

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 047485

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2024.07.26

(21) Номер заявки
202291970

(22) Дата подачи заявки
2020.12.23

(51) Int. Cl. C07D 209/34 (2006.01)
C07D 401/14 (2006.01)
C07D 403/12 (2006.01)
A61K 31/404 (2006.01)
A61K 31/454 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) СОЕДИНЕНИЕ, ПРЕДСТАВЛЯЮЩЕЕ СОБОЙ СРЕДСТВО ДЛЯ РАЗРУШЕНИЯ БЕЛКА, И ЕГО ПРИМЕНЕНИЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ ИЛИ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЕЗНИ КЕННЕДИ

(31) 201911342649.0; 202010200682.6;
202010496353.0; 202011486334.6
(32) 2019.12.23; 2020.03.20; 2020.06.03;
2020.12.16

(33) CN

(43) 2022.10.20

(86) PCT/CN2020/138572

(87) WO 2021/129653 2021.07.01

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ШАНХАЙ ДЖЕМИНКЕР
ФАРМАСЬЮТИКАЛС КО., ЛТД;
ЦЗЯНСИ ДЖЕМИНКЕР ГРУП КО.,
ЛТД (CN)

(72) Изобретатель:
Лу Хунфу, Син Вэйцян, Ци Баоцзянь,
Пэн Цзяньбяо, Го Хайбин (CN)

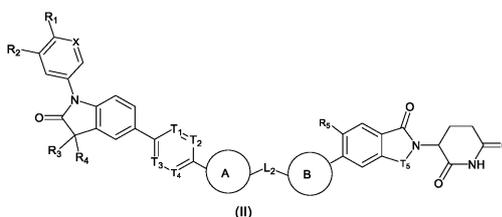
(74) Представитель:
Кузнецова С.А. (RU)

(56) WO-A1-2018098280
ISHOEY, M. et al. "Translation Termination Factor GSPT1 Is a Phenotypically Relevant Off-Target of Heterobifunctional Phthalimide Degraders", ACS Chem. Biol., Vol. 13, 22 January 2018 (2018-01-22), pp. 553-560

WO-A1-2018098275
PANGA, S. et al. "Design, Synthesis, Characterization, and in Vitro Evaluation of Isatin-Pomalidomide Hybrids for Cytotoxicity against Multiple Myeloma", Journal of Heterocyclic Chemistry, Vol. 55, 19 October 2018 (2018-10-19), pp. 2919-2928

CN-A-110506039

(57) В изобретении представлены соединение, представляющее собой средство для разрушения белка, представленное формулой (II), его оптический изомер или его фармакологически приемлемая соль и применение указанного соединения в лечении рака и предупреждении или лечении болезни Кеннеди.



B1

047485

047485 B1

Настоящая заявка испрашивает приоритет следующих заявок: CN201911342649.0, дата подачи: 23 декабря, 2019 г., CN202010200682.6, дата подачи: 20 марта, 2020 г.; CN202010496353.0, дата подачи: 3 июня, 2020 г.; CN202011486334.6, дата подачи: 16 декабря, 2020 г.

Область техники

Настоящее изобретение относится к соединению, представляющему собой средство для разрушения белка, представленному формулой (II), его оптическому изомеру или его фармакологически приемлемой соли и применению соединения для лечения рака и предупреждения или лечения болезни Кеннеди.

Уровень техники

Рак предстательной железы (РСa) представляет собой один из наиболее распространенных в мире видов рака и является второй главной причиной смерти от рака у взрослых мужчин в мире. Рак предстательной железы не характеризуется значительными симптомами на ранней стадии и развивается относительно медленно. На прогрессирующей стадии могут возникать симптомы, такие как учащенное мочеиспускание, дизурия, гематурия и болезненное мочеиспускание, и рак может метастазировать в другие части организма. У большинства пациентов диагностирован прогрессирующий рак. В Соединенных Штатах коэффициент частоты заболевания рака предстательной железы превосходит таковой для рака легкого и становится первым по значимости видом рака, угрожающим здоровью мужчин. В 2016 году в Китае было 120000 новых пациентов, страдающих от рака предстательной железы. Согласно оценкам, в Китае к 2030 году число новых пациентов, страдающих от рака предстательной железы, достигнет 237000, а совокупный среднегодовой темп роста составит 5%. Это также означает, что в следующие 10 лет частота возникновения рака предстательной железы в Китае войдет в пиковый период и данное заболевание станет первоочередной причиной смерти от рака среди мужчин. В Китае вследствие низкого уровня ранней диагностики уровень смертности пациентов, страдающих от рака предстательной железы, намного выше, чем таковой показатель в развитых странах. В Соединенных Штатах выживаемость пациентов, страдающих данным заболеванием, за 5 лет составляет более 98%, в то время как выживаемость таких же пациентов в Китае составляет только 50%.

Рак предстательной железы представляет собой андрогензависимую опухоль и андрогены стимулируют рост клеток рака предстательной железы и прогрессирование заболевания. Эндокринная терапия представляет собой один из традиционных способов лечения. Например, стандартное лечение прогрессирующего РСa представляет собой антиандрогенную терапию (ADT), такую как хирургическая кастрация (двусторонняя орхиэктомия) / кастрация с помощью лекарственного средства (такая как инъекция золадекса). Терапия ADT характеризуется заметным эффектом на ранней стадии лечения, но при прогрессе заболевания андрогеновый рецептор (AR) мутирует и мутированный AR является более чувствительным к низким уровням андрогена, способствуя, таким образом, прогрессированию заболевания в кастрационно-резистентный рак предстательной железы (CRPC). Почти у всех пациентов, страдающих от прогрессирующего рака предстательной железы, в конечном итоге заболевание прогрессирует в CRPC после получения эндокринной терапии. Кроме того, у не более 30% пациентов, страдающих от рака предстательной железы, заболевание становится метастатическим кастрационно-резистентным раком предстательной железы (mCRPC) по прошествии 10 лет от момента исходного лечения. В настоящее время пациенты, у которых диагностирован ранний локализованный рак предстательной железы, являются обычно излечимыми, но пациенты, у которых диагностирован асимптомный или умеренный метастатический кастрационно-резистентный рак предстательной железы (mCRPC) не имеют клинических вариантов лечения.

В настоящее время одобренные для перорального применения лекарственные средства для лечения метастатического кастрационно-резистентного рака предстательной железы преимущественно включают абиратерон и энзалутамид. Среди них абиратерон представляет собой новый ингибитор биосинтеза андрогенов, который может блокировать синтез андрогенов в яичках, надпочечнике или в окружении опухолевой клетки. В то время как энзалутамид представляет собой ингибитор андрогенового рецептора, который может конкурентно ингибировать связывание андрогена с рецептором. Если энзалутамид связывается с AR, он может также дополнительно ингибировать ядерный транспорт AR, блокируя, таким образом, взаимодействие между AR и ДНК.

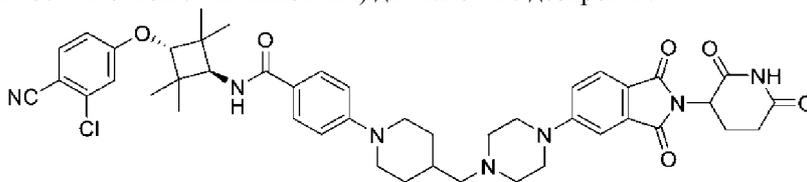
Несмотря на то что CRPC является кастрационно-рефрактерным, он зависит от сигнального пути AR для продолжающегося развития. Мутация AR снижает антагонистическую активность нацеливающихся на AR низкомолекулярных молекул, и они даже становятся агонистами AR, что клинически проявляется как устойчивость к лекарственному средству. Следовательно, средства для селективного разрушения андрогенового рецептора (SARD) могут не только ингибировать андрогеновый рецептор и блокировать процесс опосредованной андрогеновым рецептором передачи сигнала, но также разрушают рецептор как таковой, принося больше пользы.

