палладиевого катализатора на углеродном носителе и концентрировали реакционный раствор, сушили с получением соединения 9 (8 г, выход: 94%).

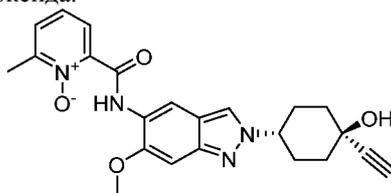
7. Синтез соединения 11.

Добавляли m-CPBA (25 г) в раствор соединения 12 (10 г) в DCM (200 мл) при 25°C. Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 16 ч. Реакционный раствор фильтровали, а фильтрат блокировали насыщенным раствором сульфита натрия (15,6 г). Реакционную систему перемешивали в течение 2 ч и экстрагировали. Водную фазу доводили до pH < 7 соляной кислотой и экстрагировали DCM (50 мл × 3). Органические фазы объединяли и концентрировали, а остаток суспендировали с EA (300 мл), в результате получали соединение 11 (10,1 г, выход: 90%).

8. Синтез соединения 10.

EDCI.HCl (2,6 г) добавляли к раствору соединения 9 (1,5 г) и соединения 11 (1,4 г) в Py (15 мл) при 25°C. Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 16 ч. Реакционный раствор дегидратировали и концентрировали, а остаток суспендировали с MeOH:H₂O = 20 мл:20 мл, в результате получали соединение 10 (1,3 г, выход: 48%).

9. Синтез соединения 187 2-((2-((1г,4г)-4-этинил-4-гидроксициклогексил)-6-метокси-2H-индазол-5-ил)карбамоил)-6-метилпиридин-1-оксида.

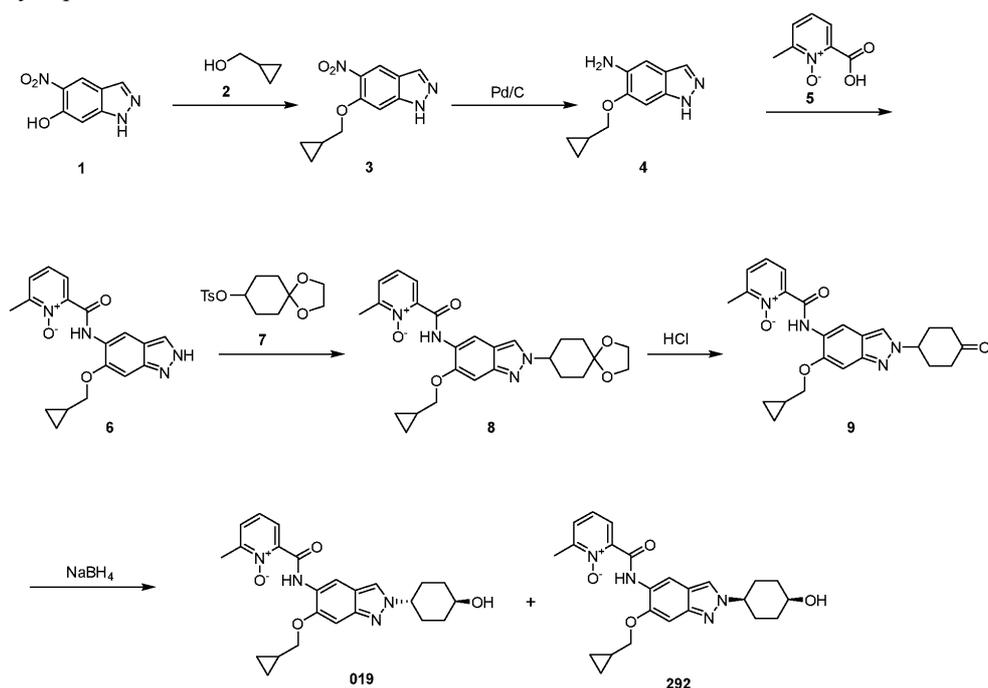


187

Соединение 10 (300 мг), соединение 5 (444 мг) и карбонат цезия (820 мг) последовательно добавляли в NMP (10 мл) при 30°C. Реакционную смесь перемешивали при 90°C в течение 18 ч. После завершения реакции по данным ЖХМС реакционный раствор охлаждали до 30°C, добавляли воду (15 мл) для остановки реакции и экстрагировали с использованием этилацетата (10 мл × 3). Экстракты промывали насыщенным раствором хлорида натрия (10 мл), дегидратировали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии (CH₃CN:H₂O (0,1 % NH₄HCO₃) = 5-90%, УФ: 214 нм, скорость потока: 15 мл/мин), в результате получали соединение 187 (85 мг, выход: 20%). ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): δ 14,14 (s, 1H), 8,89 (s, 1H), 8,46 (dd, J₁= 7,6 Гц, J₂= 2,8 Гц, 1H), 7,87 (s, 1H), 7,45-7,37 (m, 2H), 7,07 (s, 1H), 4,44-4,33 (m, 1H), 4,06 (s, 3H), 2,69-2,60 (m, 4H), 2,33-2,27 (m, 4H), 2,25-2,17 (m, 2H), 1,90-1,79 (m, 2H). ЖХ-МС: Rt = 3,162 мин, [M+H]⁺ = 421,2.

Пример 14. Синтез соединений 019 и соединения 292.

Формула реакции:



1. Синтез соединения 3.

PPh₃ (15 г) добавляли к раствору соединения 1 (7 г) и соединения 2 (3,37 г) в THF (200 мл) на ледяной бане. Реакционную систему перемешивали в течение 10 мин. DIAD (3,1 г) медленно по каплям добавляли к реакционному раствору, а реакционную систему перемешивали при 30°C в течение 18 ч. В реакционный раствор добавляли воду (50 мл) и экстрагировали с использованием этилацетата (40 мл × 4). Органическую фазу концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (PE:EA = 10:1-PE:EA = 2:1), в результате получали соединение 3 (6,0 г, выход: 66%).

2. Синтез соединения 4.

Pd/C (1,0 г, 10%) добавляли в раствор соединения 3 (6,5 г) в этилацетате (300 мл) при 15°C и реакционную систему перемешивали при 30°C в течение 18 ч в атмосфере водорода под давлением 760 Торр. Реакционный раствор фильтровали и концентрировали при пониженном давлении, в результате получали соединение 4 (4,5 г, выход: 80%).

3. Синтез соединения 6.

EDCI.HCl (2,1 г) добавляли в раствор соединения 4 (1,5 г) и соединения 5 (1,1 г) в пиридине (30 мл) при 25°C. Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 16 ч. Реакционный раствор концентрировали и выпаривали, а остаток очищали на колонке с силикагелем (ПЭ: ЭА = 1:1), в результате получали соединение 6 (810 мг, выход: 32%).

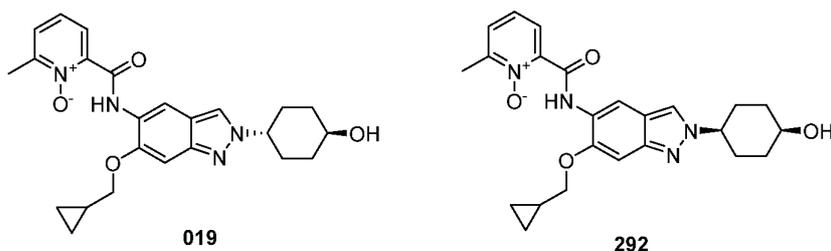
4. Синтез соединения 8.

Карбонат цезия (2,3 г) добавляли в раствор соединения 6 (810 мг) и соединения 7 (1,1 г) в DMF (15 мл) при 25°C. Реакционную смесь перемешивали при 90°C в течение 16 ч. В реакционный раствор добавляли воду (50 мл) и экстрагировали с использованием этилацетата (30 мл × 3). Органическую фазу концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии (CH₃CN:H₂O (0,1% NH₄HCO₃) = 30-55%, УФ: 214 нм, скорость потока: 15 мл/мин), в результате получали соединение 8 (320 мг, выход: 28%).

5. Синтез соединения 9.

4 мл 2 М соляной кислоты добавляли в раствор соединения 8 (320 мг) в диоксане (4 мл) при 25°C. Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 16 ч. Реакционный раствор доводили до pH > 7 раствором бикарбоната натрия и экстрагировали с использованием этилацетата (10 мл × 2). Органическую фазу концентрировали при пониженном давлении, в результате получали соединение 9 (250 мг, выход: 86%).

6. Синтез соединения 019 2-((6-(циклопропилметокси)-2-((1r,4r)-4-гидроксициклогексил)-2H-индазол-5-ил)карбамоил)-6-метилпиридин-1-оксида и соединения 292 2-((6-(циклопропилметокси)-2-((1s,4s)-4-гидроксициклогексил)-2H-индазол-5-ил)карбамоил)-6-метилпиридин-1-оксида.



Боргидрид натрия (44 мг) добавляли в раствор соединения 7 (250 мг) в метаноле (5 мл) при 0°C. Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 2 ч. Реакционный раствор гасили раствором хлорида аммония (10 мл) и подвергали экстракции с использованием этилацетата (5 мл × 3). Органическую фазу концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии (CH₃CN:H₂O (0,1% NH₄HCO₃) = 35-60%, УФ: 214 нм, скорость потока: 15 мл/мин), в результате получали соединение 019 (время удерживания Rt = 10,7 мин, 77 мг, выход: 31%) и соединение 292 (время удерживания Rt = 11,1 мин, 12 мг, выход: 5%).

Соединение 019.

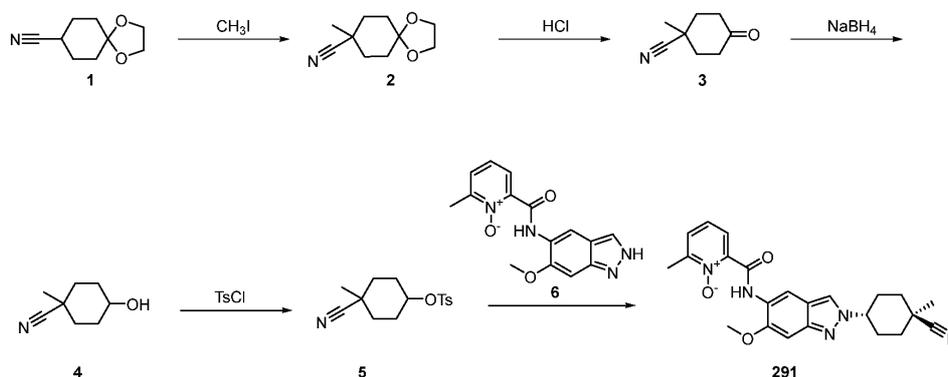
¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆): δ 14,31 (s, 1H), 8,78 (s, 1H), 8,31-8,27 (m, 2H), 7,77-7,75 (m, 1H), 7,56 (t, J = 7,6 Гц, 1H), 7,07 (s, 1H), 4,69 (s, 1H), 4,40-4,32 (m, 1H), 4,02 (d, J = 6,8 Гц, 1H), 3,56-3,51 (m, 1H), 2,52 (s, 3H), 2,09-2,05 (m, 2H), 1,97-1,87 (m, 4H), 1,44-1,34 (m, 3H), 0,66-0,61 (m, 2H), 0,48-0,45 (m, 2H). ЖХ-МС: Rt = 3,391 мин, [M+H]⁺ = 437,2.

Соединение 292.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆): δ 14,31 (s, 1H), 8,79 (s, 1H), 8,31-8,29 (m, 2H), 7,77-7,75 (m, 1H), 7,57 (t, J = 7,6 Гц, 1H), 7,08 (s, 1H), 4,49 (d, J = 6,8 Гц, 1H), 4,40-4,34 (m, 1H), 4,02 (d, J = 6,8 Гц, 2H), 3,87 (s, 1H), 2,52 (s, 3H), 2,33-2,22 (m, 2H), 1,56-1,75 (m, 4H), 1,66-1,60 (m, 2H), 1,41-1,34 (m, 1H), 0,65-0,61 (m, 2H), 0,49-0,45 (m, 2H). ЖХ-МС: Rt = 3,101 мин, [M+H]⁺ = 437,2.

Пример 15. Синтез соединения 291.

Формула реакции:



1. Синтез соединения 2.

Соединение 1 (800 мг) растворяли в тетрагидрофуране (10 мл) при 0°C. LiHMDS (1 М раствор в THF, 5,50 мл) медленно по каплям добавляли в реакционный раствор при 0°C, затем перемешивали в течение 60 мин при 0°C и медленно добавляли йодометан (680 мг). Реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 1,5 ч. После завершения реакции к реакционному раствору добавляли насыщенный раствор хлорида аммония (10 мл) для гашения реакции, затем экстрагировали этилацетатом (25 мл × 2) и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали на колонке с силикагелем (петролейный эфир: этилацетат = 7:1), в результате получали соединение 2 (420 мг, выход: 55%).

2. Синтез соединения 3.

Соединение 2 (700 мг) и 3 М HCl (18 мл) последовательно добавляли в тетрагидрофуран (18 мл) при 0°C. Реакционную смесь перемешивали при 50°C в течение 5 ч. После завершения реакции к реакционному раствору добавляли водный раствор гидроксида натрия (3 М) для доведения pH до 8, затем подвергали экстракции с использованием дихлорметана (20 мл × 2) и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали на колонке с силикагелем (петролейный эфир: этилацетат = 4:1), в результате получали соединение 3 (420 мг, выход: 78%).

3. Синтез соединения 4.

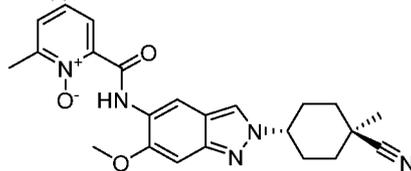
Соединение 3 (390 мг) растворяли в этаноле (8 мл) при 25°C. В реакционный раствор добавляли по каплям раствор боргидрида натрия (112 мг) в этаноле (1 мл) при -70°C и перемешивали при -70°C в течение 1 ч. После завершения реакции к реакционному раствору добавляли воду (8 мл) для гашения реакции, а затем экстрагировали с использованием этилацетата (15 мл × 2). Органическую фазу концентриро-

вали при пониженном давлении. Остаток очищали при помощи колоночной хроматографии на силикагеле (петролейный эфир: этилацетат = 1:1), в результате получали соединение 4 (280 мг, выход: 66%).

4. Синтез соединения 5.

Соединение 4 (250 мг), TosCl (406 мг), ДМАП (261 мг) и триэтиламин (0,5 мл) последовательно добавляли в дихлорметан (8 мл) при 28°C. Реакционную смесь перемешивали при 28°C в течение 18 ч. После завершения реакции реакционный раствор концентрировали и выпаривали, а остаток очищали при помощи колоночной хроматографии на силикагеле (петролейный эфир: этилацетат = 6:1), в результате получали соединение 5 (370 мг, выход: 64%).

5. Синтез соединения 291 2-((2-((1r,4r)-4-циано-4-метилциклогексил)-6-метокси-2H-индазол-5-ил)карбамоил)-6-метилпиридин-1-оксида.



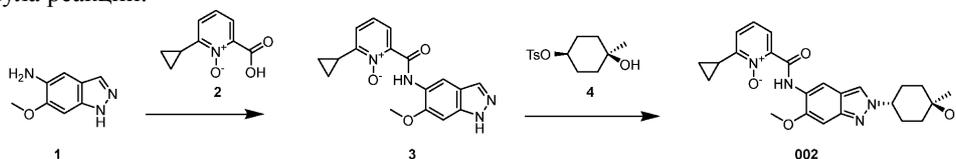
291

Соединение 5 (296 мг), соединение 6 (350 мг) и карбонат цезия (808 мг) последовательно добавляли в DMF (6 мл) при 25°C. Реакционную смесь перемешивали при 90°C в течение 18 ч после завершения добавления. После завершения реакции добавляли воду (10 мл) для гашения реакции, дважды экстрагировали реакционный раствор с использованием этилацетата (40 мл). Органическую фазу концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии (CH₃CN:H₂O (0,1% NH₄HCO₃) = 5-95%, УФ: 214 нм, скорость потока: 15 мл/мин), в результате получали соединение 291 (80 мг, выход: 19%).

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): δ 14,14 (s, 1H), 8,88 (s, 1H), 8,45 (d, J = 7,6 Гц, 1H), 7,87 (s, 1H), 7,44-7,38 (m, 2H), 7,06 (s, 1H), 4,53-4,50 (m, 1H), 4,06 (s, 3H), 2,63 (s, 3H), 2,46-2,39 (m, 2H), 2,28-2,20 (m, 2H), 2,02-1,88 (m, 4H), 1,45 (s, 3H). ЖХ-МС: Rt = 3,310 мин, [M+H]⁺ = 420,2.

Пример 16. Синтез соединения 002.

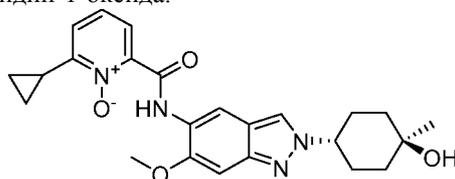
Формула реакции:



1. Синтез соединения 3.

Соединение 2 (1,0 г), соединение 1 (0,91 г) и EDCI (1,6 г) добавляли к пиридину (15 мл) при 28°C. Реакционную смесь перемешивали при 28°C в течение 18 ч. После завершения реакции реакционный раствор концентрировали при пониженном давлении и остаток суспендировали с метанолом и водой, в результате получали соединение 3 (1,0 г, выход: 56%).

2. Синтез соединения 002 2-циклопропил-6-((2-((1r,4r)-4-гидрокси-4-метилциклогексил)-6-метокси-2H-индазол-5-ил)карбамоил)пиридин-1-оксида.



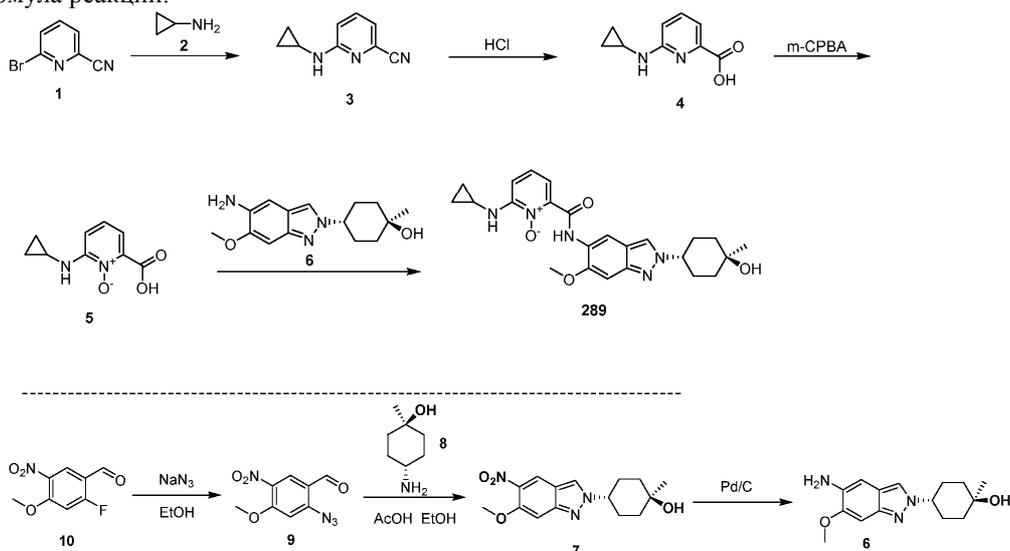
002

Соединение 3 (500 мг), соединение 4 (675 мг) и карбонат цезия (1,26 г) последовательно добавляли в DMF (10 мл) при 25°C. Реакционную смесь перемешивали при 90°C в течение 18 ч. После завершения реакции реакционный раствор охлаждали до 25°C, добавляли воду (5 мл) для гашения реакции и экстрагировали с использованием этилацетата (15 мл × 3). Экстракты промывали насыщенным соевым раствором (10 мл), обезвоживали безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (CH₃CN:H₂O = 20-45%, УФ: 214 нм, скорость потока: 15 мл/мин), в результате получали соединение 002 (130 мг, выход: 19%).