Настоящее изобретение преимущественно зависит от технологии с применением химеры, нацеленной на деградацию белка (PROTAC), с получением класса средств для селективного разрушения AR (SARD). Технология PROTAC преимущественно зависит от внутриклеточной системы убиквитин-протеасома. Данная система является "чистильщиком" в клетке, и основная функция системы убиквитинирования заключается в убиквитинировании денатурированных, мутированных или причиняющих вред

белков в клетке. Убиквитинированные белки разрушаются протеасомной системой внутри клетки. Идея дизайна на основе PROTAC заключается в том, что один конец молекулы представляет собой фрагмент для взаимодействия с AR, и другой конец представляет собой фрагмент для взаимодействия убиквитин-протеасома, и оба конца соединены в химерную молекулу посредством промежуточного соединения. PROTAC взаимодействует с белком-мишенью (AR) и в то же время с протеасомной системой, таким образом протеасома и белки AR пространственно близки друг к другу, и затем AR разрушается посредством убиквитинирования.

О технологии PROTAC на основе низкомолекулярной молекулы сообщалось в 2008 г. В настоящее время только низкомолекулярное лекарственное средство ARV-110 (в настоящее время с неизвестной структурой), основанное на разрушении AR, от Arvinas находится на первой фазе клинического исследования и разработки. Технология PROTAC относится к передовой области. В последние годы большое число литературных данных показало, что PROTAC одновременно играет роль в комбинации с мишенями для разрушения и системами убиквитинирования. Ее механизм действия является гораздо более сложным, чем таковой у традиционных низкомолекулярных лекарственных средств: в механизм действия таких молекул вовлечена кинетика связывания трех тел, и на него воздействуют собственные каталитические характеристики PROTAC (и возможные проблемы, вызванные хук-эффектом). Следовательно, идеи молекулярного дизайна PROTAC являются полностью отличными от таковых для низкомолекулярных молекул, и явной закономерности не существует. Распространенные стратегии, основанные на химии лекарственного средства, такие как эквивалентная замена эффективных фрагментов, не являются обязательно применимыми в дизайне таких молекул.

В патенте CN110506039A представлен дизайн серии соединений на основе технологии PROTAC, в которой раскрыт вариант осуществления 158. В целом, такие молекулы на основе технологии PROTAC характеризуются недостатками в виде большой молекулярной массы и плохой растворимости, что ограничивает повышение дозировки лекарственного средства. Следовательно, большое значение имеет улучшение метаболической стабильности соединения *in vivo* и улучшение активности лекарственного средства (эффективности в отношении животных) для такой же дозировки.



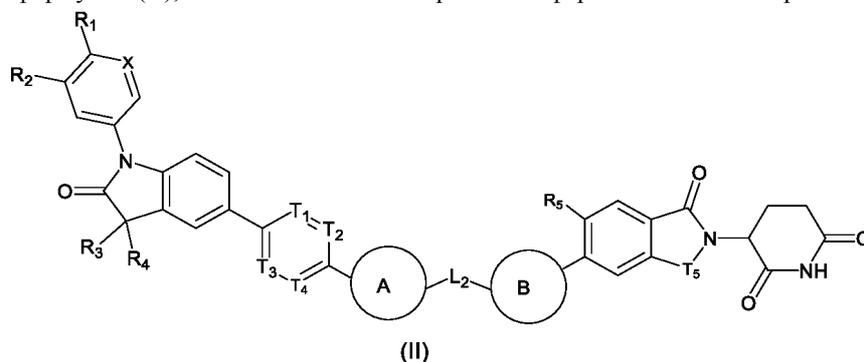
CN110506039A

Вариант осуществления 158

В настоящее время в данной области по-прежнему существует потребность в разработке молекул на основе PROTAC с новыми структурами для разрушения AR.

Содержание изобретения

В одном аспекте настоящего изобретения настоящее изобретение предусматривает соединение, представленное формулой (II), его оптический изомер или его фармакологически приемлемую соль



где каждое из колец A и B независимо представляет собой 3-8-членный гетероциклоалкил или 5-6-членный гетероарил, при этом 3-8-членный гетероциклоалкил или 5-6-членный гетероарил содержат 1, 2 или 3 атома N;

R₁, представляет собой CN;

R₂ представляет собой галоген или C₁₋₆-алкил, необязательно замещенный 1, 2 или 3 R;

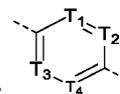
R₃ представляет собой C₁₋₆-алкил;

R₄ представляет собой C₁₋₆-алкил;

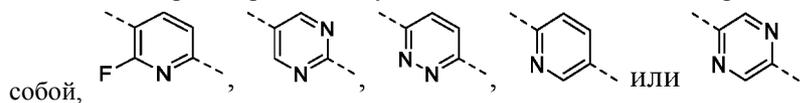
X представляет собой CH;

каждый из T_1 , T_2 , T_3 и T_4 независимо представляет собой C(R) или N;
 T_5 представляет собой $-(C=O)-$ или $-CH_2-$;
 L_2 представляет собой C_{1-6} алкилен;
R представляет собой H, F, Cl, Br или I;
 R_5 представляет собой H;

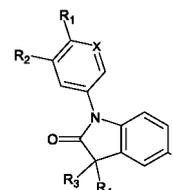
В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения фрагмент



представляет собой,

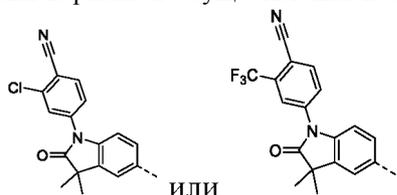


В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения каждый из R_3 и R_4 независимо представляет собой метил, этил, n-пропил или изопропил.



В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения фрагмент

пред-



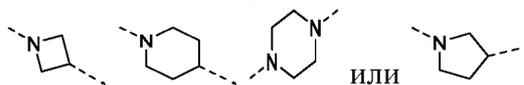
ставляет собой

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения L_2 представляет собой $-CH_2-$, $-CH_2CH_2-$ или $-CH_2CH_2CH_2-$.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения кольцо А и кольцо В независимо представляют собой 4-6-членный гетероциклоалкил.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения кольцо А представляет собой азетидинил, пиперидинил, пиперазинил, пиразолил или тетрагидропирролил.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения кольцо А представляет собой

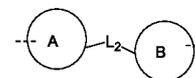


В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения кольцо В представляет собой пиперазинил, тетрагидропирролил, пиперидинил или азетидинил.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения кольцо В представляет собой



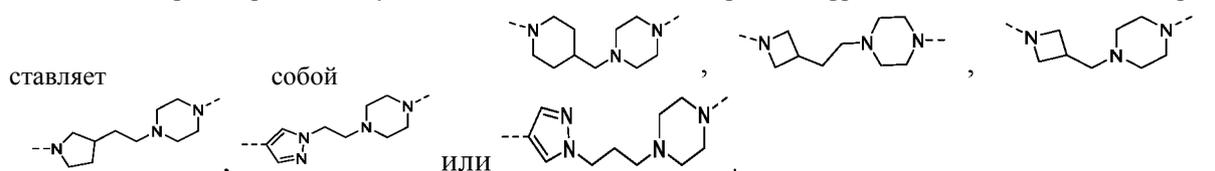
В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения фрагмент



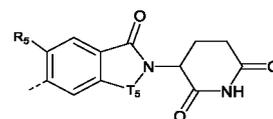
пред-

ставляет

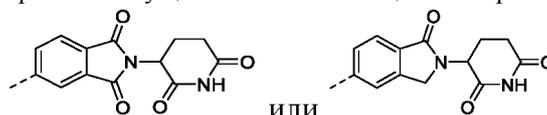
собой



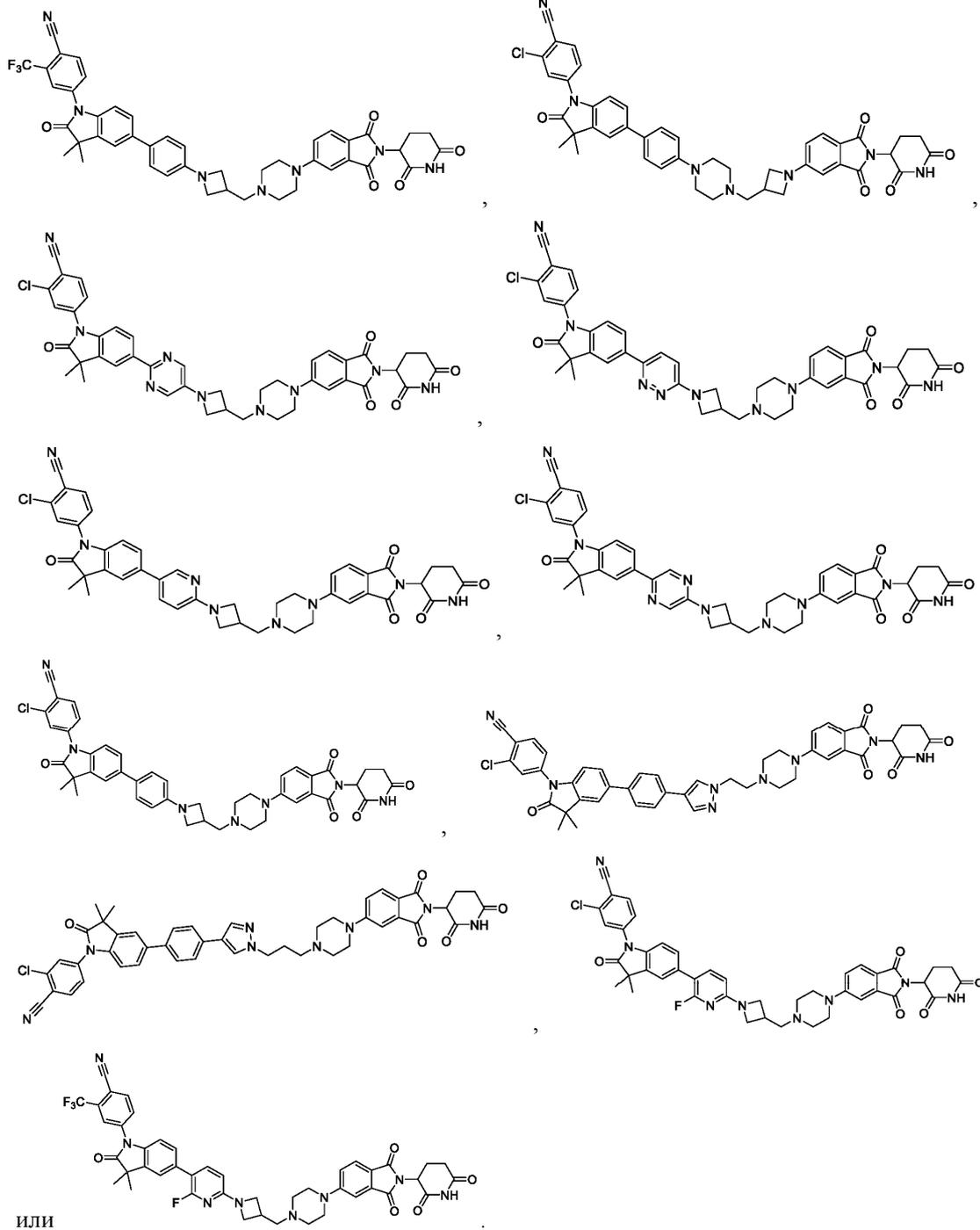
В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения фрагмент



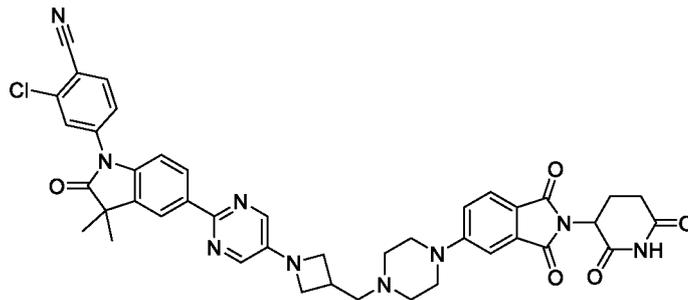
представляет собой



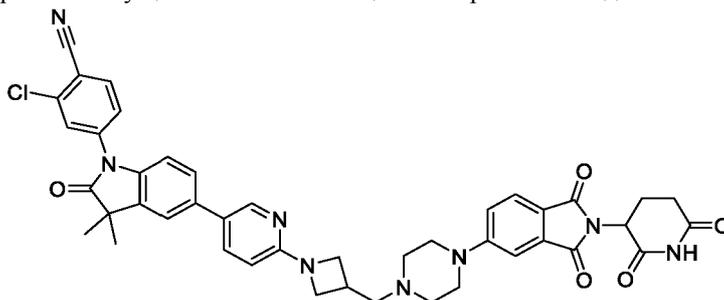
В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения соединение представляет собой:



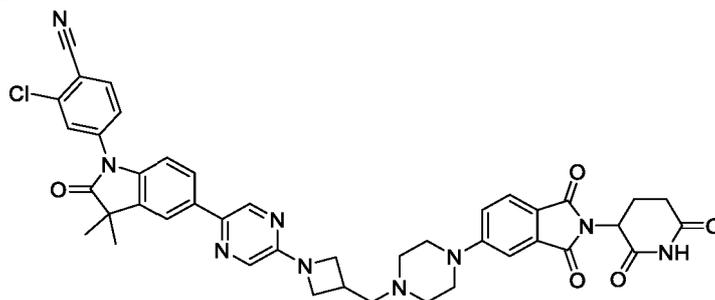
В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения соединение имеет формулу



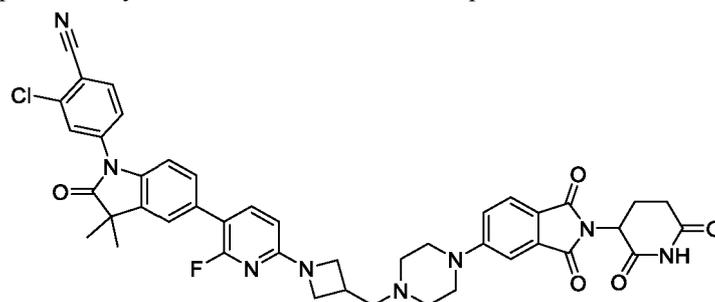
В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения соединение имеет формулу:



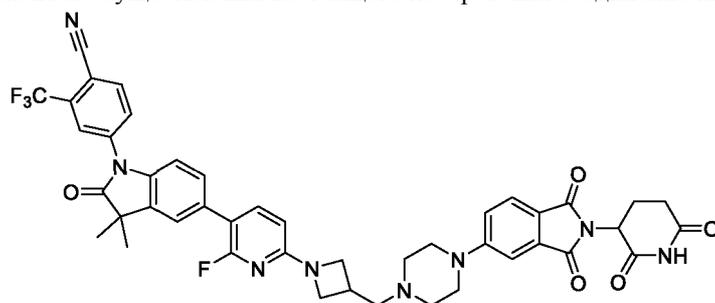
В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения соединение имеет формулу:



В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения соединение имеет формулу:



В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения соединение имеет формулу:



В другом аспекте настоящего изобретения настоящее изобретение предусматривает применение соединения, его оптического изомера или его фармакологически приемлемой соли для лечения рака.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения рак представляет собой рак предстательной железы.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения рак представляет собой рак молочной железы.

В другом аспекте настоящего изобретения настоящее изобретение предусматривает применение соединения, его оптического изомера или его фармакологически приемлемой соли для предупреждения или лечения болезни Кеннеди.

Определения и описание

Если не указано иное, следующие термины и фразы, применяемые в настоящем изобретении, имеют следующие значения. Определенный термин или фразу не стоит считать неопределенными или неясными при отсутствии точного определения, но следует понимать в соответствии с общепринятым значением. Если в данном документе встречается торговое название, то предполагается, что оно относится к его соответствующему коммерческому продукту или его активному ингредиенту.