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): δ 14,22 (s, 1H), 8,89 (s, 1H), 8,40 (dd, J₁ = 2,0 Гц, J₂ = 8,0 Гц, 1H), 7,87 (s, 1H), 7,37 (t, J = 8,0 Гц, 1H), 7,14-7,01 (m, 2H), 4,46-4,34 (m, 1H), 4,05 (s, 3H), 2,91-2,81 (m, 1H), 2,30-2,08 (m, 4H), 1,93-1,82 (m, 2H), 1,76-1,69 (m, 2H), 1,39 (s, 3H), 1,32-1,23 (m, 2H), 0,89-0,76 (m, 2H). ЖХ-МС: Rt = 2,859 мин, [M+H]⁺ = 437,2.

Пример 17. Синтез соединения 289.

Формула реакции:



1. Синтез соединения 3.

Соединение 1 (5,0 г), соединение 2 (2,3 г), карбонат цезия (13,4 г), Pd₂(dba)₃ (0,25 г) и BINAP (0,51 г) последовательно добавляли в метилбензол (100 мл) при 26°C. Реакционную смесь перемешивали при 80°C в течение 18 ч в атмосфере азота. После завершения реакции реакционный раствор охлаждали до 26°C, добавляли воду (100 мл) и экстрагировали с использованием этилацетата (200 мл × 3). Экстракты промывали насыщенным солевым раствором (100 мл), сушили над безводным сульфатом натрия, концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с использованием колоночной хроматографии на силикагеле (петролейный эфир: этилацетат = 10:1), в результате получали соединение 3 (1,3 г, выход: 30%).

2. Синтез соединения 4.

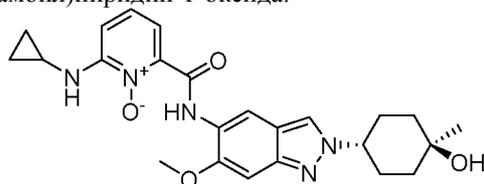
Гидроксид калия (4,58 г) добавляли к раствору соединения 3 (1,3 г) в этаноле/воде (40 мл/10 мл). Реакционную смесь перемешивали при 90°C в течение 16 ч. Реакционный раствор доводили до pH = 6 с помощью 1 М соляной кислоты и экстрагировали с использованием этилацетата (100 мл × 3). Экстракты промывали водой (50 мл) и насыщенным солевым раствором (100 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении, в результате получали соединение 4 (1,12 г, выход: 77%).

3. Синтез соединения 5.

m-CPBA (1,86 г) добавляли в раствор соединения 4 (360 мг) в дихлорметане (50 мл) при 26°C.

Реакционную смесь перемешивали при 26°C в течение 3 суток. После завершения реакции реакционный раствор фильтровали, к фильтрату добавляли насыщенный раствор сульфита натрия, доводили pH до <7 с помощью соляной кислоты, перемешивали при 26°C в течение 2 ч и подвергали экстракции с использованием дихлорметана (200 мл × 3). Экстракты промывали насыщенным солевым раствором (100 мл), обезвоживали безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью тонкослойной хроматографии на силикагеле (дихлорметан: метанол = 20:1), в результате получали соединение 5 (60 мг, выход: 15%).

4. Синтез соединения 289 2-(циклопропиламино)-6-((2-((1г,4г)-4-гидрокси-4-метилциклогексил)-6-метокси-2Н-индазол-5-ил)карбамоил)пиридин-1-оксида.



289

Соединение 5 (49 мг), соединение 6 (69 мг), NATU (118 мг) и DIPEA (66 мг) добавляли в ДМФА (5 мл). Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 18 ч. Реакционный раствор концентрировали при пониженном давлении, а остаток очищали с помощью препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии (CH₃CN:H₂O = 30-95%, УФ: 214 нм, скорость потока: 15 мл/мин), в результате получали соединение 289 (95 мг, выход: 83%).

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): δ 14,29 (s, 1H), 8,89 (s, 1H), 7,86 (t, J = 6,4 Гц, 2H), 7,41 (t, J = 8,0 Гц, 1H), 7,15 (s, 2H), 7,07 (s, 1H), 4,43-4,38 (m, 1H), 4,04 (s, 3H), 2,61 (br s, 1H), 2,25-2,13 (m, 4H), 1,89-1,85 (m, 1H),

1,75-1,64 (m, 4H), 1,39 (s, 3H), 0,93-0,90 (m, 2H), 0,74-0,72 (m, 2H). ЖХ-МС: Rt = 3,308 мин, [M+H]⁺ = 452,2.

5. Синтез соединения 9.

NaN₃ (13,2 г) добавляли к раствору соединения 10 (34 г) в этаноле (350 мл) при 0°C. Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 16 ч, а затем сразу использовали на следующей стадии после завершения реакции.

6. Синтез соединения 7.

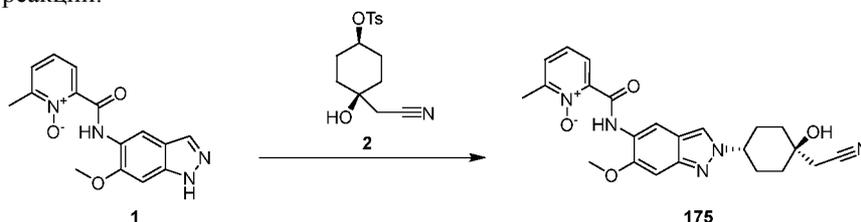
Уксусную кислоту (30,6 г) и соединение 8 (22 г) добавляли в раствор соединения 9 (0,17 моль) в этаноле (350 мл) при 25°C. Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 10 мин. Реакционный раствор кипятили с обратным холодильником при 80°C и осуществляли реакцию в течение 16 ч. После завершения реакции часть реакционного раствора концентрировали, суспендировали с водой (70 мл) и фильтровали с получением твердого вещества. Твердое вещество добавляли в этанол (200 мл), нагревали с обратным холодильником и растворяли, добавляли н-гептан (200 мл), суспендировали в течение 2 ч и фильтровали с получением соединения 7 (35 г, выход 67 % за две стадии).

7. Получение соединения 6.

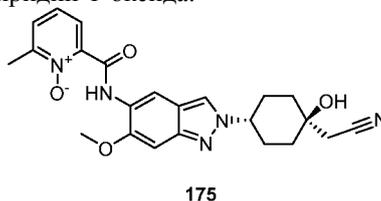
Pd/C (150 мг) добавляли в раствор соединения 7 (300 мг) в этилацетате (50 мл) при 25°C. Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 16 ч. После завершения реакции реакционный раствор фильтровали и концентрировали при пониженном давлении, в результате получали соединение 6 (260 мг, выход 96%).

Пример 18. Синтез соединения 175.

Формула реакции:



1. Синтез соединения 175 2-((2-((1г,4г)-4-(цианометил)-4-гидроксициклогексил)-6-метокси-2Н-индазол-5-ил)карбамоил)-6-метилпиридин-1-оксида.

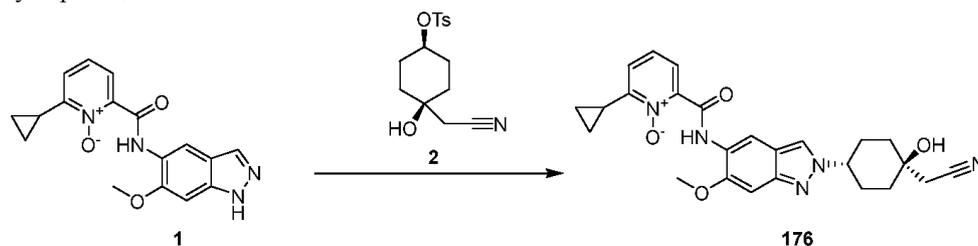


Карбонат цезия (1,4 г) добавляли в раствор соединения 1 (520 мг) и соединения 2 (806 г) в DMF (10 мл) при 25°C. Реакционную смесь перемешивали при 90°C в течение 16 ч. Реакционный раствор добавляли в воду (50 мл) и экстрагировали этилацетатом (30 мл × 3). Органическую фазу концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии (CH₃CN:H₂O (0,1% NH₄HCO₃) = 20-40%, УФ: 214 нм, скорость потока: 15 мл/мин), в результате получали соединение 175 (64 мг, выход: 8%).

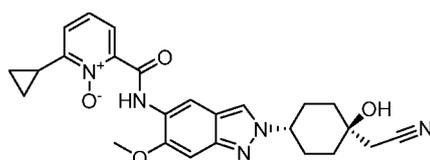
¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆): δ 14,16 (s, 1H), 8,79 (s, 1H), 8,37 (s, 1H), 8,32-8,29 (m, 1H), 7,78-7,76 (m, 1H), 7,58 (t, J = 8,0 Гц, 1H), 7,11 (s, 1H), 5,20 (s, 1H), 4,49-4,45 (m, 1H), 3,95 (s, 3H), 2,82 (s, 2H), 2,53 (s, 3H), 2,14-2,01 (m, 4H), 1,84-1,80 (m, 2H), 1,71-1,64 (m, 2H). ЖХ-МС: Rt = 9,367 мин, [M+H]⁺ = 436,2.

Пример 19. Синтез соединения 176.

Формула реакции:



1. Синтез соединения 176 2-((2-((1г,4г)-4-(цианометил)-4-гидроксициклогексил)-6-метокси-2Н-индазол-5-ил)карбамоил)-6-циклопропилпиридин-1-оксида.



176

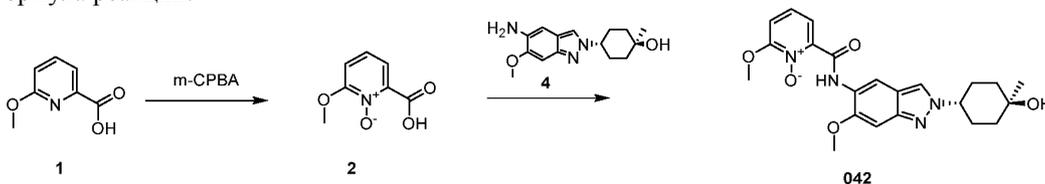
Соединение 8 (420 мг), соединение 9 (601 мг) и карбонат цезия (1,06 г) последовательно добавляли в DMF (10 мл) при 25°C. Реакционную смесь перемешивали при 90°C в течение 16 ч. После завершения реакции реакционный раствор охлаждали до 25°C, добавляли воду (5 мл) для гашения реакции и экстрагировали с использованием этилацетата (10 мл × 3).

Экстракты промывали насыщенным солевым раствором (10 мл), обезвоживали безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (CH₃CN:H₂O = 25-55%, УФ: 214 нм, скорость потока: 15 мл/мин) и с помощью препаративной тонкослойной хроматографии на силикагеле (дихлорметан: метанол = 20:1), в результате получали соединение 176 (25 мг, выход: 4%).

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): δ 14,25 (s, 1H), 8,89 (s, 1H), 8,39 (dd, J₁ = 2,0 Гц, J₂ = 8,0 Гц, 1H), 7,86 (s, 1H), 7,38 (t, J = 8,0 Гц, 1H), 7,09-7,03 (m, 2H), 4,53-4,43 (m, 1H), 4,05 (s, 3H), 2,90-2,81 (m, 1H), 2,76 (s, 2H), 2,33-2,17 (m, 4H), 2,13-2,03 (m, 2H), 1,99-1,93 (m, 1H), 1,89-1,73 (m, 2H), 1,30-1,26 (m, 2H), 0,88-0,80 (m, 2H). ЖХ-МС: Rt = 3,553 мин, [M+H]⁺ = 462,2.

Пример 20. Синтез соединения 042.

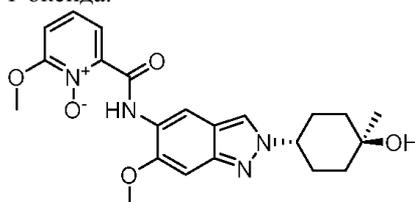
Формула реакции:



1. Синтез соединения 2.

m-CPBA (13,3 г) добавляли в раствор соединения 1 (5,0 г) в дихлорметане (50 мл) при 25°C. Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 18 ч. Реакционный раствор фильтровали, к фильтрату добавляли насыщенный водный раствор сульфита натрия (8,2 г), перемешивали при 25°C в течение 2 ч и подвергали экстракции дихлорметаном (50 мл × 3). Экстракты промывали насыщенным солевым раствором (50 мл), обезвоживали безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток суспендировали с этилацетатом и очищали, в результате получали соединение 2 (600 мг, выход: 11%).

2. Синтез соединения 042 2-((2-((1r,4r)-4-гидрокси-4-метилциклогексил)-6-метокси-2H-индазол-5-ил)карбамоил)-6-метоксипиридин-1-оксида.

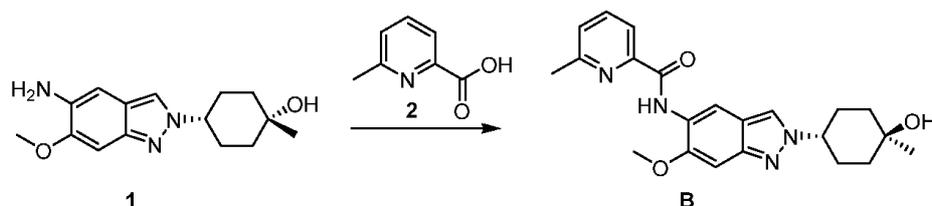


042

Соединение 2 (92 мг), соединение 4 (150 мг), НАТУ (311 мг) и триэтиламин (165 мг) добавляли в DMF (5 мл) при 25°C. Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 16 ч. После завершения реакции к реакционному раствору добавляли воду (5 мл) для гашения реакции и экстрагировали с использованием этилацетата (5 мл × 3). Экстракты промывали насыщенным солевым раствором (10 мл), обезвоживали безводным сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (CH₃CN:H₂O = 10-40%, УФ: 214 нм, скорость потока: 15 мл/мин), в результате получали соединение 042 (96 мг, выход: 41%).

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): δ 14,15 (s, 1H), 8,89 (s, 1H), 8,22 (dd, J₁ = 2,0 Гц, J₂ = 8,0 Гц, 1H), 7,86 (s, 1H), 7,49 (t, J = 8,0 Гц, 1H), 7,11-7,02 (m, 2H), 4,44-4,34 (m, 1H), 4,16 (s, 3H), 4,03 (s, 3H), 2,29-2,08 (m, 4H), 1,91-1,82 (m, 2H), 1,73-1,69 (m, 2H), 1,39 (s, 3H). ЖХ-МС: Rt = 2,713 мин, [M+H]⁺ = 427,2.

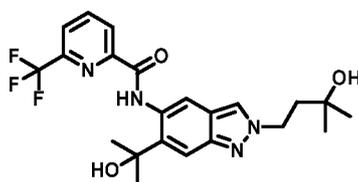
Пример 21. Синтез соединения В N-(2-((1r,4r)-4-гидрокси-4-метилциклогексил)-6-метокси-2H-индазол-5-ил)-6-метилпиколиламида.



Соединение 1 (150 мг), соединение 2 (75 мг), НАТУ (249 мг) и DIPEA (141 мг) последовательно добавляли к DMF (5 мл) при 25°C. Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 16 ч. В реакционный раствор добавляли воду (50 мл) и экстрагировали с использованием этилацетата (10 мл × 3). Экстракты промывали насыщенным солевым раствором (10 мл), обезвоживали безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (CH₃CN:H₂O = 30-95%, УФ: 214 нм, скорость потока: 15 мл/мин) с получением твердого вещества белого цвета (170 мг, выход: 79%).

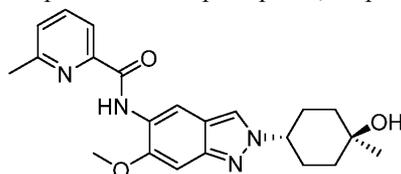
¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): δ 10,82 (s, 1H), 8,85 (s, 1H), 8,10 (d, J = 7,6 Гц, 1H), 7,87 (s, 1H), 7,78 (t, J = 7,6 Гц, 1H), 7,32 (d, J = 7,2 Гц, 1H), 7,08 (s, 1H), 4,43-4,37 (m, 1H), 4,03 (s, 3H), 2,66 (s, 3H), 2,27-2,13 (m, 4H), 1,89 (br s, 1H), 1,76-1,68 (m, 4H), 1,40 (s, 3H). ЖХ-МС: Rt = 3,604 мин, [M+H]⁺ = 395,2. Биологическая оценка.

Следующие примеры испытаний используются для дальнейшего объяснения настоящего изобретения, но не предназначены для ограничения его объема. Структура соединения А в примерах биологических испытаний:



А

Структура соединения В, синтезированного в примере 21, в примерах биологических испытаний:



В.

Пример испытания 1. Определение ингибирования IRAK4 человека соединениями, описанными в настоящем документе.

Основные материалы:

АТФ (Sigma, № по каталогу A7699-1G),

DMCO (Sigma, № по каталогу D2650),

EDTA (Sigma, № по каталогу E5134),

HEPES (Sigma, № по каталогу V900477-500G),

DTT (Sigma, № по каталогу D0632-25g),

EDTA (Sigma, № по каталогу B4184),

96-луночный планшет (Corning, № по каталогу 3365),

384-луночный планшет (Corning, № по каталогу 3573).

Процедуры.

Ингибирующую активность соединений в отношении IRAK4 в концентрации АТФ на уровне Km измеряли методом MSA IRAK4 (анализ сдвига электрофоретической подвижности, определение подвижности с применением микрожидкостного чипа), как описано ниже. В качестве фермента использовали рекомбинантный слитый белок N-концевой GST (глутатион-S-трансфераза) и человеческой IRAK4 (GST-IRAK4, киназа IRAK4 (Carna, № по каталогу 09-145)) в конечной концентрации 1 нМ; АТФ (Sigma, № по каталогу A7699-1G) в конечной концентрации 37 мкМ;

субстраты, используемые для реакции киназы, представляли собой 5-FAM (5-карбоксихлорофлуоресцеин)-меченый полипептид (5-FAM-IPTSPITTTTYFFFKKK-COOH) и субстратный пептид FAM-P8 (GL Biochem, № по каталогу 112396) в конечных концентрациях 5 мкМ.

В этом анализе готовили 500 мкМ исходных растворов соединений в 100% DMSO и серийно в 4 раза разбавляли до 10-го градиента концентрации 100% DMSO с последующим 10-кратным разбавлением в буферном растворе соединения (50 мМ HEPES, pH 7,5, 0,00015% Brij-35) с получением промежуточных разведений соединений в конечной концентрации 10 мкМ-0,04 нМ, содержащих 10 % DMSO. По 5 мкл

промежуточного разведения переносили в черный 384-луночный планшет.

IRAK4 разбавляли до концентрации 2,5 нМ в киназном буфере (50 мМ HEPES, pH 7,5, 0,00015% Brij-35, 2 мМ DTT). Переносили по 10 мкл разведенного IRAK4 в 384-луночный планшет и совместно инкубировали с соединением в течение 10-15 мин. Субстрат и АТФ разбавляли до 12,5 мкМ и 92,5 мкМ реакционным буфером (50 мМ HEPES, pH 7,5, 0,00015% Brij-35, 10 мМ MgCl₂), соответственно. По 10 мкл каждого разведения переносили в 384-луночный планшет и инкубировали при 28°C в течение 1 ч. Реакцию останавливали при добавлении 25 мкл 50 мМ ЭДТА в 384-луночный планшет. Степень ингибирования IRAK4 соединениями оценивали путем измерения уровня фосфорилированного субстрата с помощью Caliper EZ Reader (PerkinElmer), а IC₅₀ рассчитывали с помощью программного обеспечения XL-fit.

Результаты показывают, что соединения, описанные в настоящем изобретении, оказывают значительное ингибирующее действие на активность IRAK4, а значение IC₅₀ (нМ) составляет менее 100, предпочтительно менее 30.

В частности, некоторые примерные значения активности соединения показаны ниже.

Значения IC₅₀ для соединений, описанных в настоящем изобретении, ингибирующих активность IRAK4 человека, приведены в табл. 1.

Таблица 1
IC₅₀ при ингибировании активности
IRAK4 человека

Идентификатор соединения	IC ₅₀ (нМ)
Соединение В	30,0
001	6,0
002	3,7
010	11,0
013	7,6
014	2,5
015	5,4
016	8,1
019	8,1
025	13,0
163	23,0
175	7,1
176	4,3
187	9,2
218	8,3
220	14,0
284	28,0
285	5,9
286	14,0
287	13,0
288	13,0
289	1,7
291	14,0
292	14

Пример испытания 2. Определение ингибирования IRAK1 человека соединениями, описанными в настоящем изобретении.

В данном анализе оценивали ингибирующее действие соединений на активность IRAK1 человека с использованием тех же материалов, что и в примере испытания 1. Ингибирующую активность соедине-

ний в отношении IRAK1 в концентрации АТФ на уровне K_m измеряли методом MSA IRAK1 (анализ сдвига электрофоретической подвижности, определение подвижности с применением микрожидкостного чипа), как описано ниже. В качестве фермента использовали рекомбинантный слитый белок N-концевой GST (глутатион-S-трансфераза) и человеческой IRAK1 (GST-IRAK1, киназа IRAK1, Cerna) в конечной концентрации 3 нМ; АТФ (Sigma) имел конечную концентрацию 97 мкМ; субстраты, используемые для реакции киназы, представляли собой 5-FAM (5-карбоксифлуоресцеин) - меченый полипептид (5-FAM-IPTSPITTYFFFKK-COOH) и субстратный пептид FAM-P8 (GL Biochem) в конечных концентрациях 5 мкМ.

В этом анализе готовили 500 мкМ исходных растворов соединений в 100% DMSO и серийно в 4 раза разбавляли до 10-го градиента концентрации 100% DMSO с последующим 10-кратным разбавлением в буферном растворе соединения (50 мМ HEPES, pH 7,5, 0,00015 % Brij-35) с получением промежуточных разведений соединений в конечной концентрации 10 мкМ-0,04 нМ, содержащих 10% DMSO. По 5 мкл промежуточного разведения переносили в черный 384-луночный планшет.

IRAK1 разбавляли до концентрации 7,5 нМ в киназном буфере (50 мМ HEPES, pH 7,5, 0,00015% Brij-35, 2 мМ DTT). Переносили по 10 мкл разведенного IRAK1 в 384-луночный планшет и совместно инкубировали с соединением в течение 10-15 мин. Субстрат и АТФ разбавляли до 12,5 мкМ и 242,5 мкМ реакционным буфером (50 мМ HEPES, pH 7,5, 0,00015% Brij-35, 10 мМ $MgCl_2$), соответственно. По 10 мкл каждого разведения переносили в 384-луночный планшет и инкубировали при 28°C в течение 1 ч. Реакцию останавливали при добавлении 25 мкл 50 мМ ЭДТА в 384-луночный планшет. Ингибирование IRAK1 соединениями оценивали путем измерения уровня фосфорилированного субстрата с помощью Caliper EZ Reader (PerkinElmer), а IC_{50} рассчитывали с помощью программного обеспечения XL-fit.

Полученные результаты показывают, что соединения, описанные в настоящем изобретении, обладают значительной селективной ингибирующей активностью в отношении IRAK4, а отношение IC_{50} (нМ) для IRAK1 и IRAK4 составляет более 500, предпочтительно более 200. В частности, некоторые примерные значения активности соединения показаны ниже: Значения IC_{50} для соединений, описанных в настоящем изобретении, ингибирующих активность IRAK1 человека, приведены в табл. 2.

Таблица 2

 IC_{50} при ингибировании активности IRAK1 человека

Идентификатор соединения	IRAK1 IC_{50} (нМ)	IRAK1 IC_{50} (нМ) / IRAK4 IC_{50} (нМ)
163	2993	130,1
001	4039	673,2

Как видно из табл. 2, соединения, описанные в настоящем изобретении, обладают значительной селективностью в отношении IRAK4 человека в сравнении с IRAK1.

Пример испытания 3. Эксперименты по определению hERG с использованием соединений, описанных в настоящем изобретении.

В данном эксперименте оценивали кардиологическую безопасность соединений, описанных в настоящем документе, при этом для обнаружения использовали клеточную линию НЕК-293, стабильно экспрессирующую ионный канал калия hERG.

Приборы.

Амплификатор: поставщик НЕКА (Германия), EPC10.

Микроманипулятор: поставщик Sutter Instruments (США), MP225.

Устройство для извлечения микропипеток: поставщик Sutter Instruments (США), P97.

Микроскоп: поставщик Nikon, TE300.

Стекланные капиллярные трубки: поставщик Sutter Instruments (США), BF150-86-10.

Программное обеспечение для сбора и анализа данных: PatchMaster, Igor Pro 6.0 и GraphPad.

Prism 5.0.

Процедуры.

Исходные растворы исследуемого соединения разбавляли в DMSO с получением разведений 0,3 мМ, 1 мМ и 3 мМ. Исходные растворы исследуемого соединения разбавляли во внеклеточном буфере (140 мМ NaCl, 3,5 мМ KCl, 1 мМ $MgCl_2$, 2 мМ $CaCl_2$, 10 мМ глюкозы, 10 мМ HEPES, 1,25 мМ NaH_2PO_4 , доведение до pH 7,4 с помощью NaOH) с получением рабочих растворов исследуемых соединений в концентрациях 0,3 мкМ, 1 мкМ, 3 мкМ, 10 мкМ и 30 мкМ. Рабочие растворы исследуемых соединений обрабатывали ультразвуком в течение 20 мин.

Фиксация потенциала.

При анализе с инвертированным микроскопом измерительные электроды управляли микроманипулятором для обеспечения контакта с клеткой. Для создания G-омега-образного соединения подавали отрицательное напряжение. После формирования G-омега-образного соединения обеспечивалась быстрая компенсация емкостного сопротивления. При воздействии непрерывного отрицательного напряжения клеточная мембрана разрывалась, при этом обеспечивалась возможность измерения цельной клетки. В

варианте измерения цельной клетки обеспечивалась медленная компенсация емкости, при этом измерялись значения емкостного сопротивления мембраны и последовательного активного сопротивления.

Схема стимуляции фиксированным потенциалом для обеспечения клеточного калиевого тока hERG: Напряжение на зажиме для клеточной мембраны составляло -80 мВ; сначала напряжение повышали от -80 мВ до +30 мВ, удерживали в течение 2,5 с и быстро повышали и удерживали на уровне -50 мВ в течение 4 с для возбуждения следового тока канала hERG. Регистрацию данных выполняли каждые 10 сек. Напряжение -50 мВ использовали для обнаружения тока утечки.

Покровные стекла с посеянными на них клетками помещали в регистрирующую камеру инверсионного микроскопа. Отрицательный контроль и исследуемые соединения пропускали через регистрирующую камеру в порядке возрастания концентрации за счет гравитационной перфузии с быстрым воздействием на клетки. Во время измерения осуществлялась непрерывная циркуляция внеклеточного буфера с помощью вакуумного насоса. В качестве фонового для клеток использовали ток, обнаруженный в клетке отрицательного контроля. Период воздействия соединений каждой концентрации составлял 5 мин или до стабилизации тока. Все эксперименты проводили при комнатной температуре.

Анализ данных.

Сначала нормализовали ток для каждой концентрации $\left(\frac{\text{Соединение на уровне пикового следового тока}}{\text{Носитель на уровне пикового следового тока}} \right)$ а затем рассчитывали степень ингибирования $\left(1 - \frac{\text{Соединение на уровне пикового следового тока}}{\text{Носитель на уровне пикового следового тока}} \right)$.

Для каждой концентрации рассчитывали основные статистические показатели, в том числе среднее значение, стандартное отклонение (SD), среднеквадратичную ошибку (SE) и повторности (n). Кривую зависимости от дозы подбирали в соответствии с указанным уравнением и рассчитывали концентрацию полумаксимального ингибирования (IC₅₀) изучаемых соединений.

Где С - концентрация исследуемого соединения, IC₅₀ - полумаксимальная ингибирующая концентрация, а h - коэффициент Хилла. Подбор кривой и расчет IC₅₀ выполняли с помощью программного обеспечения GraphPad Prism 5.0.

Полученные результаты демонстрируют низкие степени ингибирования соединений, описанных в настоящем изобретении, в отношении hERG человека, которые даже значительно превосходят степени ингибирования контрольного соединения А. Степень ингибирования соединений в концентрации 30 мкМ в отношении hERG составляет менее 50%, предпочтительно менее 30% от степени ингибирования соединения А. В частности, некоторые примерные значения степени ингибирования соединения показаны ниже.

Таблица 3
Ингибирование hERG в концентрации 30 мкМ

Идентификатор соединения	Ингибирование hERG (30 мкМ)
А	27,10 % ± 1,74 %
163	8,73 % ± 1,37 %
001	5,09 % ± 2,43 %

Как видно из табл. 3, соединения, описанные в настоящем изобретении, имеют низкие степени ингибирования hERG человека, и при этом обладают значительным преимуществом по сравнению с соединением А.

Пример испытания 4. Определение данных о зависимом от времени ингибировании (TDI) соединений, описанных в настоящем изобретении.

Данное исследование было направлено на изучение зависимого от времени ингибирующего действия соединений на суперсемейство CYP3 A4 P450 человека. Смешанные микросомы печени человека, использованные в этом анализе, были приобретены у Corning (США). Исследуемые соединения совместно инкубировали с микросомами печени человека и зондовым субстратом мидазоломом (CYP3A4), при этом концентрацию исследуемых соединений устанавливали на уровне 30 мкМ. Реакцию инициировали добавлением кофермента НАДФН и останавливали добавлением ацетонитрила, растворенного во внутреннем стандарте. После осаждения белков супернатант центрифугировали. Характерный метаболит 1-гидроксимидазолам (CYP3A4) в супернатанте анализировали с помощью ЖХ-МС/МС. Влияние исследуемых соединений на выработку характерных метаболитов в конечном итоге анализировали на основании полученных данных. В качестве положительного контроля использовали селективный ингибитор (верапамил для CYP3A4-М). Полученные результаты демонстрируют, что соединения в примерах осуществления настоящего изобретения не обладают значительным зависимым от времени ингибированием CYP3A4 человека. В частности, значения TDI некоторых примерных соединений показаны ниже.

Таблица 4

Зависимое от времени ингибирование (TDI)
СУРЗА4 человека в концентрации 30 мкМ

Идентификатор соединения	TDI (ЗА4, 30мкМ)
001	-3,68 %
014	+3,85 %

Пример испытания 5. Определение данных о связывании с белками плазмы (РРВ) для соединений, описанных в настоящем изобретении.

Эксперимент направлен на установление данных о связывании с белками плазмы (РРВ) изучаемых соединений, описанных в настоящем изобретении.

В эксперименте на РРВ матрица для конечного введения содержала исследуемое соединение или соединение сравнения с концентрацией 1 мкМ и содержанием ДМСО на уровне 0,2%.

Сбор образцов в начальный момент времени: 25 мкл матрицы, содержащей соединение, добавляли в пустой 96-луночный планшет для сбора и хранили при -20°C.

Подготавливали уравновешенное устройство для диализа. На принимающую сторону планшета для равновесного диализного добавляли по 100 мкл буферного раствора. Затем по 100 мкл матрицы для введения, содержащей соединение или соединение сравнения, добавляли на сторону введения планшета для равновесного диализа. Подготовленный планшет для равновесного диализа помещали в шейкер с температурой 37°C и встряхивали в течение 5 ч при 60 об/мин.

Образец готовили по завершении культивирования (5 ч).

Приготовление образца на принимающей стороне: 25 мкл образца с принимающей стороны отбирали и помещали в 96-луночный планшет для сбора образцов и добавляли по 25 мкл соответствующей матрицы (холостой образец плазмы) для смешивания; добавляли по 200 мкл АСН, содержащего внутренний стандарт, встряхивали в течение 10 мин при 600 об/мин и центрифугировали при 5594 г в течение 15 мин.

Приготовление образца на стороне введения: 25 мкл образца, содержащего исследуемое соединение и соединение сравнения со стороны введения, отбирали и добавляли по 25 мкл холостого образца буферного раствора для смешивания; добавляли по 200 мкл АСН, содержащего внутренний стандарт, встряхивали в течение 10 мин при 600 об/мин и центрифугировали при 5594 г в течение 15 мин.

Подготовка образца в начальный момент времени: образец, содержащий исследуемое соединение и эталонное соединение, повторно расплавляли при 37°C в начальный момент времени и затем смешивали с соответствующей матрицей (холостой буферный раствор) в том же объеме (25 мкл); добавляли по 200 мкл АСН, содержащего внутренний стандарт, встряхивали в течение 10 мин при 600 об/мин и центрифугировали при 5594 г в течение 15 мин.

После центрифугирования всех образцов отбирали по 50 мкл супернатанта и добавляли в 50 мкл сверхчистой воды для перемешивания, а образцы направляли на анализ методом жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией.

Результаты показывают, что соединения согласно примерам осуществления настоящего изобретения имеют умеренную скорость связывания белка с плазмой человека, крыс и мышей и имеют небольшую разницу в связывании между видами, которая даже может быть значительно меньше, чем у контрольного соединения А. В частности, данные о связывании с белками плазмы (РРВ) некоторых примерных соединений показаны ниже.

Таблица 5

Данные о связывании с белками плазмы (РРВ)

Вид Идентификатор соединения	Связывание с белками плазмы (% связывание)		
	Человек	Мыши	Крысы
А	99,02	85,18	86,99
013	80,90	76,20	81,70
001	81,00	79,90	84,70
163	81,66	83,78	80,59
016	86,90	87,70	90,10

Пример испытания 6.

Ингибирование высвобождения цитокина ФНО-альфа у самок мышей линии Balb/c с ЛПС-индуцированным ответом соединениями, описанными в настоящем документе.

Процедуры.

Самки мышей линии Balb/c были рандомизированы в группы, каждая из которых содержала по 4 мыши, включая группу контроля + носителя, группу модели + носителя, группу модели + сравнения и группы модели + соединения. Контрольные животные получали внутривенную инъекцию физиологического раствора (10 мл/кг), а модельные животные стимуляцию ЛПС (№ по каталогу Sigma L2630, внутривенно, 10 мл/кг, 0,2 мг/кг). К изучаемым соединениям последовательно добавляли ДМСО, солютол и 10 мМ PBS для получения раствора или суспензии нужной концентрации для введения. Для приготовления носителя смешивали ДМСО, солютол и 10 мМ PBS в объемном соотношении 5:15:80. Животные получали препарат через пероральный зонд (10 мл/кг) за 16 часов до стимуляции ЛПС (или физиологическим раствором) в определенных дозах и подвергались эвтаназии с помощью CO₂ через 1,5 ч после стимуляции для забора кардиальной крови. В цельную кровь не добавляли антикоагулянт, инкубировали на жидком льду в течение 1,5 ч и центрифугировали при 2000 × g при 4°C в течение 10 мин для отделения сыворотки. Сыворотку замораживали при -80°C для анализа на ФНО-альфа. Количественное определение ФНО-альфа проводили с помощью набора для ИФА ФНО-альфа в соответствии с инструкциями производителя. Показания поглощения A450 получали с помощью считывающего устройства для микропланшетов SpectraMax i3x (Molecular Device) для расчета ингибирования соединений, а IC₅₀ определяли с помощью программного обеспечения GraphPad Prism 7.0.

Результаты испытания показывают, что соединения в примерах согласно настоящему изобретению оказывают значительное ингибирующее действие на высвобождение цитокина ФНО-альфа у самок мышей линии Balb/c, индуцированных ЛПС, при этом степень ингибирования составляет более 50%, предпочтительно более 70%. В частности, некоторые примерные значения степени ингибирования соединения показаны ниже.

Таблица 6
Степень ингибирования высвобождения цитокина ФНО-альфа у самок мышей линии Balb/c, индуцированных ЛПС

Идентификатор соединения	Степень ингибирования (%) ФНО-α
013	76,29
001	74,00
163	71,56
016	78,71

Пример испытания 7. Определение ингибирования пяти основных подтипов фермента CYP450 в микросомах печени человека соединениями, описанными в настоящем изобретении.

Это исследование было направлено на изучение ингибирующего действия исследуемых соединений на 5 основных ферментов суперсемейства P450 человека, CYP1A2, 2C9, 2C19, 2D6 и 3A4-M. Смешанные микросомы печени человека, использованные в этом анализе, были приобретены у Corning (США). Исследуемое соединение (соединение 14) совместно инкубировали в 7 концентрациях с микросомами печени человека и пятью зондовыми субстратами (фенацетин для CYP1a2, диклофенак для CYP2C9, мефенитоин для CYP2C19, декстрометорфан для CYP2D6, мидазолам для CYP3 A4-M, смесь). См. таблицу ниже. Реакцию инициировали добавлением кофермента НАДФН и останавливали добавлением внутреннего стандарта, содержащего ацетонитрил. После осаждения белков супернатант центрифугировали. Характерные метаболиты в супернатанте (ацетаминофен для CYP1A2, 4-гидроксидиклофенак для CYP2C9, 4-гидроксимефенитоин для CYP2C19, декстрорфан для CYP2D6, 1-гидроксимидазолам для CYP3A4-M) анализировали методом ЖХ-МС/МС. Влияние исследуемых соединений на выработку характерных метаболитов в конечном итоге анализировали на основании полученных данных. В качестве положительного контроля можно применять селективный ингибитор (кетоконазол для CYP3A4-M). Все образцы анализировали в двух повторностях.

Результаты испытаний показывают, что соединения согласно примерам осуществления настоящего изобретения не оказывают явного ингибирующего действия на 5 подтипов CYP человека, и ингибирующий эффект на 3 подтипа 1A2, 2C9 и 2C19, очевидно, меньше, чем у контрольного соединения А. В частности, некоторые примерные значения степени ингибирования соединения показаны ниже.

Таблица 7

Ингибирование соединений пяти основных подтипов ферментов CYP450 в микросомах печени человека CYP1A2, 2C9, 2C19, 2D6 и 3A4 (IC₅₀, нМ)

Идентификатор соединения \ Подтип	1A2	2C9	2C19	2D6	3A4
	A	2,91	19,06	23,48	> 30
001	> 30	> 30	> 30	> 30	> 30
163	> 30	> 30	> 30	> 30	> 30

Пример испытания 8. ФК соединений, описанных в настоящем изобретении, у крыс Крысы, использованные в рамках фармакокинетического исследования в предпочтительном примере осуществления настоящего изобретения, представляли собой самцов крыс линии SD статуса SPF (B&K Universal, Шанхай).

Способ применения: однократная доза перорально через желудочный зонд или внутривенно.

Точки отбора проб: 0,083 ч, 0,25 ч, 0,5 ч, 1 ч, 2 ч, 4 ч, 6 ч, 8 ч и 24 ч после применения.

Подготовка проб: отбирали по 0,2 мл венозной крови и перед центрифугированием оставляли на льду для отделения плазмы (условия центрифугирования: 8000 об/мин, 6 мин, 4°C). Отделенную плазму хранили при -80°C перед анализом.

Рабочий раствор внутреннего стандарта.

В мерную колбу добавляли соответствующее количество исходного раствора внутреннего стандарта толбутамида с концентрацией 645000 нг/мл и доводили до метки метанолом. Раствор хорошо перемешивали и получали рабочий раствор внутреннего стандарта с концентрацией 50 нг/мл.

Предварительная подготовка проб: по 50 мкл плазмы добавляли в центрифужную пробирку вместимостью 1,5 мл и вносили по 250 мкл раствора внутреннего стандарта (такой же объем метанола, что и для холостого контрольного образца). Раствор хорошо перемешивали с помощью вихревой мешалки и центрифугировали в течение 5 мин при 14000 об/мин. По 200 мкл супернатанта переносили в 96-луночный планшет для подачи образца и загружали в систему ЖХ-МС/МС.

Условия ЖХ.

Колонка: ACQUITY UPLC BEH C18 1,7 мкм (50 мм × 2,10 мм).

Подвижная фаза: А: 0,1% водный раствор муравьиной кислоты; В: 0,1% раствор муравьиной кислоты в ацетонитриле.