Термин "фармакологически приемлемый" применяют в данном документе применительно к таким соединениям, материалам, композициям и/или лекарственным формам, которые в рамках тщательной медицинской оценки являются подходящими для применения в контакте с тканями человека и животного без избыточной токсичности, раздражения, аллергической реакции или других проблем или осложнений и соизмеримо с обоснованным соотношением польза/риск.

Термин "фармакологически приемлемая соль" относится к соли соединения по настоящему изобретению, которую получают посредством осуществления реакции соединения, содержащего конкретный заместитель, по настоящему изобретению с относительно нетоксичными кислотой или основанием. Если соединение по настоящему изобретению содержит относительно кислотную функциональную группу, то соль присоединения основания можно получить посредством приведения нейтральной формы такого соединения в контакт с достаточным количеством основания в чистом растворе или подходящем инертном растворителе. Фармакологически приемлемые соли присоединения основания включают соли натрия, калия, кальция, аммония, органического амина или магния или подобные соли. Если соединение по настоящему изобретению содержит относительно основную функциональную группу, то соль присоединения кислоты можно получить посредством приведения нейтральной формы соединения в контакт с достаточным количеством кислоты в чистом растворе или подходящем инертном растворителе. Примеры фармакологически приемлемых солей присоединения кислоты включают соли, полученные из неорганических кислот, таких как хлористоводородная кислота, бромистоводородная кислота, азотная кислота, угольная кислота, бикарбонатный радикал, фосфорная кислота, моногидрофосфат, дигидрофосфат, серная кислота, гидросульфат, йодистоводородная кислота, фосфорная кислота и т.п.; и соли полученные из органических кислот, таких как уксусная кислота, пропионовая кислота, изомасляная кислота, трифторуксусная кислота, малеиновая кислота, малоновая кислота, бензойная кислота, янтарная кислота, суBERиновая кислота, фумаровая кислота, молочная кислота, миндальная кислота, фталевая кислота, бензолсульфоновая кислота, пара-толуолсульфоновая кислота, лимонная кислота, винная кислота и метансульфоновая кислота и т. п.; и соли аминокислот (таких как аргинин и т.д.); и соли органических кислот, таких как глюкуроновая кислота и т. п. Определенные конкретные соединения по настоящему изобретению содержат как основные, так и кислотные функциональные группы, которые обеспечивают превращение соединения в соли присоединения основания или соли присоединения кислоты.

Фармакологически приемлемые соли по настоящему изобретению можно получать из исходного соединения, содержащего кислотную или основную группу, посредством традиционных химических способов. В общем, такие соли получают посредством осуществления реакции свободной кислотной или основной формы соединения со стехиометрическим количеством соответствующих основания или кислоты в воде, или в органическом растворителе, или в их смеси.

Соединение по настоящему изобретению может существовать в формах конкретного геометрического изомера или стереоизомера. В настоящем изобретении рассматриваются все такие соединения, в том числе цис- и транс-изомеры, (-) и (+)-энантиомеры, (R)- и (S)-энантиомеры, диастереоизомеры, (D)-изомеры, (L)-изомеры и рацемические смеси и их другие смеси, такие как энантиомеры или диастереомеры обогащенные смеси, все из которых охватываются объемом настоящего изобретения. В заместителях, таких как алкил, могут присутствовать дополнительные асимметрические атомы углерода. Все такие изомеры и их смеси охватываются объемом настоящего изобретения.

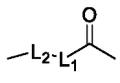
Соединения по настоящему изобретению могут существовать в конкретных формах. Если не указано иное, термин "таутомер" или "таутомерная форма" означает, что при комнатной температуре разные функциональные изомеры находятся в состоянии динамического равновесия и могут быстро превращаться друг в друга. Если возможно наличие таутомеров (как, например, в растворе), то таутомеры могут достигать состояния химического равновесия. Например, протонный таутомер (также известный как прототропный таутомер) включает взаимопревращение путем миграции протона, такой как кетонольная изомеризация и имино-енаминовая изомеризация. Валентный таутомер включает взаимопревращение посредством рекомбинации некоторых связывающих электронов. Конкретным примером кетонольной таутомеризации является взаимное превращение двух таутомеров - пентан-2,4-диона и 4-гидроксипент-3-ен-2-она.

Соединение по настоящему изобретению может содержать неприродное соотношение атомных изотопов при одном или более атомах, которые составляют соединение. Например, соединение может быть мечено радиоактивными метками в виде радиоактивного изотопа, такого как тритий (^3H), йод-125 (^{125}I) или С-14 (^{14}C). В качестве другого примера водород может быть замещен дейтерием с образованием дейтерированного лекарственного средства, при этом связь, образованная дейтерием и углеродом, является более прочной, чем таковая для обычного водорода и углерода, при этом по сравнению с недейтерированными лекарственными средствами дейтерированные лекарственные средства обладают преимуществами, состоящими в снижении токсичных побочных эффектов, повышении стабильности лекарственного средства, усилении эффективности и продлении периода полувыведения лекарственного средства и т.п. Все изотопные варианты соединений по настоящему изобретению, вне зависимости от радиоактивности, включены в объем настоящего изобретения. Термин "необязательный" или "необязательно" означает, что описанное далее событие или обстоятельство может происходить, но не обязательно происходит, и что

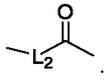
описание включает случаи, когда событие или обстоятельство происходит, и случаи, когда не происходит.

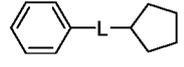
Термин "замещенный" означает, что один или более атомов водорода при конкретном атоме замещены заместителем, в том числе переменными, представляющими собой дейтерий и водород, при условии, что валентность конкретного атома является нормальной, и замещенное соединение является стабильным. Термин "необязательно замещенный" означает, что атом может быть замещен или не замещен заместителем, если не указано иное, причем тип и число заместителей могут быть произвольными при условии, что это химически достижимо.

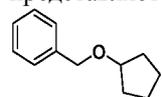
Если любая переменная (такая как R) встречается более одного раза в составе или структуре соединения, то определение переменной в каждом случае является независимым. Таким образом, например, если группа замещена 1, 2 или 3 R', то данная группа может быть необязательно замещена 1, 2 или 3 R' при этом определение R' в каждом случае является независимым. Более того, комбинация заместителя и/или его варианта является допустимой, только если такая комбинация приводит к образованию стабильного соединения.

Если одна из переменных выбрана из одинарной связи, то это означает, что две группы, связанные одинарной связью, соединены непосредственно, например, если L_1 в  представляет собой оди-

нарную связь, то это означает, что структура фактически представляет собой

. Если не указано, каким атомом перечисленный заместитель связан с группой, подлежащей замещению, то заместитель может быть связан посредством любого атома группы. Например, пиридил в качестве заместителя может быть связан с группой, подлежащей замещению, посредством любого атома углерода в пиридиновом кольце.

Если указано направление связывания перечисленной линкерной группы, то направление для связывания является произвольным, например, если линкерная группа L, содержащаяся в , представляет собой $-CH_2O-$, то $-CH_2O-$ может связывать фенил и циклопентил с образованием

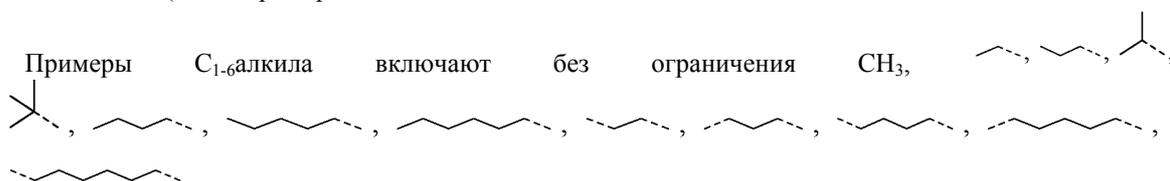


в направлении, соответствующем порядку чтения слева направо, и с образованием в направлении, противоположном порядку чтения слева направо. Комбинация линкерных групп, заместителей и/или их переменных является допустимой, только если данная комбинация может приводить к образованию стабильного соединения.

Если не указано иное, число атомов в кольце в общем определено как число членов кольца, например, "3-6-членное кольцо" относится к "кольцу", в котором 3-6 атомов расположены по кругу.