Скорость потока: 0,5 мл/мин.

Система обработки данных представляла собой программное обеспечение Analyst (Applied Biosystems, США, версия 1.5.5).

Результаты показывают, что соединения в примерах согласно настоящему изобретению обладают хорошими фармакокинетическими характеристиками у мышей, демонстрируют очень хорошую экспозицию и время удерживания у животных и имеют подходящий период полувыведения и хорошую абсорбцию лекарственного средства. В частности, фармакокинетические данные некоторых примерных соединений показаны ниже.

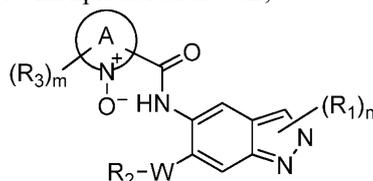
Данные фармакокинетического исследования при однократном пероральном применении через зонд различных соединений мышам линии ICR

Номер соединения	ФК при пероральном применении через желудочный зонд							
	Доза	Состав	Время до максимальной концентрации	Максимальная концентрация	Площадь под фармакокинетической кривой	Площадь под фармакокинетической кривой	Период полувыведения	Среднее время удерживания
	Доза (мг/кг)	Состав	t _{max} (ч)	C _{max} (нг/мл)	AUC _{0-t} (нг/мл*ч)	AUC _{0-∞} (нг/мл*ч)	t _{1/2} (ч)	MRT (ч)
163	40	15 % солюта HS15 + 85 % PBS	4	25875	206683	206702	3,62	6,75
001	40	15 % солюта HS15 + 85 % PBS	4	24153	293784	375482	11,47	15,31
013	40	15 % солюта HS15 + 85 % PBS	1	18924	160198	182133	7,23	10,41

Описание примеров настоящего изобретения приводится выше. Однако настоящее изобретение не ограничивается приведенными выше примерами. Любая модификация, эквивалент, усовершенствование и тому подобное, внесенные без отступления от сущности и принципа настоящего изобретения, попадают в объем защиты настоящего изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы I или его стереоизомер, рацемат, таутомер, соединение с изотопной меткой, сложный эфир или фармацевтически приемлемая соль,



Формула I

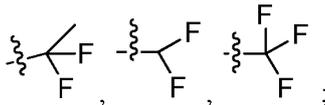
где

кольцо A представляет собой 5-14-членный гетероарил, содержащий один атом N;

R₁ независимо выбран из следующих групп, необязательно замещенных одним, двумя или тремя R: (C₁-C₁₂)алифатический гидрокарбил, C₃₋₁₂ циклоалкил;

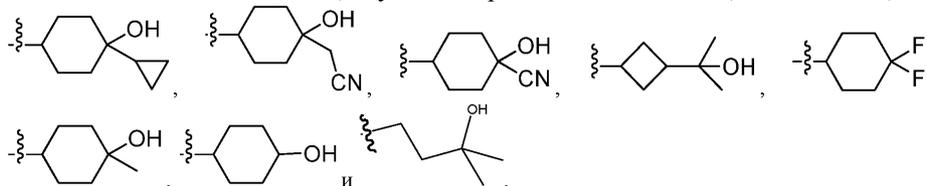
R₂ независимо выбран из следующих групп, необязательно замещенных одним, двумя или тремя R:

N,N-диметиламиноэтил, N,N-диэтиламиноэтил, amino, N,N-диметиламино, N,N-диэтиламино,



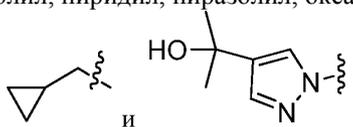
и "⋈" обозначает место присоединения группы.

5. Соединение формулы I или его стереоизомер, рацемат, таутомер, изотопно меченое соединение, сложный эфир или его фармацевтически приемлемая соль по п.1 или 2, где R₁ выбран из следующих групп, необязательно замещенных одним, двумя или тремя R: циклопентил, циклогексил,



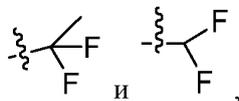
и "⋈" обозначает место присоединения группы.

6. Соединение формулы I или его стереоизомер, рацемат, таутомер, изотопно меченое соединение, сложный эфир или его фармацевтически приемлемая соль по п.1 или 2, где R₂ выбран из следующих групп, необязательно замещенных одним, двумя или тремя R: метил, этил, изопропил, циклопропил, N,N-диметиламино, тетрагидропирролил, пиридил, пиразолил, оксазолил,



и "⋈" обозначает место присоединения группы.

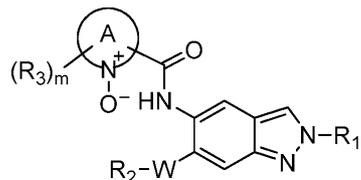
7. Соединение формулы I или его стереоизомер, рацемат, таутомер, изотопно меченое соединение, сложный эфир или его фармацевтически приемлемая соль по п.1 или 2, где R₃ выбран из следующих групп, необязательно замещенных одним, двумя или тремя R: метил, изопропил, циклопропил, метокси,



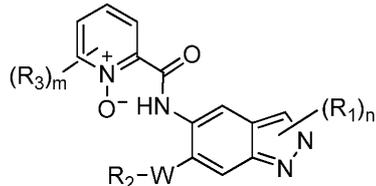
амино, N,N-диметиламино,

"⋈" обозначает место присоединения группы.

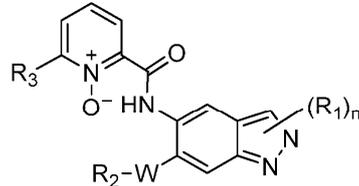
8. Соединение формулы I или его стереоизомер, рацемат, таутомер, изотопно меченое соединение, сложный эфир или фармацевтически приемлемая соль по любому из пп.1-7, где соединение формулы I выбрано из следующих структур формулы Ia, формулы Ib, формулы Ic, формулы Id и формулы Ie:



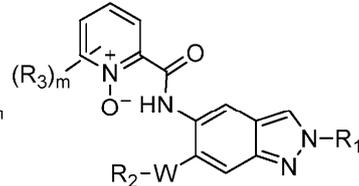
формула Ia



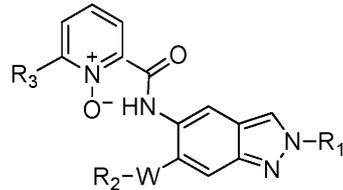
формула Ib



формула Ic



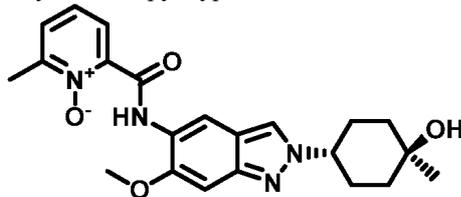
формула Id



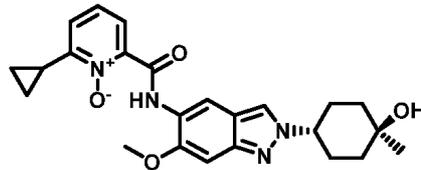
формула Ie

в формулах Ia, Ib, Ic, Id и Ie R_1 , R_2 , R_3 , m , n и W являются такими, как определено в формуле I.

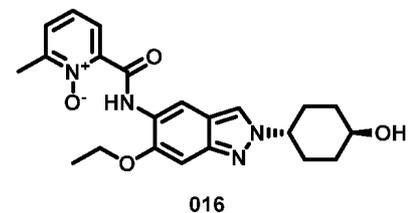
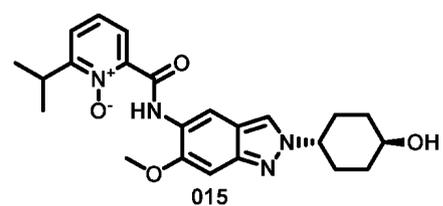
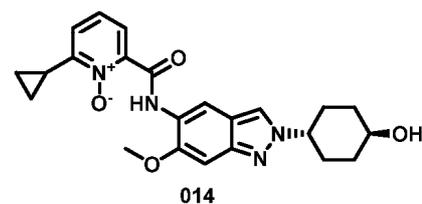
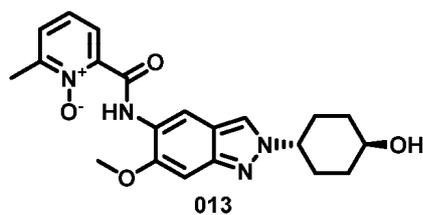
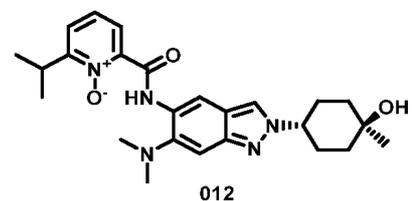
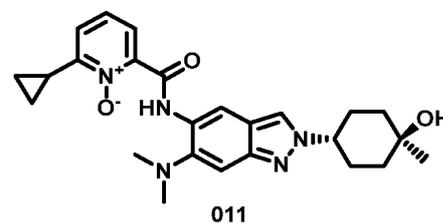
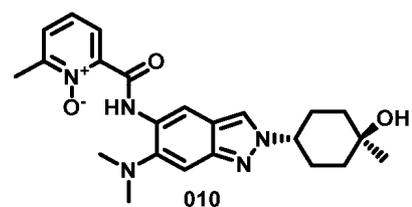
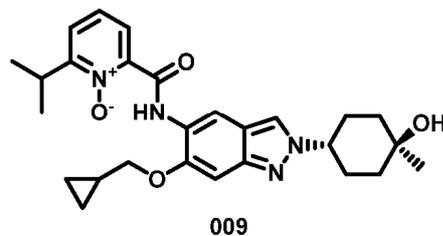
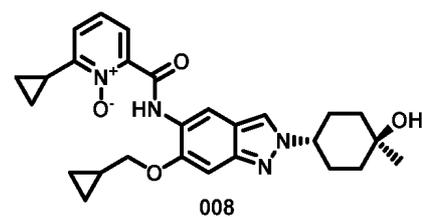
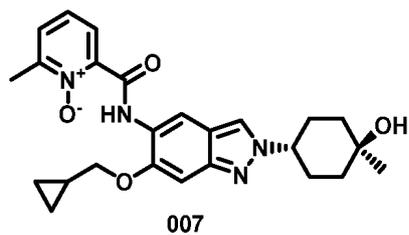
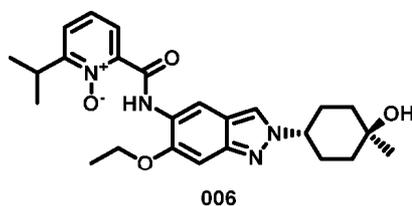
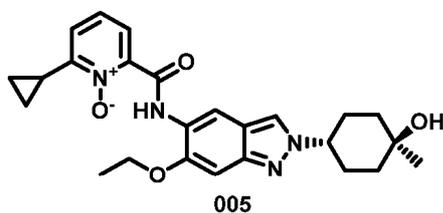
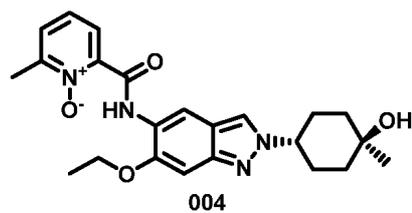
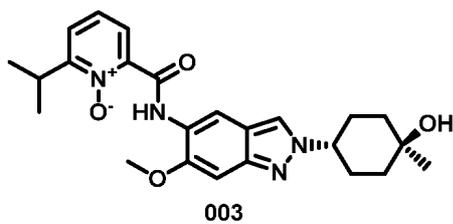
9. Соединение формулы I или его стереоизомер, рацемат, таутомер, изотопно меченое соединение, сложный эфир или фармацевтически приемлемая соль по любому из пп.1-8, где соединение формулы I выбрано из следующих структур:

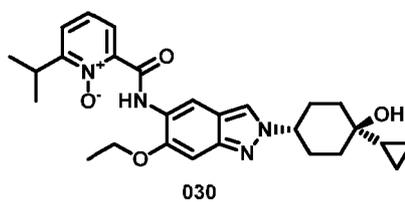
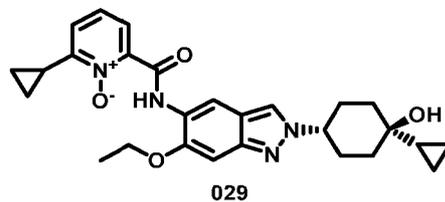
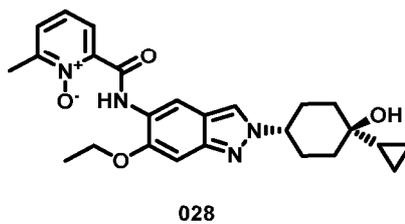
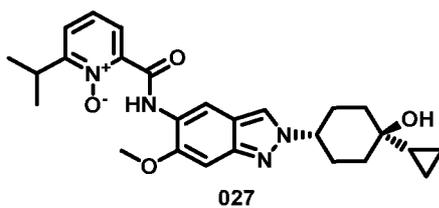
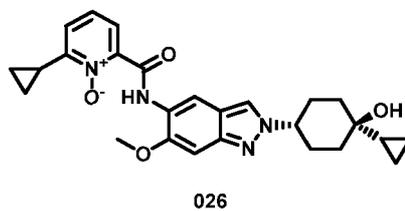
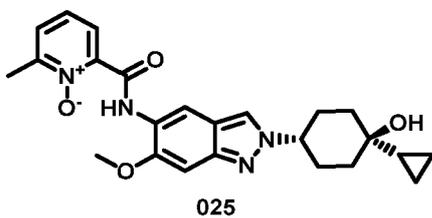
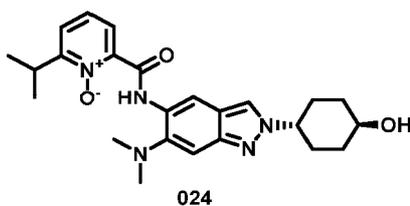
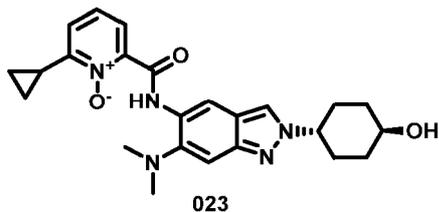
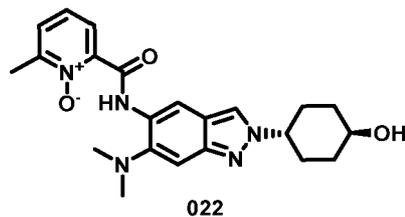
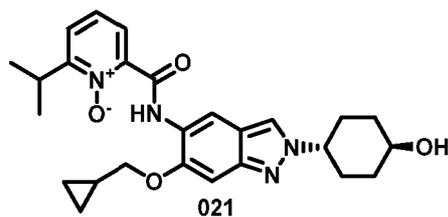
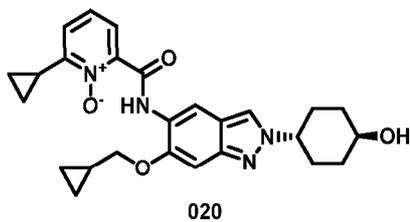
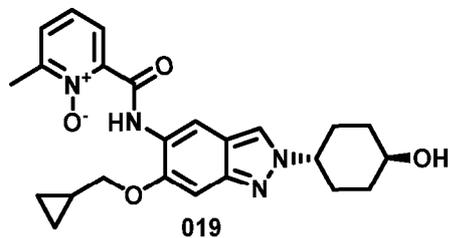
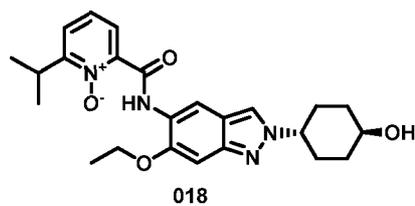
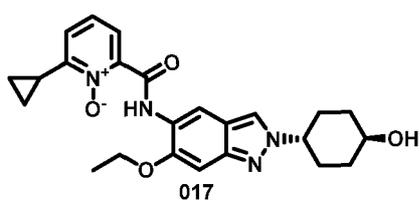


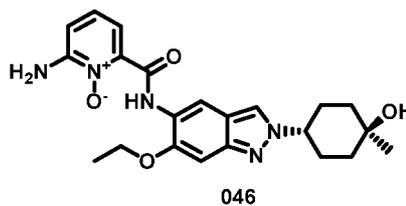
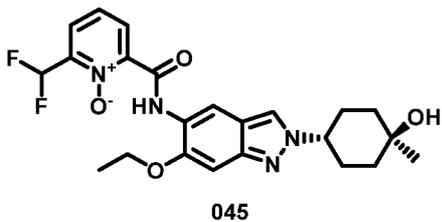
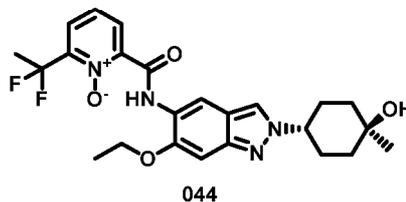
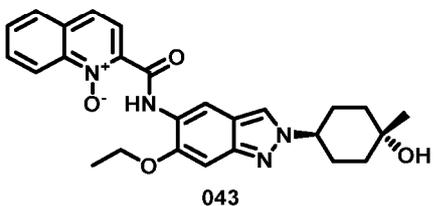
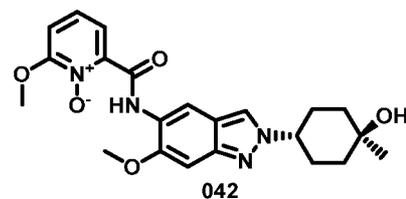
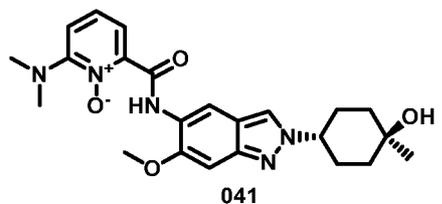
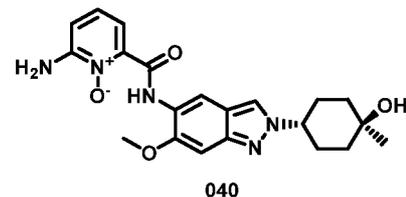
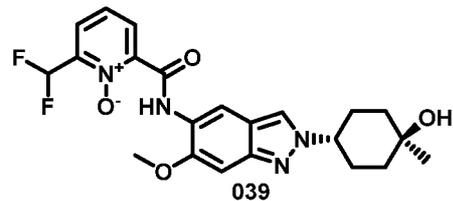
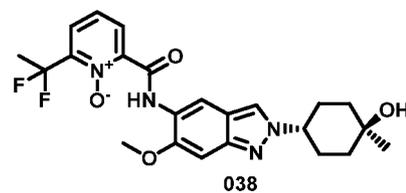
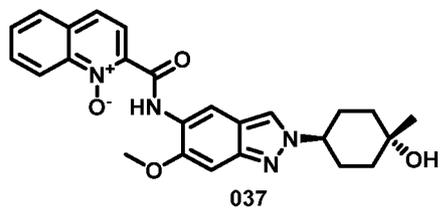
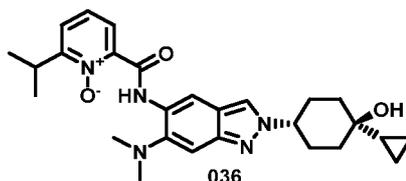
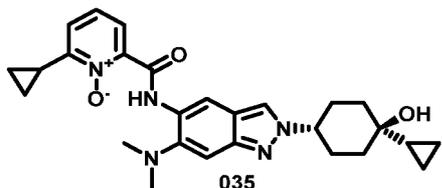
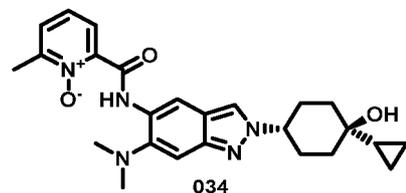
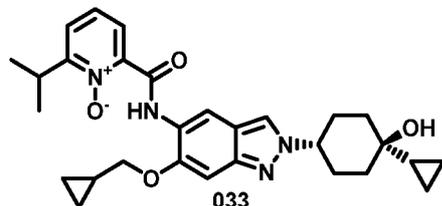
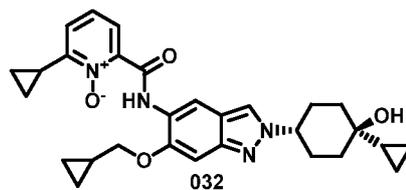
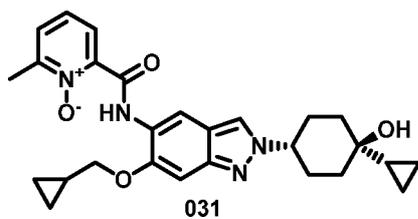
001

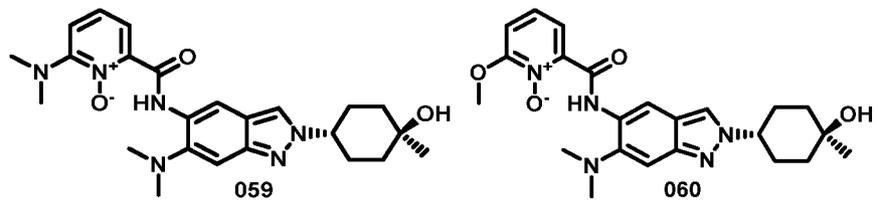
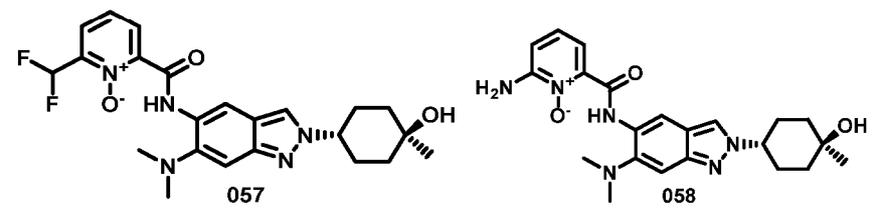
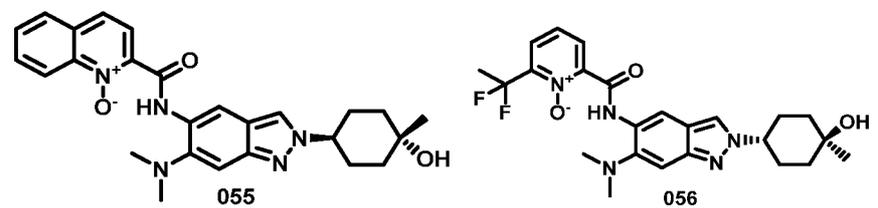
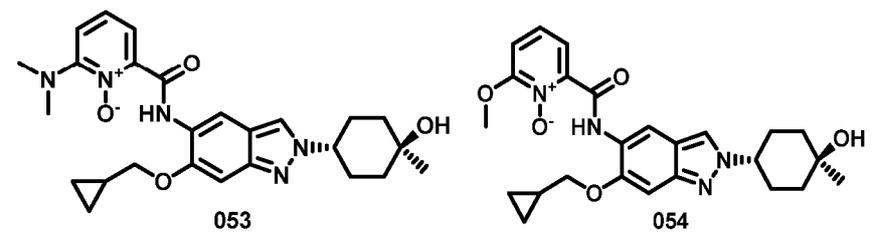
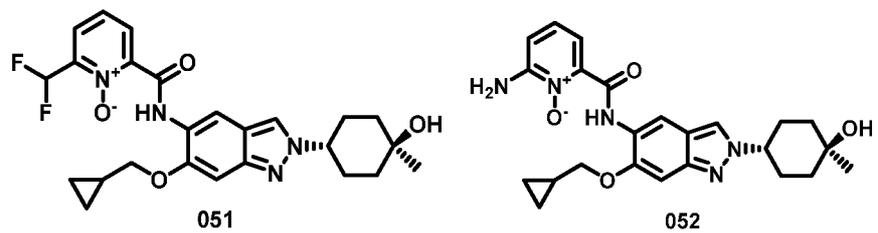
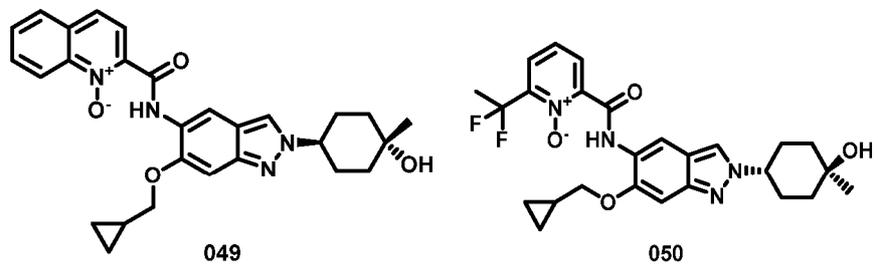
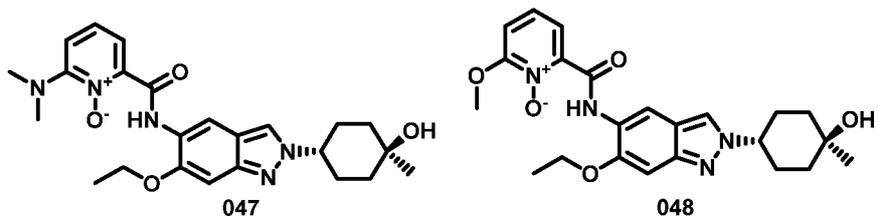


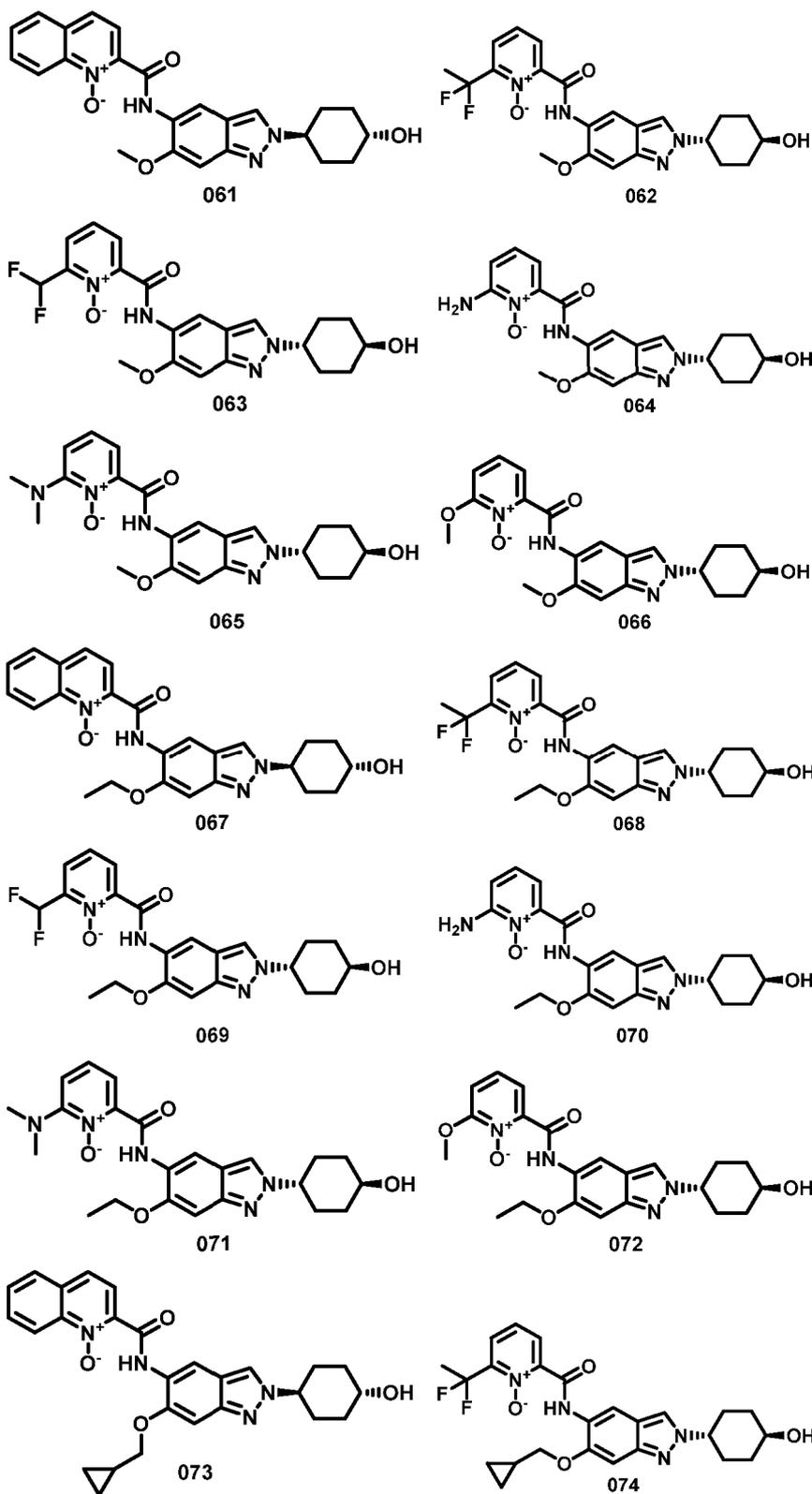
002

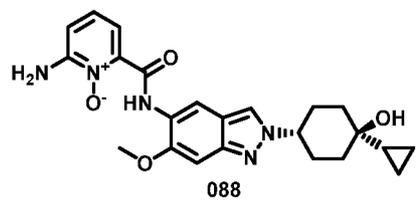
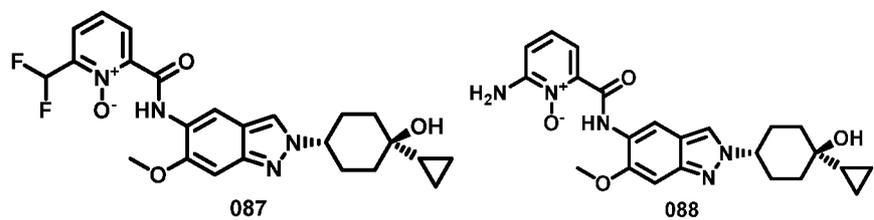
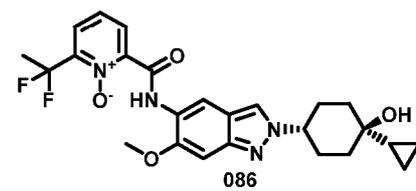
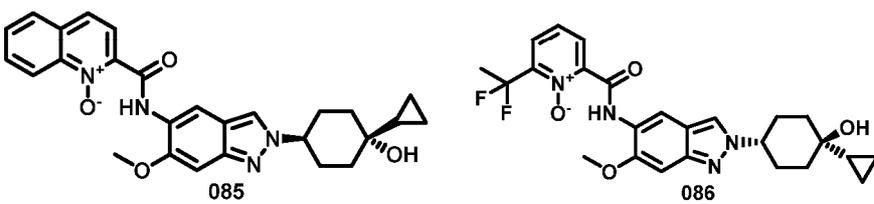
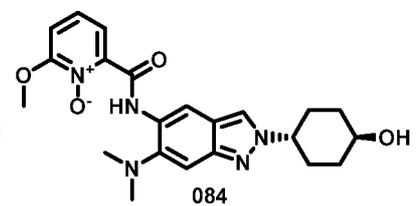
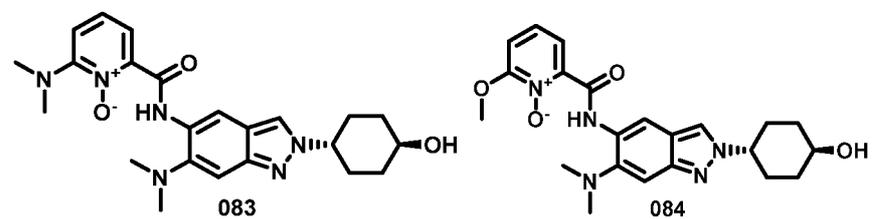
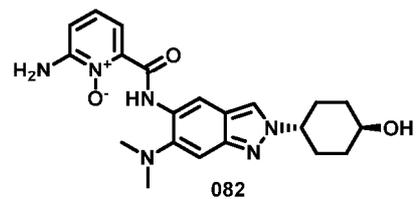
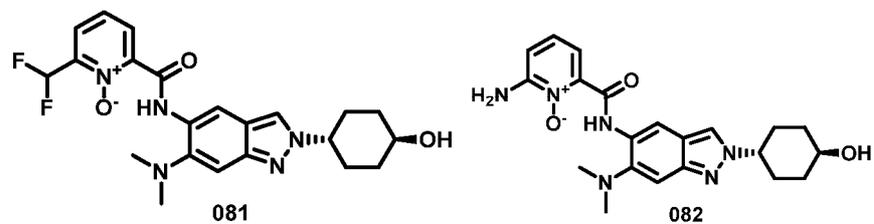
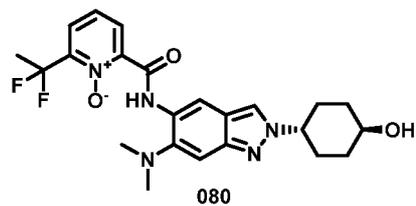
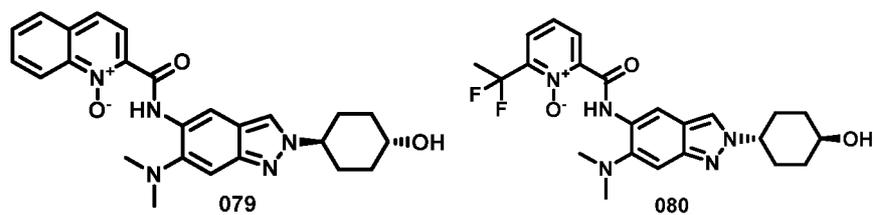
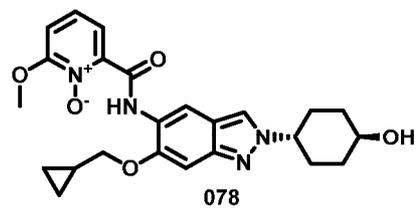
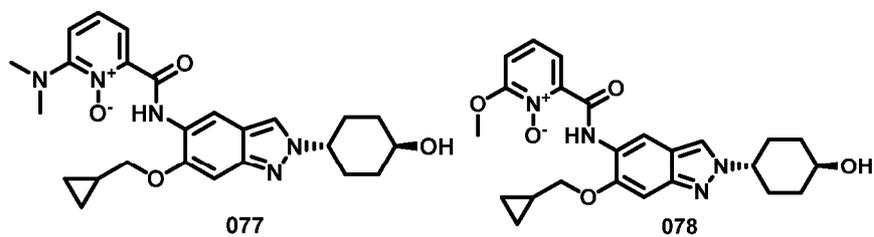
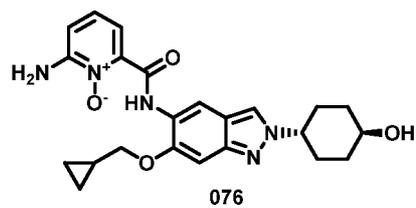
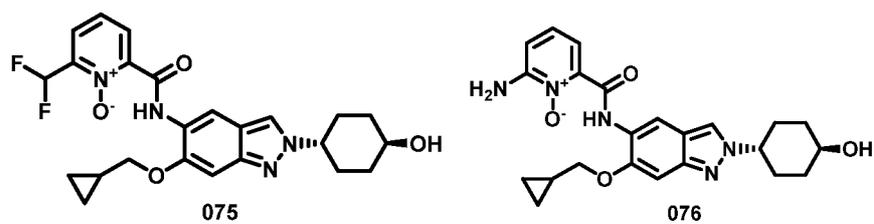


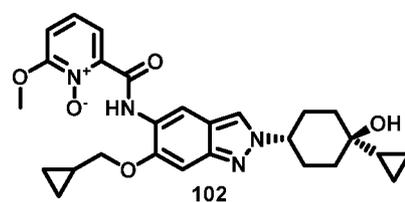
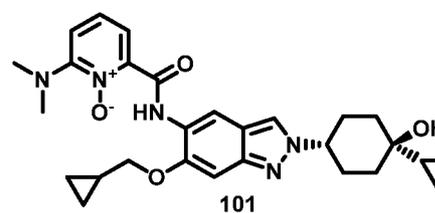
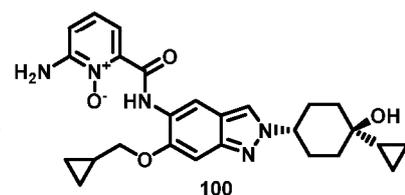
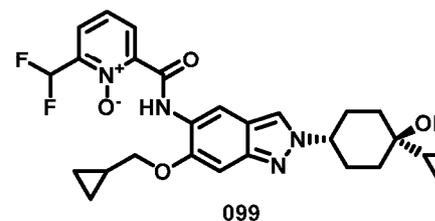
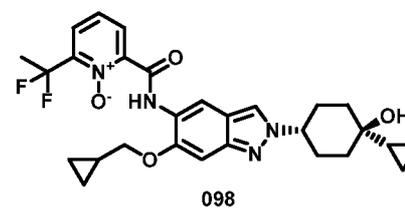
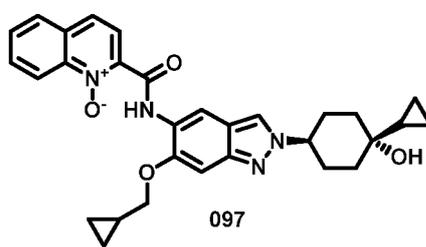
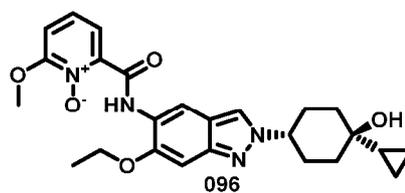
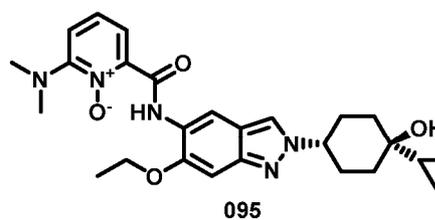
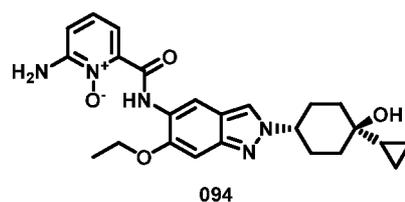
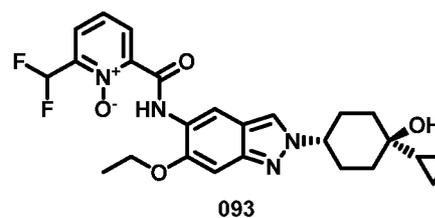
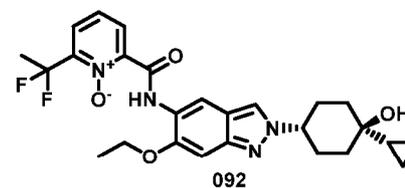
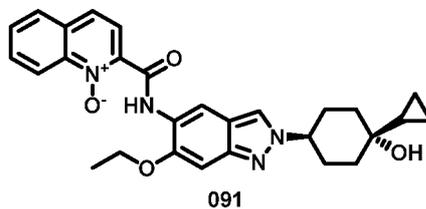
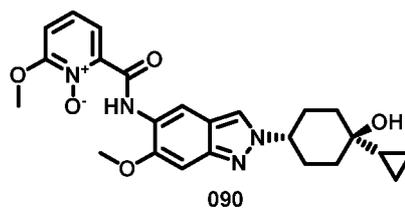
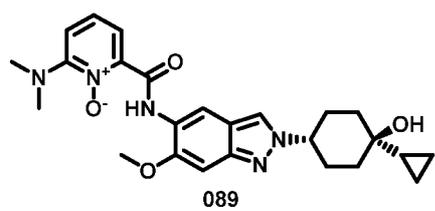