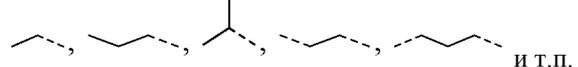
Если не указано иное, термин " C_{1-6} алкил" относится к линейной или разветвленной насыщенной углеводородной группе, состоящей из 1-6 атомов углерода. C_{1-6} алкил включает C_{1-5-} , C_{1-4-} , C_{1-3-} , C_{1-2-} , C_{2-6-} , C_{2-4-} , C_6- и C_5- алкил и т.п. Он может быть одновалентным (таким как CH_3), двухвалентным ($-CH_2-$) или

многовалентным (как например ).

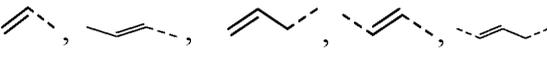


и т. п.

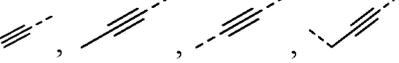
Если не указано иное, термин " C_{1-3} алкил" относится к линейной или разветвленной насыщенной углеводородной группе, состоящей из 1-3 атомов углерода. C_{1-3} алкил включает C_{1-2-} и C_{2-3} алкил и т.п. Он может быть одновалентным (таким как CH_3), двухвалентным (таким как $-CH_2-$) или многовалентным (как

например ). Примеры C_{1-3} алкила включают без ограничения CH_3 ,  и т.п.

Если не указано иное, " C_{2-3} алкенил" относится к линейной или разветвленной углеводородной группе, содержащей 2-3 атома углерода, содержащей по меньшей мере одну углерод-углеродную двойную связь, которая может располагаться где-либо в группе. C_{2-3} алкенил включает C_3- и C_2 алкенил. Он

может быть одновалентным, двухвалентным или многовалентным. Примеры C_{2-3} алкенила включают без ограничения  и т.п.

Если не указано иное, " C_{2-3} алкинил" относится к линейной или разветвленной углеводородной группе, содержащей 2-3 атома углерода, содержащей по меньшей мере одну углерод-углеродную тройную связь, которая может располагаться где-либо в группе. Он может быть одновалентным, двухвалентным или многовалентным. C_{2-3} алкинил включает C_3 - и C_2 алкинил и т.п. Примеры C_{2-3} алкинила включают

без ограничения  и т.п.

Если не указано иное, термин " C_{1-6} алкокси" относится к таким алкильным группам, каждая из которых содержит 1-6 атома углерода и связана с остальной частью молекулы посредством атома кислорода, C_{1-6} алкокси включает C_{1-4} -, C_{1-3} -, C_{1-2} -, C_{2-6} -, C_{2-4} -, C_6 -, C_5 -, C_4 - и C_3 алкокси и т.п. Примеры C_{1-6} алкокси включают без ограничения метокси, этокси, пропокси (в том числе *n*-пропокси и изопропокси), буюкси (в том числе *n*-буюкси, изобуюкси, втор-буюкси и трет-буюкси), пентилокси (в том числе *n*-пентилокси, изопентилокси и неопентилокси), гексилкокси и т.п.

Если не указано иное, термин " C_{1-3} алкокси" относится к таким алкильным группам, каждая из которых содержит 1-3 атома углерода и связана с остальной частью молекулы посредством атома кислорода. C_{1-3} алкокси включает C_{1-3} -, C_{1-2} -, C_{2-3} -, C_1 -, C_2 - и C_3 алкокси и т.п. Примеры C_{1-3} алкокси включают без ограничения метокси, этокси, пропокси (в том числе *n*-пропокси и изопропокси) и т.п.

Если не указано иное, термин "Съалкиламино" относится к таким алкильным группам, каждая из которых содержит 1-6 атома углерода и связана с остальной частью молекулы посредством аминогруппы. C_{1-6} алкиламино включает C_{1-4} -, C_{1-3} -, C_{1-2} -, C_{2-6} -, C_{2-4} -, C_6 -, C_5 -, C_4 -, C_3 - и C_2 алкиламино и т.п. Примеры C_{1-6} алкиламино включают без ограничения $-NHCH_3$, $-N(CH_3)_2$, $-NHCH_2CH_3$, $-N(CH_3)CH_2CH_3$, $-N(CH_2CH_3)(CH_2CH_3)$, $-NHCH_2CH_2CH_3$, $-NHCH_2(CH_3)_2$, $-NHCH_2CH_2CH_2CH_3$ и т.п.

Если не указано иное, термин " C_{1-3} алкиламино" относится к таким алкильным группам, каждая из которых содержит 1-3 атома углерода и связана с остальной частью молекулы посредством амина. C_{1-3} алкиламино включает C_{1-3} -, C_{1-2} -, C_{2-3} -, C_1 -, C_2 - и C_3 алкиламино и т.п. Примеры Съалкиламино включают без ограничения $-NHCH_3$, $-N(CH_3)_2$, $-NHCH_2CH_3$, $-N(CH_3)CH_2CH_3$, $-NHCH_2CH_2CH_3$, $-NHCH_2(CH_3)_2$ и т.п.

Если не указано иное, термин " C_{1-6} алкилтио" относится к таким алкильным группам, каждая из которых содержит 1-6 атома углерода и связана с остальной частью молекулы посредством атома серы. C_{1-6} алкилтио включает C_{1-4} -, C_{1-3} -, C_{1-2} -, C_{2-6} -, C_{2-4} -, C_6 -, C_5 -, C_4 -, C_3 - и C_2 алкилтио и т.п. Примеры C_{1-6} алкилтио включают без ограничения $-SCH_3$, $-SCH_2CH_3$, $-SCH_2CH_2CH_3$, $-SCH_2(CH_3)_2$ и т.п.

Если не указано иное, термин " C_{1-3} алкилтио" относится к таким алкильным группам, каждая из которых содержит 1-3 атома углерода и связана с остальной частью молекулы посредством атома серы. Съалкилтио включает C_{1-3} -, C_{1-2} -, C_{2-3} -, C_1 -, C_2 - и C_3 алкилтио и т.п. Примеры C_{1-3} алкиламино включают без ограничения $-SCH_3$, $-SCH_2CH_3$, $-SCH_2CH_2CH_3$, $-SCH_2(CH_3)_2$ и т.п.

Если не указано иное, " C_{3-9} циклоалкил" относится к насыщенной циклической углеводородной группе, состоящей из 3-9 атомов углерода, в том числе моноциклических и бициклических кольцевых систем, причем C_{3-9} циклоалкил включает C_{3-8} -, C_{3-7} -, C_{3-6} -, C_{3-5} - и C_5-6 циклоалкил и т.п. Он может быть одновалентным, двухвалентным или многовалентным. Примеры C_{3-9} циклоалкила включают без ограничения циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклогексил, циклогептан и т.п.

Если не указано иное, " C_{3-6} циклоалкил" относится к насыщенной циклической углеводородной группе, состоящей из 3-6 атомов углерода, в том числе моноциклических и бициклических кольцевых систем, причем C_{3-6} циклоалкил включает C_{3-5} -, C_4-5 и C_5-6 и т.п. Он может быть одновалентным, двухвалентным или многовалентным. Примеры C_{3-6} алкинила включают без ограничения циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклогексил и т.п.