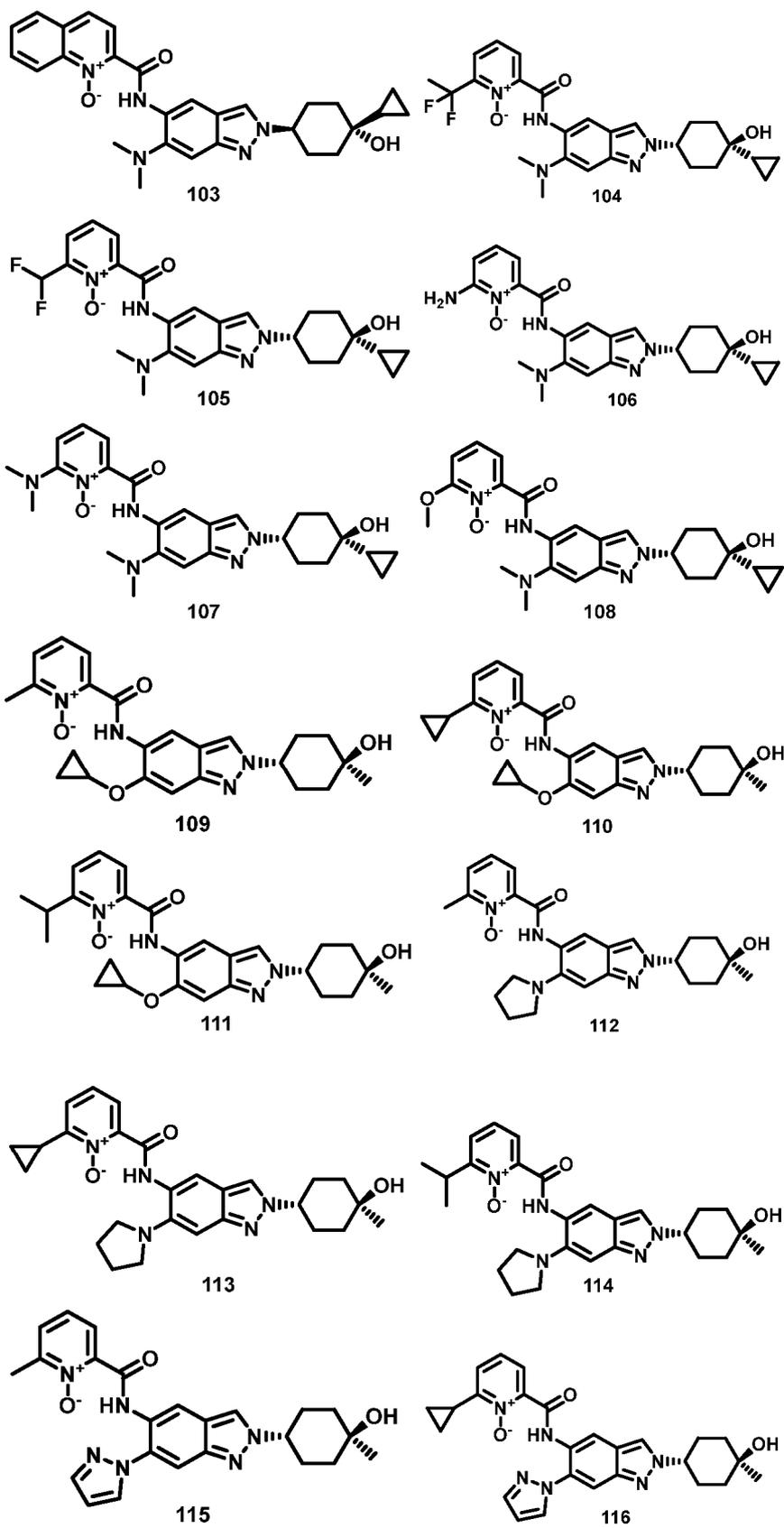


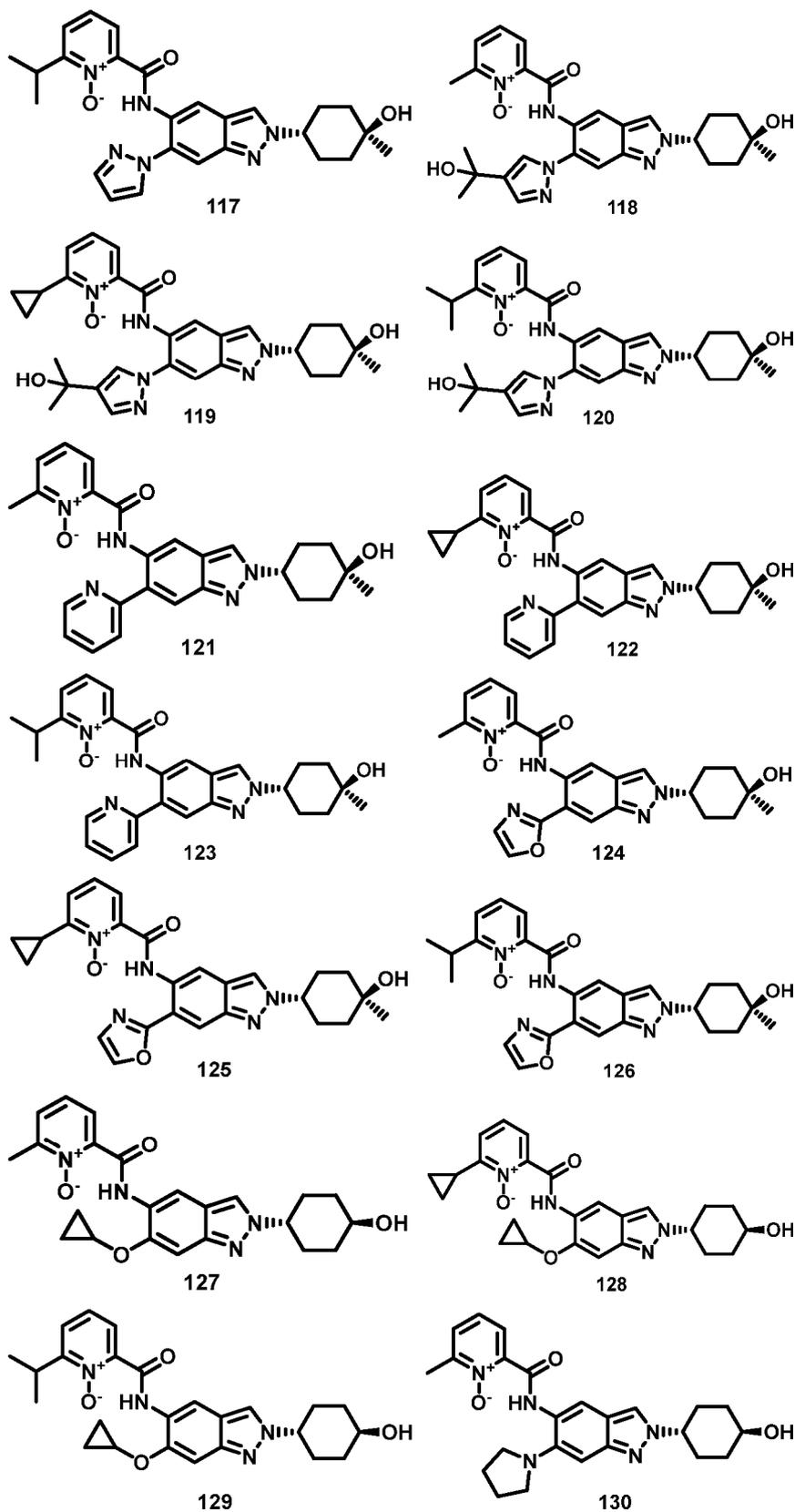


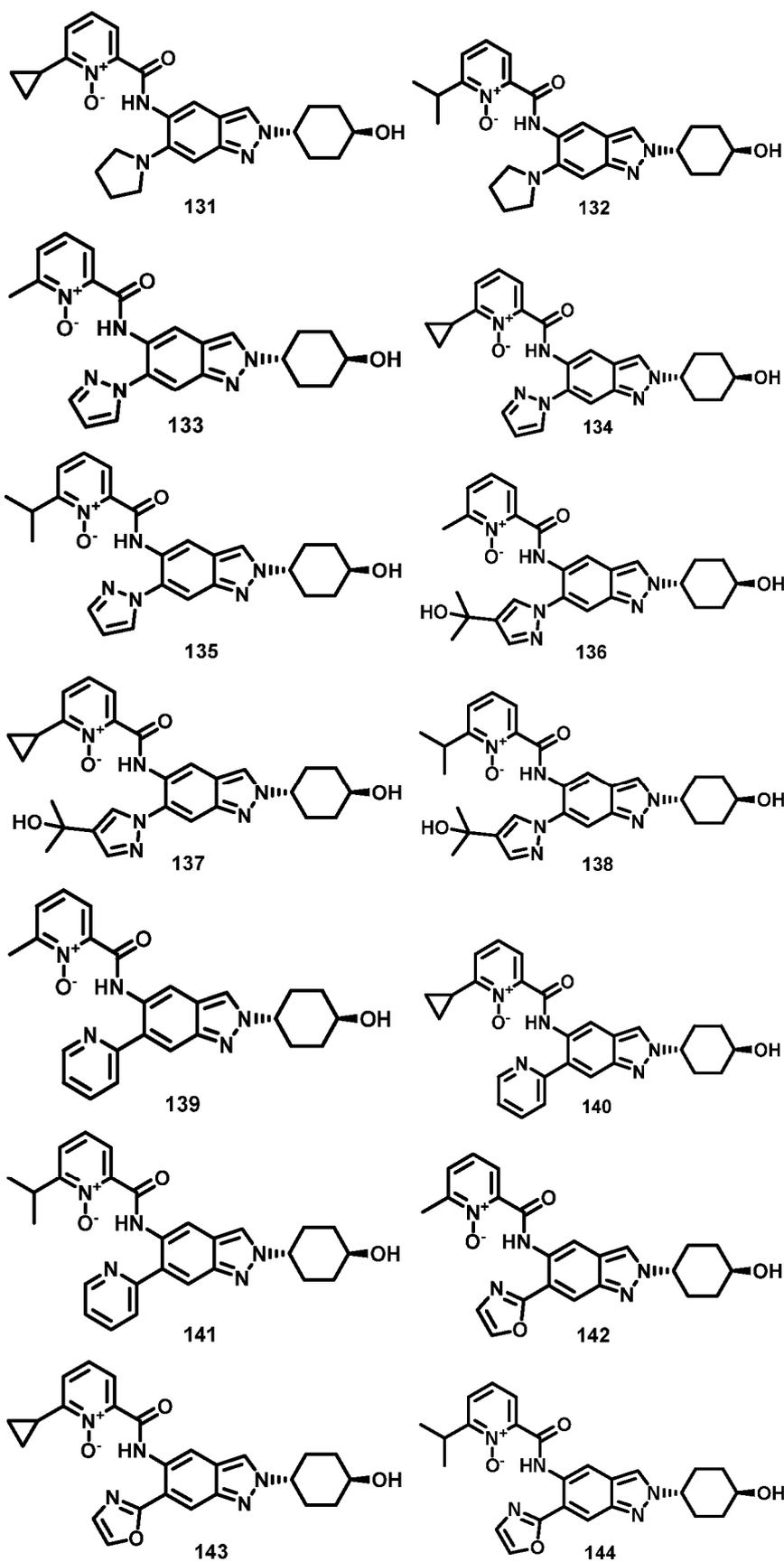


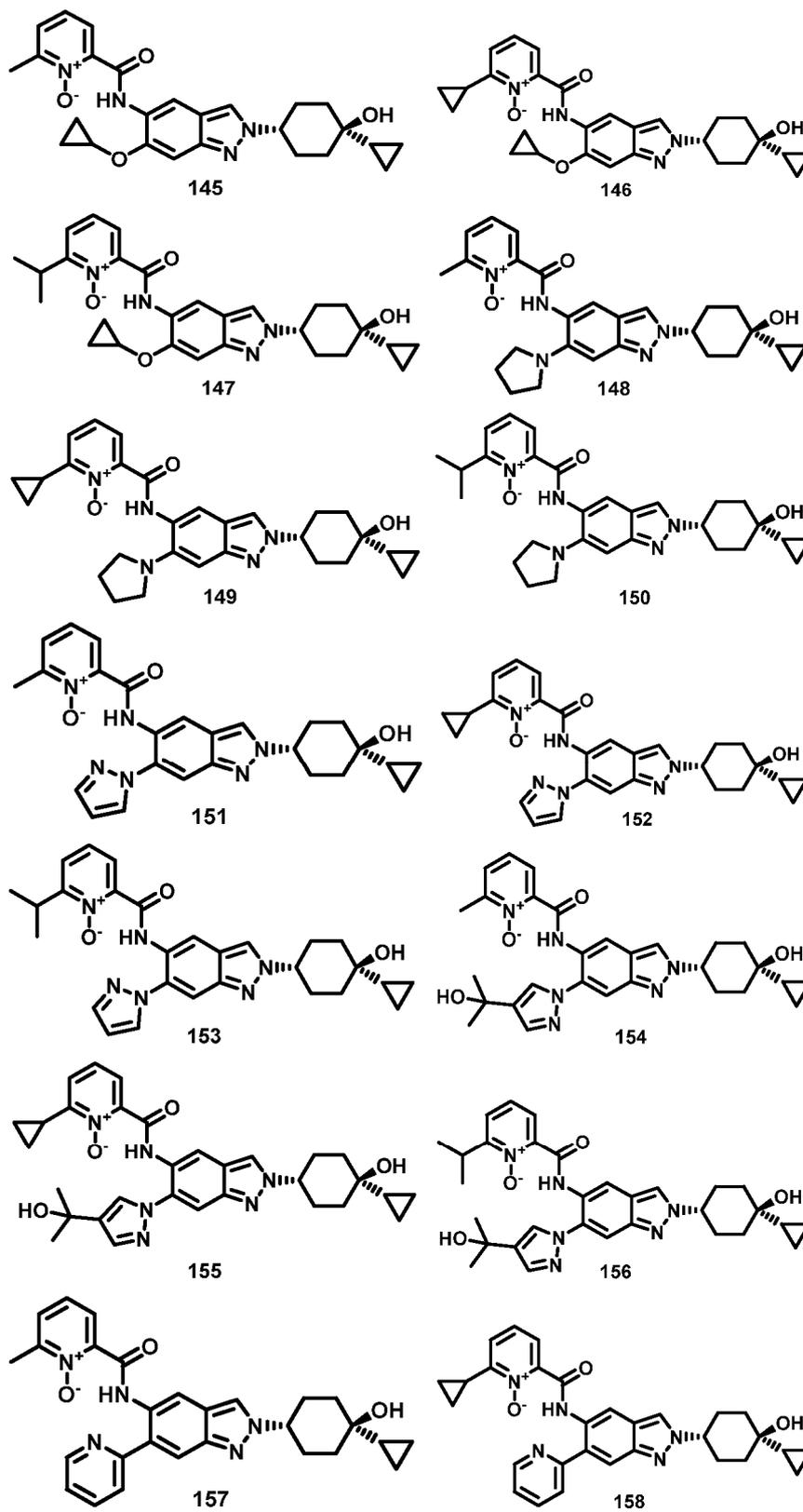


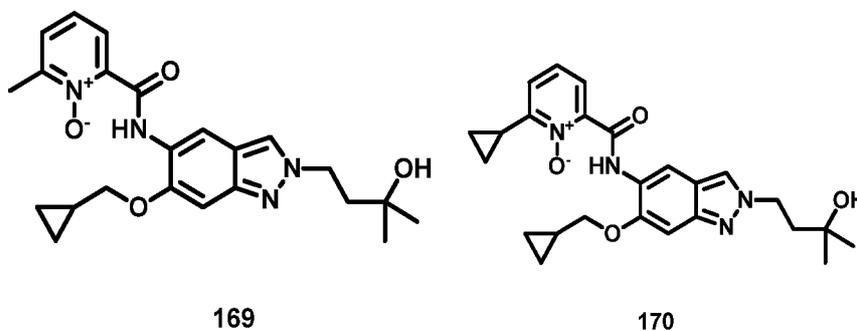
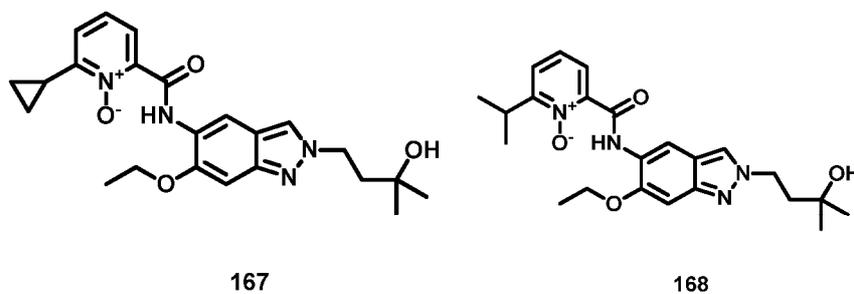
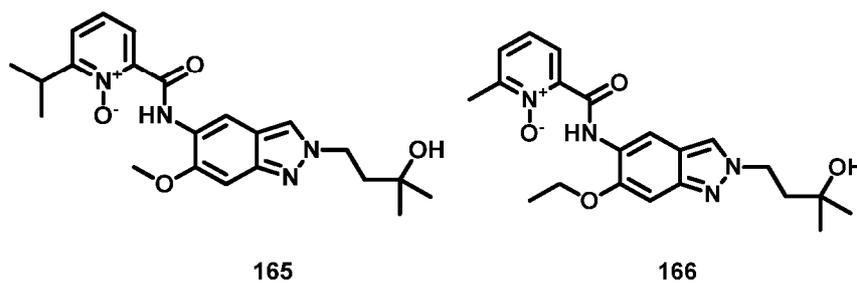
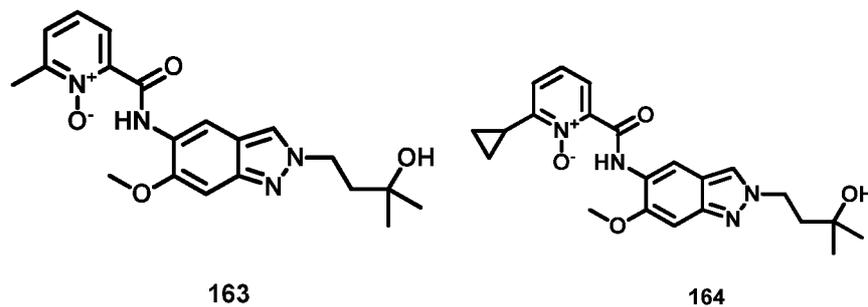
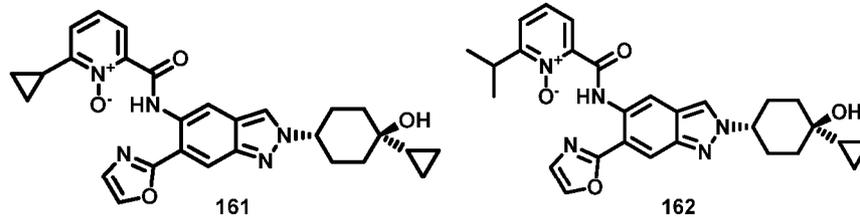
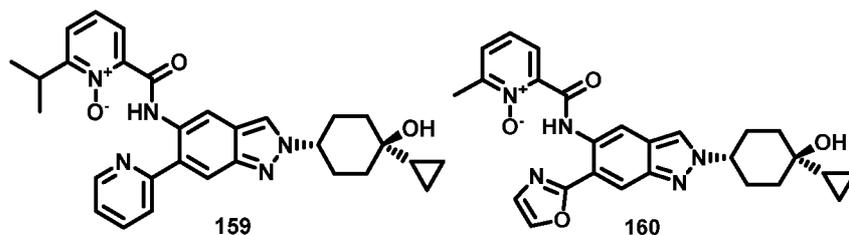