Если не указано иное, термин "3-12-членный гетероциклоалкил" сам по себе или в комбинации с другими терминами соответственно относится к насыщенной циклической группе, состоящей из 3-12 атомов в кольце, из которых 1, 2, 3 или 4 атома в кольце представляют собой гетероатомы, независимо выбранные из O, S и N, а оставшиеся атомы представляют собой атомы углерода, где атом азота необязательно кватернизирован, и гетероатомы, представляющие собой азот и серу, необязательно окислены (т.е. NO и S(O)_p, где p равняется 1 или 2). Он включает моноциклические, бициклические и трициклические системы, где бициклические и трициклические системы включают спирокольца, конденсированные кольца и кольца, содержащие мостиковую связь. Более того, в случае "3-12-членного гетероциклоалкила" гетероатом может занимать положение, в котором гетероциклоалкил связан с остальной частью молекулы. 3-12-членный гетероциклоалкил включает 3-10-членный, 3-9-членный, 3-8-членный, 3-6-членный, 3-5-членный, 4-6-членный, 5-6-членный, 4-членный, 5-членный и 6-членный гетероциклоалкил и т.п. Примеры 3-12-членного гетероциклоалкила включают без ограничения азетидинил, оксетанил, тиетанил, пирролидинил, пиазолидинил, имидазолидинил, тетрагидротиенил (в том числе тетрагидротиен-2-ил и тетрагидротиен-3-ил и т.д.), тетрагидрофуранил (в том числе тетрагидрофуран-2-ил и т.д.),

тетрагидропиранил, пиперидинил (в том числе 1-пиперидинил, 2-пиперидинил и 3-пиперидинил и т. д.), пиперазинил (в том числе 1-пиперазинил и 2-пиперазинил и т. д.), морфолинил (в том числе 3-морфолинил и 4-морфолинил и т. д.), диоксанил, дитианил, изоксазолидинил, изотиазолидинил, 1,2-оксазинил, 1,2-тиазинил, гексагидропиридазинил, гомопиперазинил, гомопиперидинил или диоксепанил



и т.п.

Если не указано иное, термин "3-9-членный гетероциклоалкил" сам по себе или в комбинации с другими терминами соответственно относится к насыщенной циклической группе, состоящей из 3-9 атомов в кольце, из которых 1, 2, 3 или 4 атома в кольце представляют собой гетероатомы, независимо выбранные из O, S и N, а оставшиеся атомы представляют собой атомы углерода, где атом азота необязательно кватернизирован, и гетероатомы, представляющие собой азот и серу, необязательно окислены (т.е. NO и S(O)_p, где p равняется 1 или 2). Он включает моноциклические и бициклические системы, где бициклическая система включает спирокольца, конденсированные кольца и кольца, содержащие мостиковую связь. Более того, в случае "3-9-членного гетероциклоалкила" гетероатом может занимать положение, в котором гетероциклоалкил связан с остальной частью молекулы. 3-9-членный гетероциклоалкил включает 3-6-членный, 4-7-членный, 4-членный, 5-членный, 6-членный, 7-членный, 8-членный и 9-членный гетероциклоалкил и т.п. Примеры 3-9-членного гетероциклоалкила включают без ограничения азетидинил, оксетанил, тиетанил, пирролидинил, пиазолидинил, имидазолидинил, тетрагидротиенил (в том числе тетрагидротиен-2-ил и тетрагидротиен-3-ил и т. д.), тетрагидрофуранил (в том числе тетрагидрофуран-2-ил и т. д.), тетрагидропиранил, пиперидинил (в том числе 1-пиперидинил, 2-пиперидинил и 3-пиперидинил и т. д.), пиперазинил (в том числе 1-пиперазинил и 2-пиперазинил и т. д.), морфолинил (в том числе 3-морфолинил и 4-морфолинил и т. д.), диоксанил, дитианил, изоксазолидинил, изотиазолидинил, 1,2-оксазинил, 1,2-тиазинил, гексагидропиридазинил, гомопиперазинил или гомопиперидинил и т.п.

Если не указано иное, термин "3-6-членный гетероциклоалкил" сам по себе или в комбинации с другими терминами соответственно относится к насыщенной циклической группе, состоящей из 3-6 атомов в кольце, из которых 1, 2, 3 или 4 атома в кольце представляют собой гетероатомы, независимо выбранные из O, S и N, а оставшиеся атомы представляют собой атомы углерода, где атом азота необязательно кватернизирован, и гетероатомы, представляющие собой азот и серу, необязательно окислены (т.е. NO и S(O)_p, где p равняется 1 или 2). Он включает моноциклические и бициклические системы, где бициклическая система включает спирокольца, конденсированные кольца и кольца, содержащие мостиковую связь. Более того, в случае "3-6-членного гетероциклоалкила" гетероатом может занимать положение, в котором гетероциклоалкил связан с остальной частью молекулы. 3-6-членный гетероциклоалкил включает 4-6-членный, 5-6-членный, 4-членный, 5-членный и 6-членный гетероциклоалкил и т.п. Примеры 3-6-членного гетероциклоалкила включают без ограничения азетидинил, оксетанил, тиетанил, пирролидинил, пиазолидинил, имидазолидинил, тетрагидротиенил (в том числе тетрагидротиен-2-ил и тетрагидротиен-3-ил и т. д.), тетрагидрофуранил (в том числе тетрагидрофуран-2-ил и т. д.), тетрагидропиранил, пиперидинил (в том числе 1-пиперидинил, 2-пиперидинил и 3-пиперидинил и т. д.), пиперазинил (в том числе 1-пиперазинил и 2-пиперазинил и т. д.), морфолинил (в том числе 3-морфолинил и 4-морфолинил и т. д.), диоксанил, дитианил, изоксазолидинил, изотиазолидинил, 1,2-оксазинил, 1,2-тиазинил, гексагидропиридазинил, гомопиперазинил или гомопиперидинил и т.п.

Если не указано иное, термины "C₆₋₁₀ароматическое кольцо" и "C₆₋₁₀арил" применяют взаимозаменяемо, и термин "C₆₋₁₀ароматическое кольцо" или "C₆₋₁₀арил" относится к циклической углеводородной группе, при этом она характеризуется сопряженной π-электронной системой, состоящей из 6-10 атомов углерода, которая может быть моноциклической, конденсированной бициклической или конденсированной трициклической системой, где каждое кольцо является ароматическим. Он может быть одновалентным, двухвалентным или многовалентным, и C₆₋₁₀арил включает C₆₋₉-, C₉-, C₁₀- и C₆арильную группу и т.п. Примеры C₆₋₁₀арила включают без ограничения фенил, нафтил (в том числе 1-нафтил и 2-нафтил и т. д.).

Если не указано иное, в настоящем изобретении термины "5-12-членное гетероароматическое кольцо" и "5-12-членный гетероарил" можно применять взаимозаменяемо, и термин "5-12-членный гетероарил" относится к кольцу, состоящему из 5-12 атомов в кольце и характеризующемуся сопряженной π-электронной системой, где 1, 2, 3 или 4 атома в кольце представляют собой гетероатомы, независимо выбранные из O, S и N, а другие атомы представляют собой атомы углерода. Это может быть моноциклическая, конденсированная бициклическая или конденсированная трициклическая система, где каждое кольцо является ароматическим. Атомы азота необязательно кватернизированы и гетероатомы, представляющие собой азот и серу, необязательно окислены (т. е. NO и S(O)_p, где p равняется 1 или 2). 5-12-членный гетероарил может быть связан с остальной частью молекулы посредством гетероатома или атома углерода. 5-12-членный гетероарил включает 5-10-членный, 5-9-членный, 5-8-членный, 5-7-членный, 5-6-членный, 5-членный и 6-членный гетероарил и т.п. Примеры 5-12-членного гетероарила включают без ограничения пирролил (в том числе N-пирролил, 2-пирролил и 3-пирролил и т. д.), пиазолил (в том числе 2-пиазолил и 3-пиазолил и т. д.), имидазолил (в том числе N-имидазолил, 2-имидазолил, 4-

имидазолил и 5-имидазолил и т.д.), оксазолил (в том числе 2-оксазолил, 4-оксазолил и 5-оксазолил и т.д.), триазолил (в том числе 1Н-1,2,3-триазолил, 2Н-1,2,3-триазолил, 1Н-1,2,4-триазолил и 4Н-1, 2,4-триазолил и т.д.), тетразолил, изоксазолил (3-изоксазолил, 4-изоксазолил и 5-изоксазолил и т.д.), тиазолил (в том числе 2-тиазолил, 4-тиазолил и 5-тиазолил и т.д.), фуранил (в том числе 2-фуранил и 3-фуранил и т.д.), тиенил (в том числе 2-тиенил и 3-тиенил и т.д.), пиридил (в том числе 2-пиридил, 3-пиридил и 4-пиридил и т.д.), пирозинил, пиримидинил (в том числе 2-пиримидинил и 4-пиримидинил и т.д.), бензотиазолил (в том числе 5-бензотиазолил и т.д.), пуридил, бензимидазолил (в том числе 2-бензимидазолил и т.д.), бензоксазолил, индолил (в том числе 5-индолил и т.д.), изохинолинил (в том числе 1-изохинолинил и т.д.) и 5-изохинолинил и т.д.), хиноксалинил (в том числе 2-хиноксалинил и 5-хиноксалинил и т.д.) или хинолинил (в том числе 3-хинолинил и 6-хинолинил и т.д.).

Если не указано иное, в настоящем изобретении термины "5-6-членное гетероароматическое кольцо" и "5-6-членный гетероарил" можно применять взаимозаменяемо, термин "5-6-членный гетероарил" относится к моноциклической группе, состоящей из 5-6 атомов в кольце и характеризующейся сопряженной π -электронной системой, где 1, 2, 3 или 4 атома в кольце представляют собой гетероатомы, независимо выбранные из O, S и N, а другие атомы представляют собой атомы углерода. Атомы азота необязательно кватернизированы и гетероатомы, представляющие собой азот и серу, необязательно окислены (т. е. NO и S(O)_p, где p равняется 1 или 2). 5-6-членный гетероарил может быть связан с остальной частью молекулы посредством гетероатома или атома углерода. 5-6-членный гетероарил включает 5-членный и 6-членный гетероарил и т.п. Примеры 5-6-членного гетероарила включают без ограничения пирролил (в том числе N-пирролил, 2-пирролил и 3-пирролил и т.д.), пиразолил (в том числе 2-пиразолил и 3-пирролил и т.д.), имидазолил (в том числе N-имидазолил, 2-имидазолил, 4-имидазолил и 5-имидазолил и т.д.), оксазолил (в том числе 2-оксазолил, 4-оксазолил и 5-оксазолил и т.д.), триазолил (в том числе 1Н-1,2,3-триазолил, 2Н-1,2,3-триазолил, 1Н-1,2,4-триазолил и 4Н-1,2,4-триазолил и т.д.), тетразолил, изоксазолил (3-изоксазолил, 4-изоксазолил и 5-изоксазолил и т.д.), тиазолил (в том числе 2-тиазолил, 4-тиазолил и 5-тиазолил и т.д.), фуранил (в том числе 2-фуранил и 3-фуранил и т.д.), тиенил (в том числе 2-тиенил и 3-тиенил и т.д.), пиридил (в том числе 2-пиридил, 3-пиридил и 4-пиридил и т.д.), пирозинил или пиримидинил (в том числе 2-пиримидинил и 4-пиримидинил и т.д.).

Если не указано иное, в настоящем изобретении термины "5-6-членное гетероароматическое кольцо" и "5-6-членный гетероарил" можно применять взаимозаменяемо, термин "5-6-членный гетероарил" относится к моноциклической группе, состоящей из 5-6 атомов в кольце и характеризующейся сопряженной π -электронной системой, где 1, 2, 3 или 4 атома в кольце представляют собой гетероатомы, независимо выбранные из O, S и N, а другие атомы представляют собой атомы углерода. Атомы азота необязательно кватернизированы и гетероатомы, представляющие собой азот и серу, необязательно окислены (т. е. NO и S(O)_p, где p равняется 1 или 2). 5-10-членный гетероарил может быть связан с остальной частью молекулы посредством гетероатома или атома углерода. 5-10-членный гетероарил включает 5-членный, 6-членный, 7-членный, 8-членный, 9-членный и 10-членный гетероарил и т.п. Примеры 5-10-членного гетероарила включают без ограничения пирролил (в том числе N-пирролил, 2-пирролил и 3-пирролил и т.д.), пиразолил (в том числе 2-пиразолил и 3-пирролил и т.д.), имидазолил (в том числе N-имидазолил, 2-имидазолил, 4-имидазолил и 5-имидазолил и т.д.), оксазолил (в том числе 2-оксазолил, 4-оксазолил и 5-оксазолил и т.д.), триазолил (в том числе 1Н-1,2,3-триазолил, 2Н-1,2,3-триазолил, 1Н-1,2,4-триазолил и 4Н-1,2,4-триазолил и т.д.), тетразолил, изоксазолил (3-изоксазолил, 4-изоксазолил и 5-изоксазолил и т.д.), тиазолил (в том числе 2-тиазолил, 4-тиазолил и 5-тиазолил и т.д.), фуранил (в том числе 2-фуранил и 3-фуранил и т.д.), тиенил (в том числе 2-тиенил и 3-тиенил и т.д.), пиридил (в том числе 2-пиридил, 3-пиридил и 4-пиридил и т.д.), пирозинил или пиримидинил (в том числе 2-пиримидинил и 4-пиримидинил и т.д.).

Если не указано иное, C_{n-n+m} или C_{n-Cn+m} включают любой из конкретных случаев от n до n+m атомов углерода, например, C₁₋₁₂ включает C₁, C₂, C₃, C₄, C₅, C₆, C₇, C₈, C₉, C₁₀, C₁₁ и C₁₂, и любой диапазон в пределах от n до n+m также включен, например C₁₋₁₂ включает C₁₋₃, C₁₋₆, C₁₋₉, C₃₋₆, C₃₋₉, C₃₋₁₂, C₆₋₉, C₆₋₁₂ и C₉₋₁₂ и т.п. Подобным образом от n-членный до n+m-членный означает, что число атомов в кольце составляет от n до n+m. Например, 3-12-членное кольцо включает 3-членное кольцо, 4-членное кольцо, 5-членное кольцо, 6-членное кольцо, 7-членное кольцо, 8-членное кольцо, 9-членное кольцо, 10-членное кольцо, 11-членное кольцо и 12-членное кольцо, и любой диапазон в пределах от n до n+m также включен. Например, 3-12-членное кольцо включает 3-6-членное кольцо, 3-9-членное кольцо, 5-6-членное кольцо, 5-7-членное кольцо, 5-10-членное кольцо, 6-7-членное кольцо, 6-8-членное кольцо и 6-10-членное кольцо и т.п.

Термин "уходящая группа" относится к функциональной группе или атому, которые могут быть замещены другой функциональной группой или атомом путем реакции замещения, такой как реакция замещения по аффинности. Например, иллюстративные уходящие группы включают трифторметансульфонат; хлор, бром и йод; сульфонатную группу, такую как метансульфонат, тозилат, пара-бромбензолсульфонат, пара-толуолсульфонат и т.д.; ацилокси, такой как ацетокси, трифторацетокси и т.д.

Термин "защитная группа" включает без ограничения "защитную группу для аминогруппы", "за-

щитную группу для гидроксила" или "защитную группу для меркаптогруппы". Термин "защитная группа для аминогруппы" относится к защитной группе, подходящей для предотвращения побочных реакций, происходящих при атоме азота аминогруппы. Иллюстративные защитные группы для аминогруппы включают без ограничения формил; ацил, такой как алканоил (например, ацетил, трихлорацетил или трифторацетил); алкоксикарбонил, такой как трет-бутоксикарбонил (Boc); арилметоксикарбонил, такой как бензилоксикарбонил (Cbz) и 9-флуоренилметоксикарбонил (Fmoc); арилметил, такой как бензил (Bn), трифенилметил (Tr), 1,1-бис-(4'-метоксифенил)метил; силил, такой как триметилсилил (TMS) и трет-бутилдиметилсилил (TBS) и т.п. Термин "защитная группа для гидроксигруппы" относится к защитной группе, подходящей для предупреждения побочных реакций с участием гидроксила. Иллюстративные защитные группы для гидроксила включают без ограничения алкил, такой как метил, этил и трет-бутил; ацил, такой как алканоил (например, ацетил); арилметил, такой как бензил (Bn), параметоксифенил (PMB), 9-флуоренилметил (Fm) и дифенилметил (бензгидрил, DPM); силил, такой как триметилсилил (TMS) и трет-бутилдиметилсилил (TBS) и т.п.