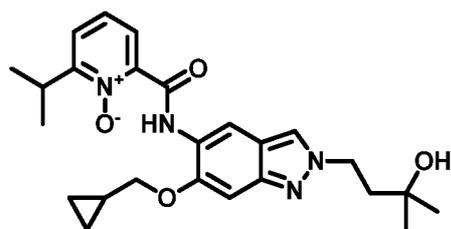




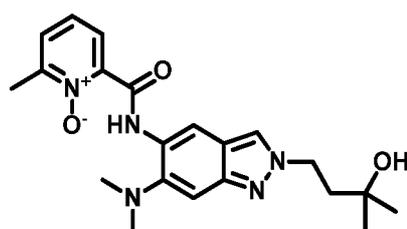




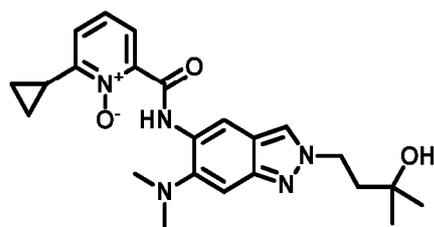




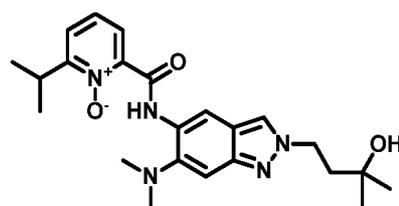
171



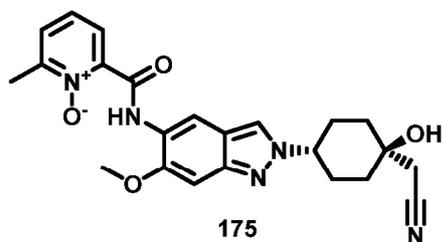
172



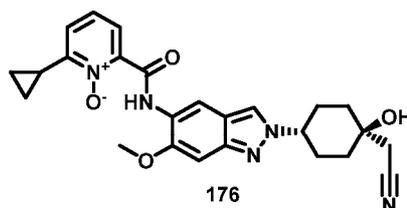
173



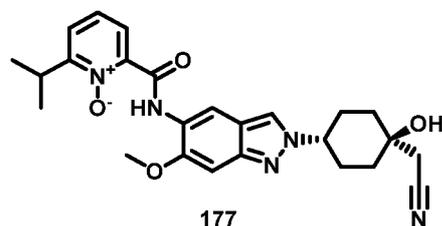
174



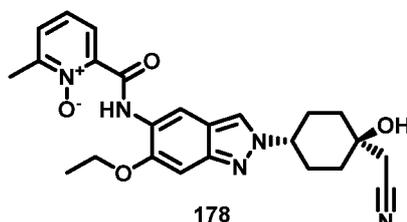
175



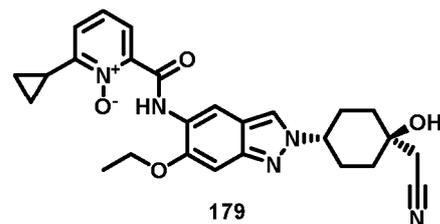
176



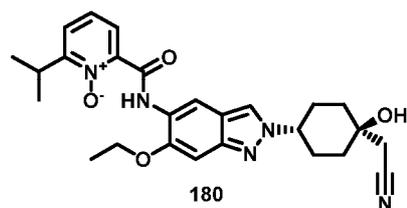
177



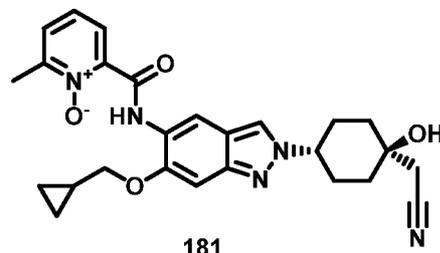
178



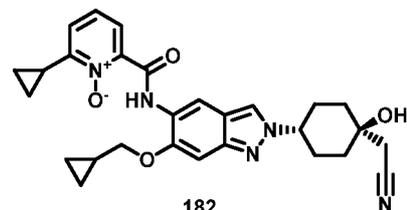
179



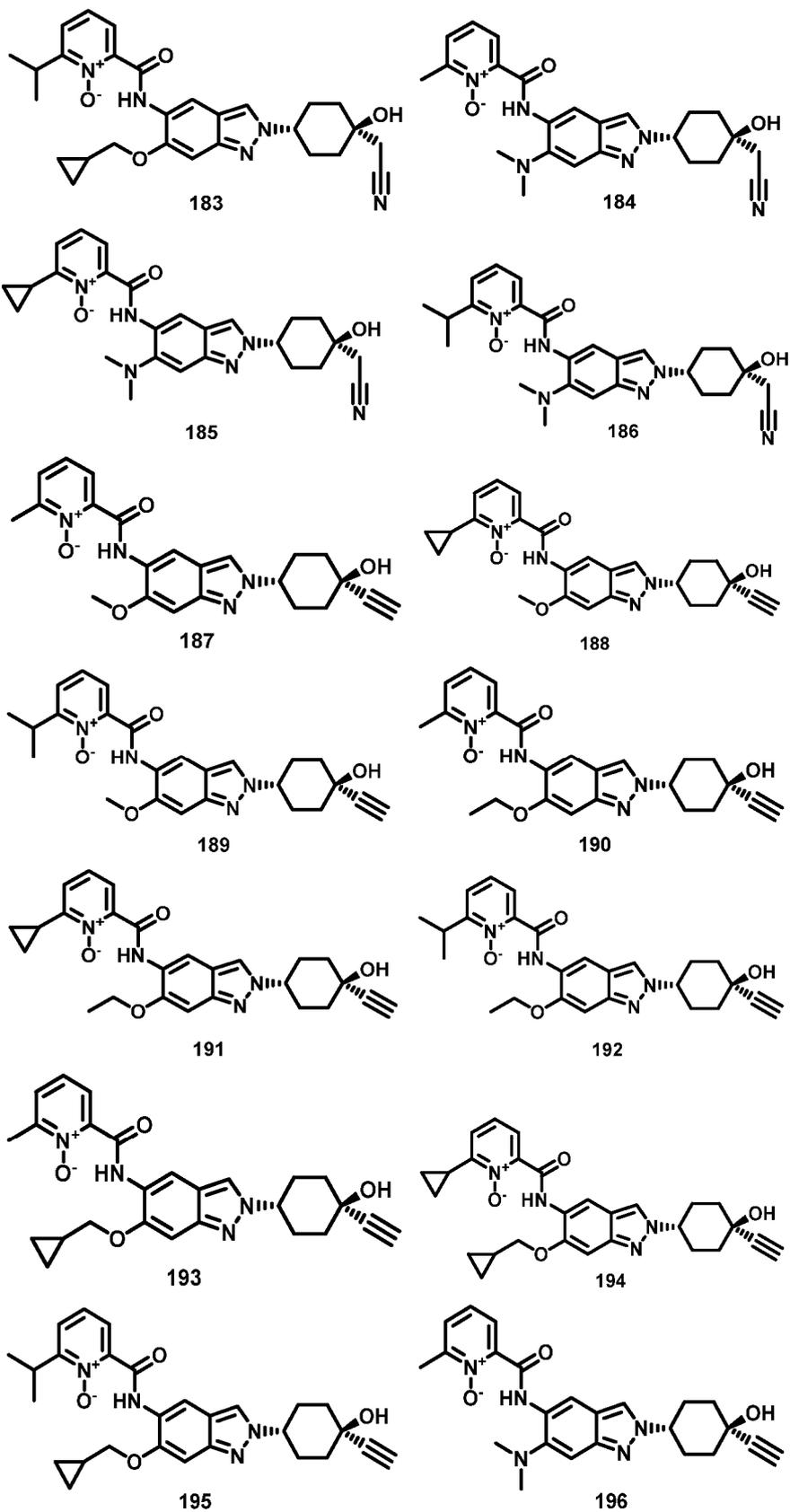
180

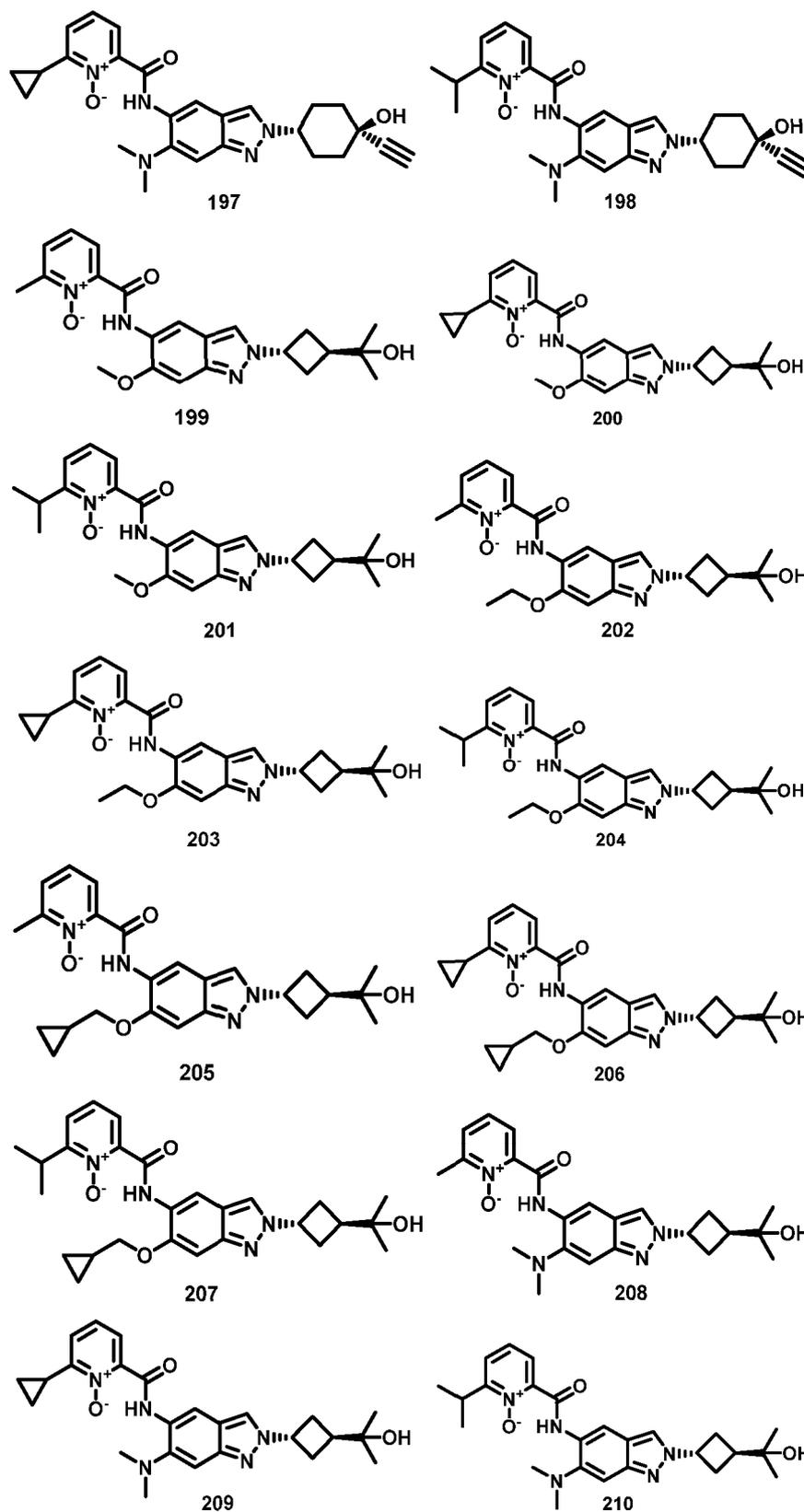


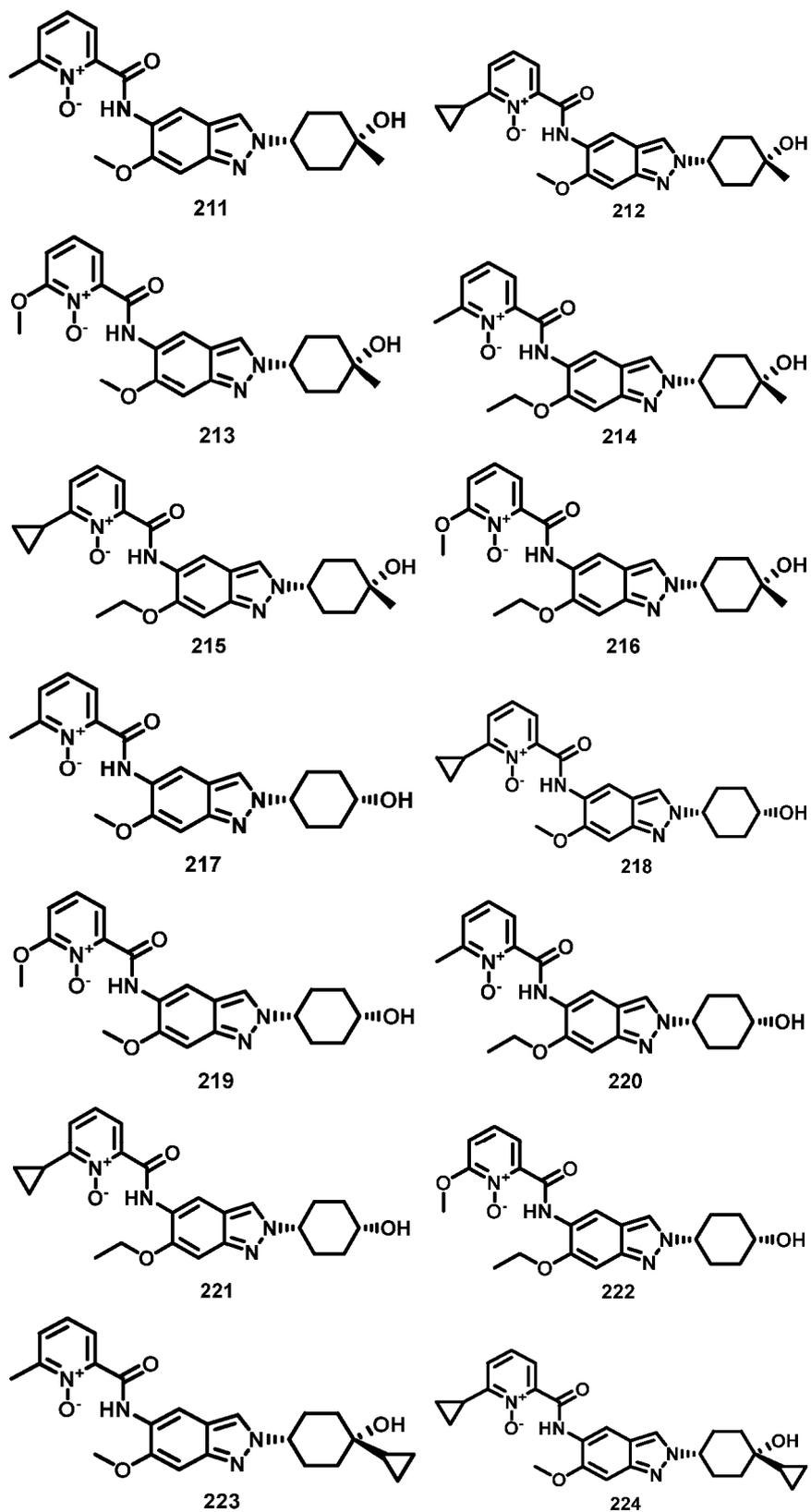
181

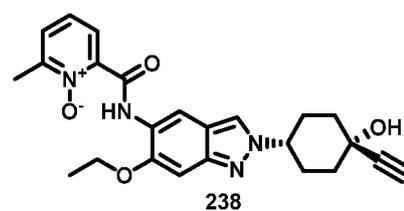
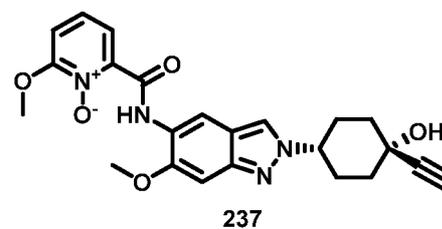
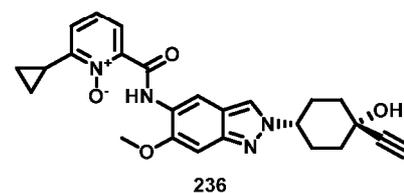
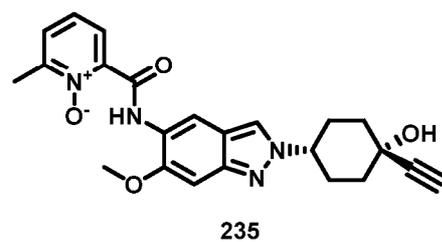
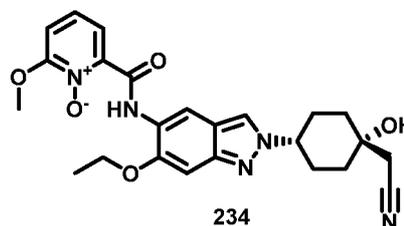
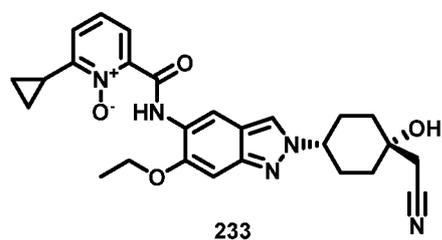
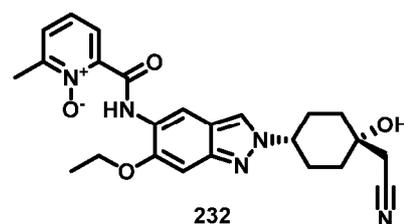
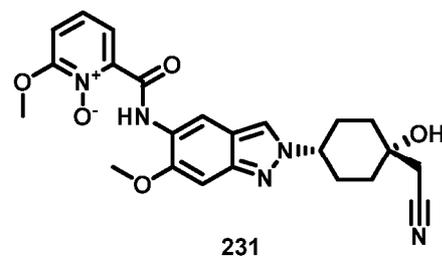
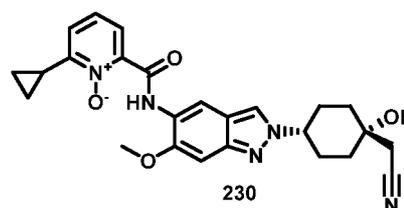
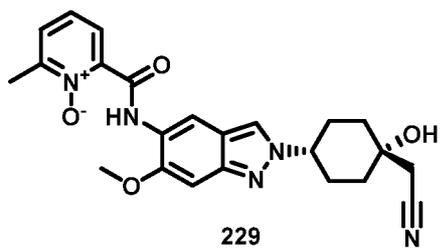
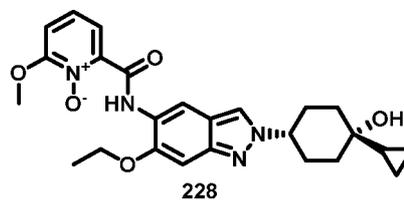
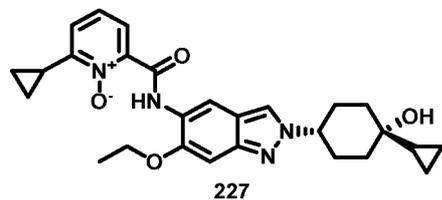
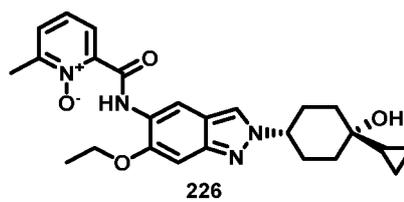
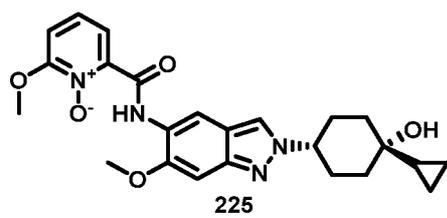


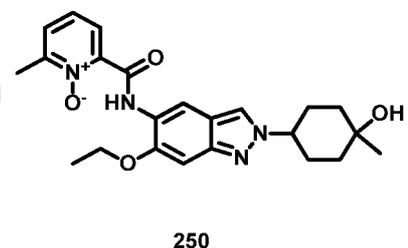
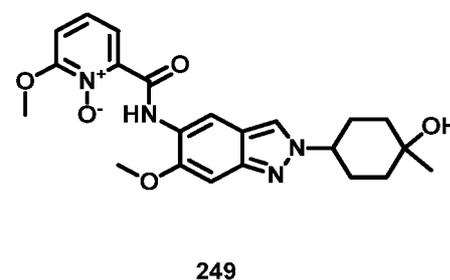
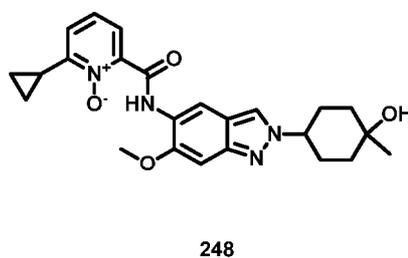
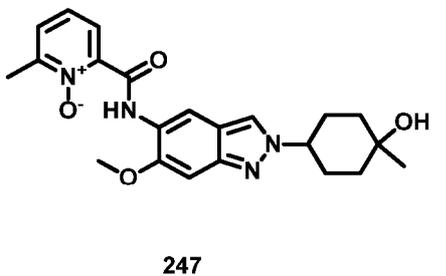
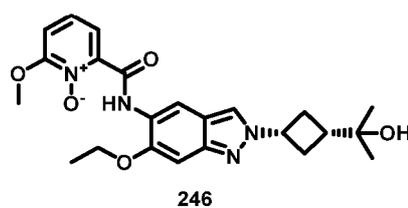
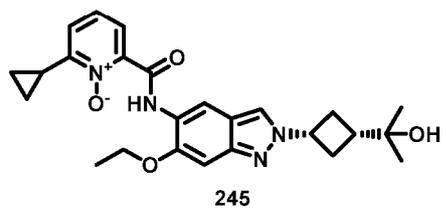
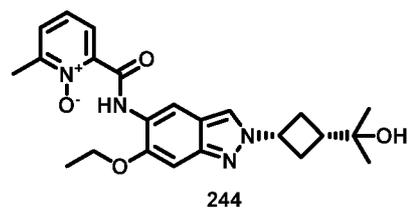
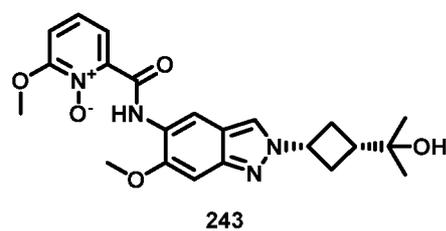
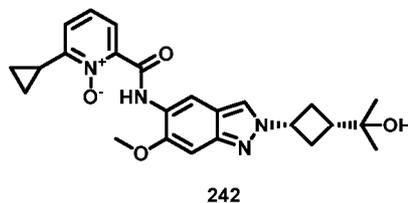
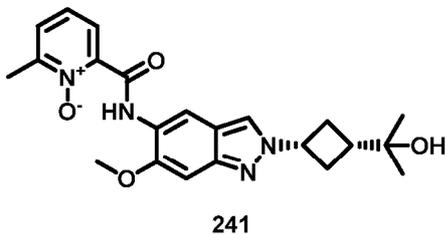
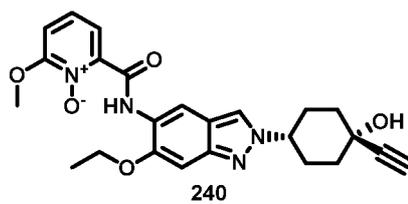
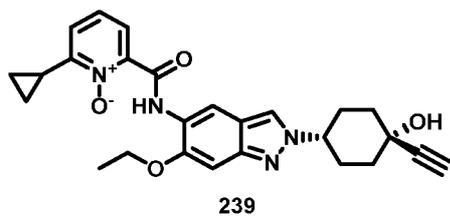
182

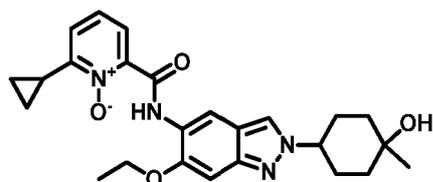




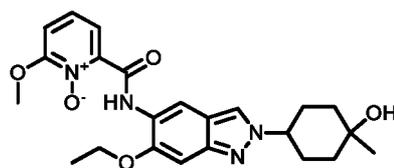




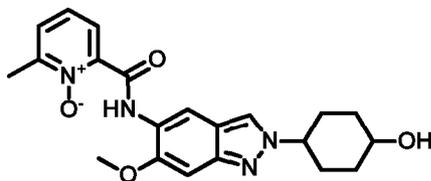




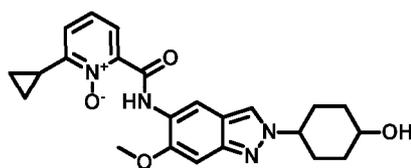
251



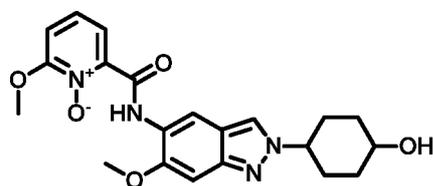
252



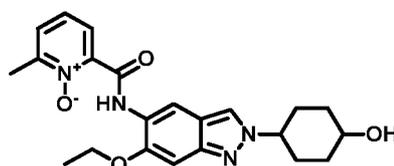
253



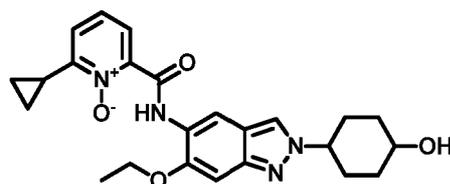
254



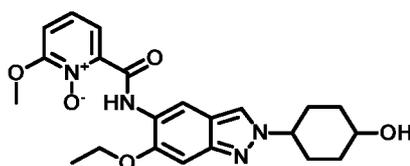
255



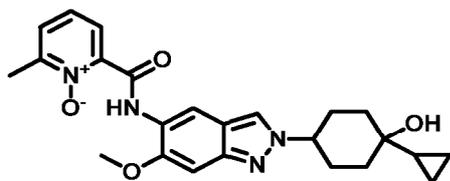
256



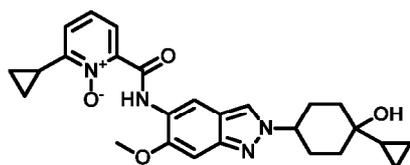
257



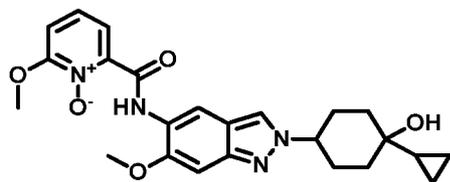
258



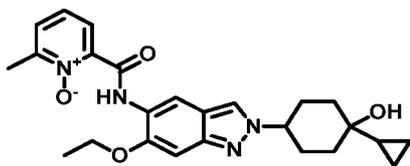
259



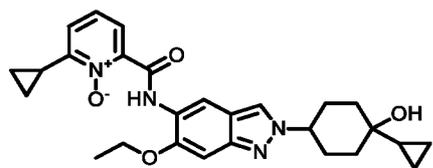
260



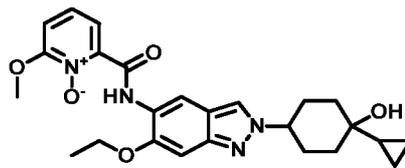
261



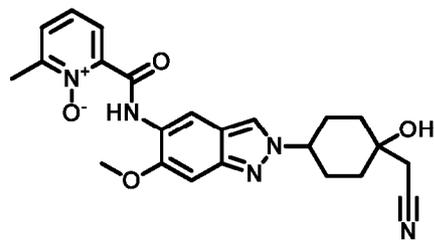
262



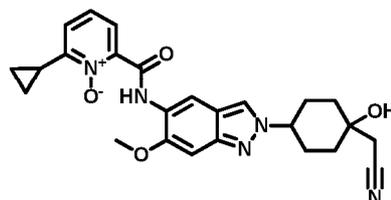
263



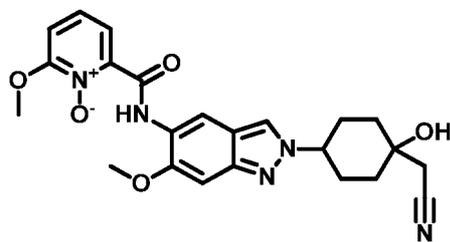
264



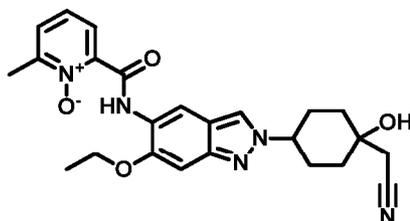
265



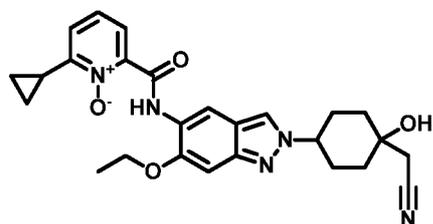
266



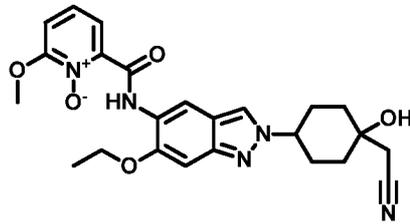
267



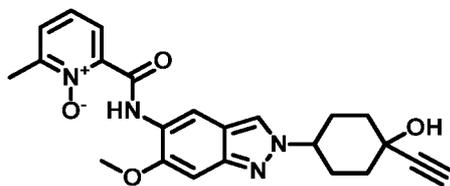
268



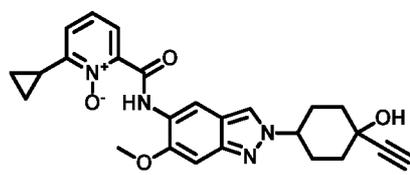
269



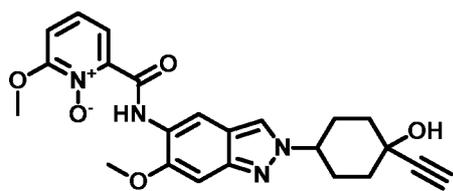
270



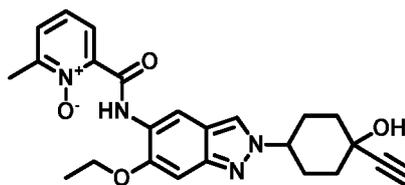
271



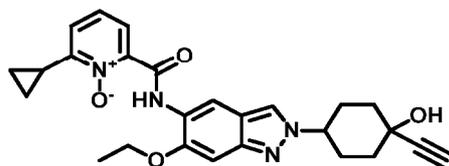
272



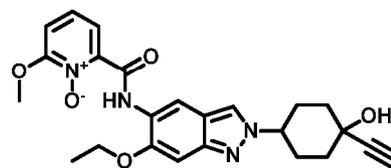
273



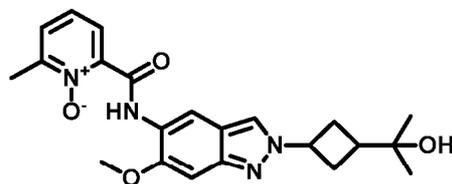
274



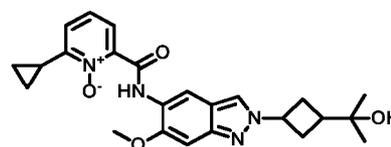
275



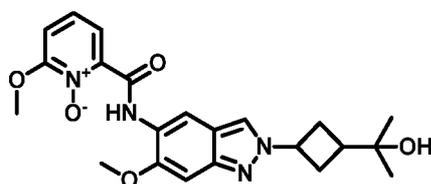
276



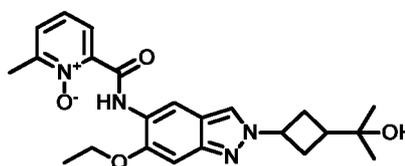
277



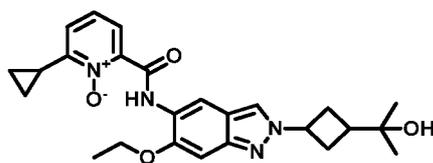
278



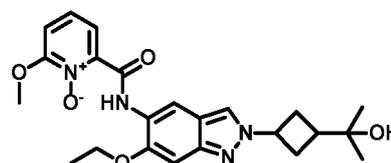
279



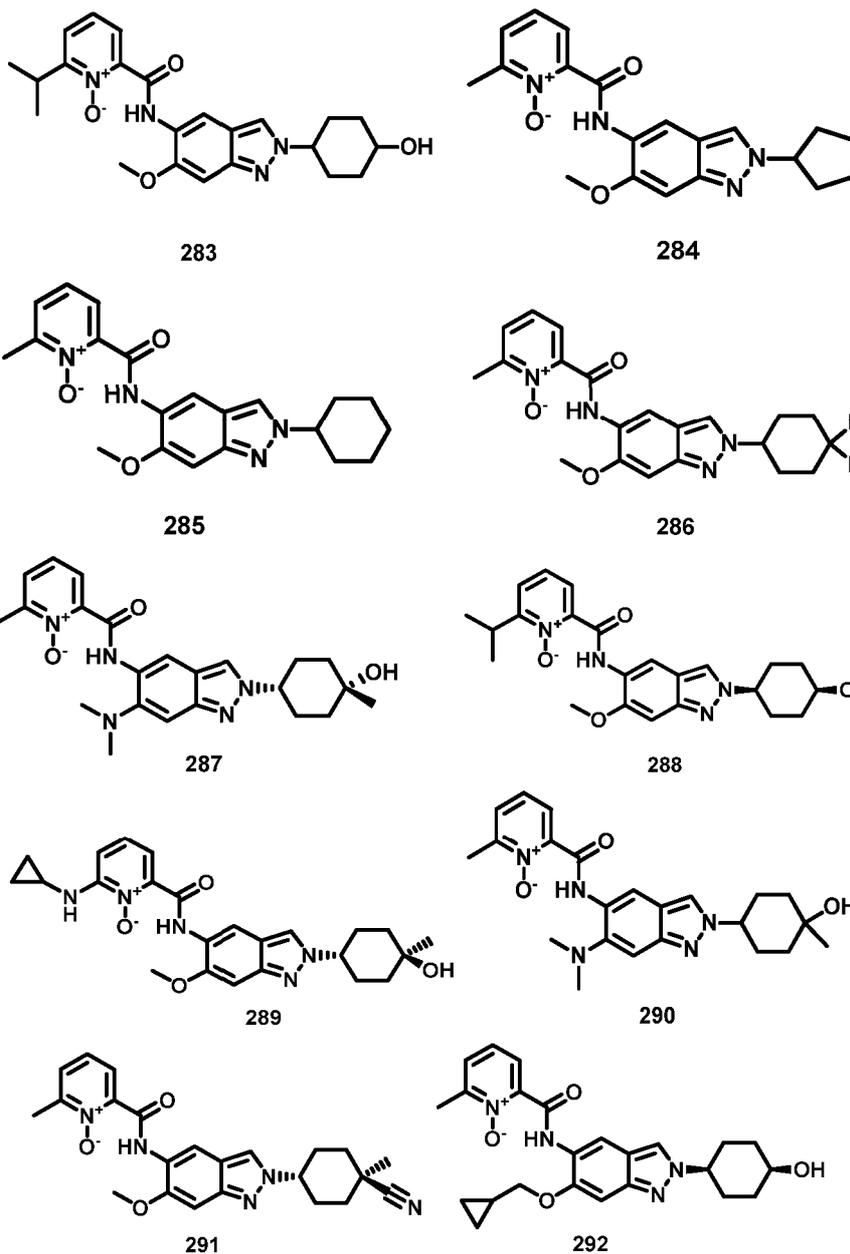
280



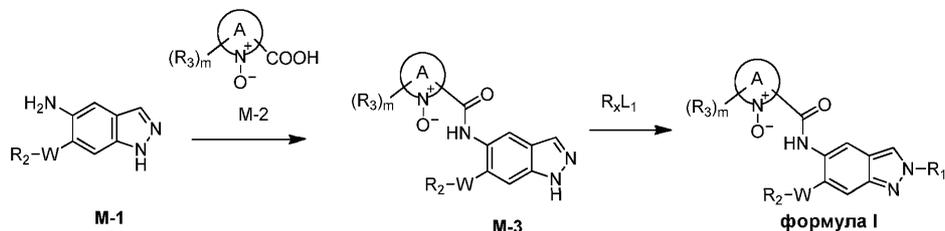
281



282

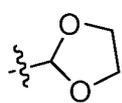


10. Способ получения соединения формулы I или его стереоизомера, рацемата, таутомера, изотопно меченого соединения, сложного эфира или фармацевтически приемлемой соли по любому из пп.1-9, включающий



(a1) приведение во взаимодействие M-1 и M-2 с получением M-3, при этом реакцию проводят в присутствии EDCI-HCl и пиридина; и

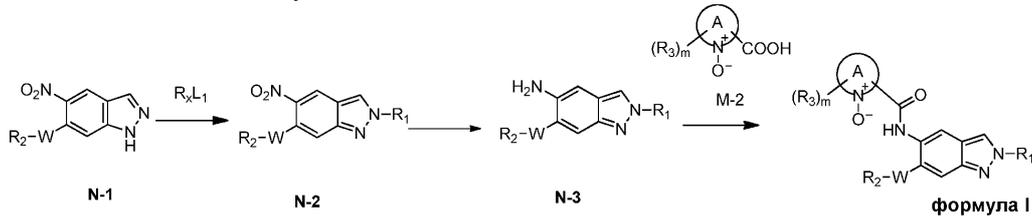
(a2) приведение во взаимодействие M-3 и R_xL_1 , где R_x выбран из R_1 и группы R_1 , содержащей



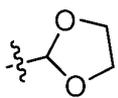
, когда R_x представляет собой группу R_1 , содержащую , реакцию проводят в присутствии кислоты и восстановителя с получением соединения формулы I, при этом кислота представляет собой HCl, а восстановитель представляет собой борогидрид натрия;

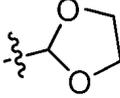
R_1 , R_2 , R_3 , m и W на вышеуказанных стадиях являются такими, как определено в формуле I, L_1 представляет собой уходящую группу и выбран из галогена и $-OTs$ (тозилатная группа).

11. Способ получения соединения формулы I или его стереоизомера, рацемата, таутомера, изотопно меченого соединения, сложного эфира или фармацевтически приемлемой соли по любому из пп.1-9, отличающийся тем, что способ получения включает



(b1) приведение во взаимодействие N-1 и R_xL_1 , где R_x выбран из R_1 и группы R_1 , содержащей



когда R_x представляет собой группу R_1 , содержащую  реакцию проводят в присутствии кислоты и восстановителя для получения N-2, при этом кислота представляет собой HCl , а восстановитель представляет собой борогидрид натрия;

(b2) восстановление N-2, полученного на предыдущей стадии, с получением N-3, при этом восстановитель представляет собой Pd/C ; и

(b3) приведение во взаимодействие N-3 и M-2 с получением соединения формулы I,

R_1 , R_2 , R_3 , m и W на вышеуказанных стадиях являются такими, как определено в формуле I, L_1 представляет собой уходящую группу и выбран из галогена и $-OTs$ (тозилатная группа).

12. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы I или его стереоизомер, рацемат, таутомер, изотопно меченое соединение, сложный эфир или его фармацевтически приемлемую соль по любому из пп.1-9.

13. Применение соединения формулы I или его стереоизомера, рацемата, таутомера, изотопно меченого соединения, сложного эфира или его фармацевтически приемлемой соли по любому из пп.1-9 или фармацевтической композиции по п.12 для получения лекарственного средства для предотвращения и/или лечения заболеваний или расстройств, опосредованных IRAK.

14. Применение по п.13, где указанные заболевания или расстройства выбраны из опухолей, подагры, системной красной волчанки, рассеянного склероза, метаболического синдрома, атеросклероза, инфаркта миокарда, сепсиса, воспалительного заболевания кишечника, астмы, ревматоидного артрита и аллергии.



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2