Соединения по настоящему изобретению могут быть получены посредством различных способов синтеза, хорошо известных специалистам в данной области техники, в том числе посредством конкретных вариантов осуществления, перечисленных ниже, вариантов осуществления, образованных путем их объединения с другими способами химического синтеза, и эквивалентных альтернатив, хорошо известным специалистам в данной области, при этом предпочтительные варианты реализации включают без ограничения варианты осуществления настоящего изобретения.

Применяемые в настоящем изобретении растворители являются коммерчески доступными.

Соединения по настоящему изобретению называют в соответствии с традиционными принципами номенклатуры в данной области техники или с применением программного обеспечения ChemDraw®, а для коммерчески доступных соединений применяют названия согласно каталогу поставщика.

Краткое описание графических материалов

На фиг. 1 показано влияние соединения 14 на рост объема опухоли в модели рака предстательной железы человека, полученной на основе подкожной ксенотрансплантатной опухоли из клеток VCaP у мышей CB17 SCID.

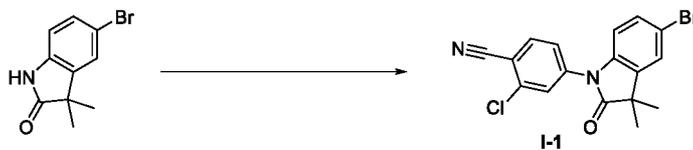
На фиг. 2 показано влияние соединения 14 на вес тела для модели рака предстательной железы человека, полученной на основе подкожной ксенотрансплантатной опухоли из клеток VCaP у мышей CB17 SCID.

Подробное описание вариантов осуществления

Настоящее изобретение описано более подробно с помощью вариантов осуществления ниже, но это не означает, что существуют какие-либо противоречащие ограничения в отношении настоящего изобретения. Настоящее изобретение было описано подробно в данном документе, где его конкретные варианты осуществления также раскрыты, и специалистам в данной области техники будет очевидно, что можно осуществлять различные модификации и улучшения по отношению к вариантам осуществления настоящего изобретения без отступления от сущности и объема настоящего изобретения.

Получение промежуточных соединений

Пример варианта осуществления 1. Получение промежуточного соединения I-1

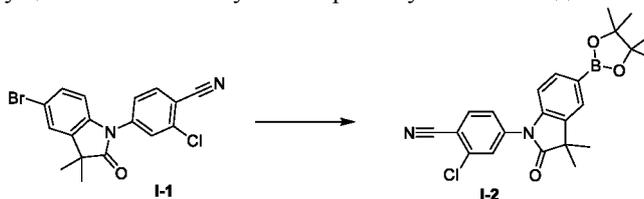


5-ром-3,3-диметил-1H-индол-2-он (3,50 г, 14,60 ммоль) и трет-бутоксид калия (2,46 г, 21,90 ммоль) растворяли в диметилсульфоксиде (50 мл) при комнатной температуре. После перемешивания смеси и обеспечения осуществления реакции в течение 30 мин к реакционному раствору добавляли 2-хлор-4-фторбензонитрил (2,72 г, 17,50 ммоль) и реакционный раствор перемешивали при 20°C в течение 20 ч. К реакционной системе добавляли воду (100 мл) и этилацетат (50 мл), органическую фазу отделяли и водную фазу экстрагировали этилацетатом (50 мл × 2). Органические фазы объединяли, промывали насыщенным солевым раствором (10 мл), высушивали с помощью безводного сульфата натрия и фильтровали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении и остаток очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-1.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$ 375,1;

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 8,18 (d, J=8,4 Гц, 1H), 7,96 (d, J=1,9 Гц, 1H), 7,76 (d, J=2,0 Гц, 1H), 7,70 (dd, J=8,4, 1,9 Гц, 1H), 7,44 (dd, J=8,4, 2,1 Гц, 1H), 6,93 (d, J=8,4 Гц, 1H), 1,42 (s, 6H).

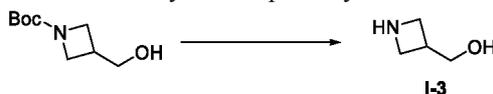
Пример варианта осуществления 2. Получение промежуточного соединения I-2



При комнатной температуре промежуточное соединение I-1 (1,00 г, 2,67 ммоль), бис-(пинаколато)дибор (1,08 г, 4,01 ммоль), [1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроцен]дихлорпалладий(II) (195 мг, 0,27 ммоль) и ацетат калия (785 мг, 8,01 ммоль) растворяли в диоксане (40 мл), трижды проводили замену атмосферы в реакционном растворе на азот и затем нагревали до 90°C и перемешивали в течение двух часов. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, и остаток отделяли, и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-2.

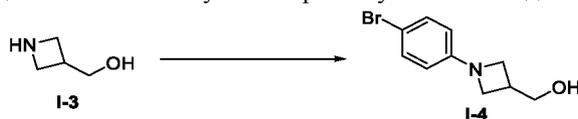
LC-MS (ESI) $[M+H]^+$ 423,3.

Пример варианта осуществления 3. Получение промежуточного соединения I-3



При 25°C 3-гидроксиметил-N-Вос-азетидин (1,00 г, 5,34 ммоль) растворяли в смеси хлористоводородная кислота/диоксан (10 мл) и обеспечивали осуществление реакции при комнатной температуре в течение 5 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, промежуточного соединения I-3, и затем неочищенный продукт применяли непосредственно для следующей реакции без очистки.

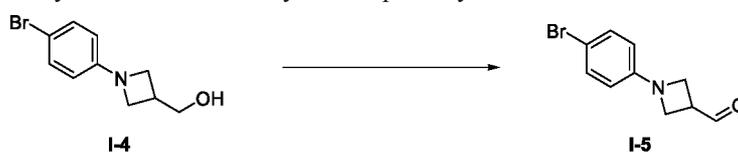
Пример варианта осуществления 4. Получение промежуточного соединения I-4



При 25°C промежуточное соединение I-3 (800,00 мг) растворяли в диметилсульфоксиде (20 мл), затем последовательно добавляли карбонат калия (2,21 г, 16,02 ммоль), пара-бромйодбензол (1,81 г, 6,41 ммоль), L-пролин (123,19 мг, 1,07 ммоль) и йодид меди (203,78 мг, 1,07 ммоль). Реакционный раствор перемешивали при 90°C в течение 16 ч в защитной атмосфере азота. После охлаждения реакционного раствора до комнатной температуры реакционный раствор добавляли к воде (50 мл) и экстрагировали этилацетатом (50 мл × 3). Органические фазы объединяли, промывали насыщенным солевым раствором (50 мл), высушивали с помощью безводного сульфата натрия, фильтровали и высушивали в центробежной сушилке. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением остатка и остаток очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-4.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 242,0.

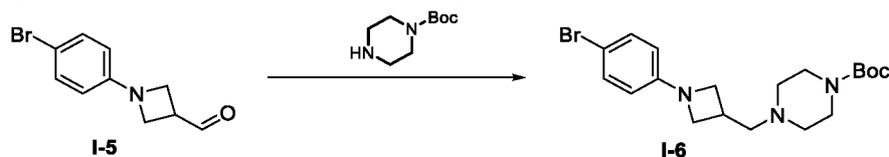
Пример варианта осуществления 5. Получение промежуточного соединения I-5



Оксалилхлорид (420,11 мг, 3,31 ммоль) растворяли в дихлорметане (10 мл) и смесь охлаждали до -60°C, медленно добавляли диметилсульфоксид (532,07 мг, 6,81 ммоль) и реакционный раствор перемешивали при -60°C в течение 0,5 ч. Затем добавляли раствор промежуточного соединения I-4 (500,00 мг, 2,07 ммоль) в дихлорметане (5 мл). После перемешивания реакционного раствора при -60°C в течение 1 ч добавляли триэтиламин (1,05 г, 10,35 ммоль) и реакционный раствор дополнительно перемешивали при -60°C в течение 0,5 ч. После повышения температуры реакционного раствора до комнатной температуры и перемешивания в течение 0,5 ч добавляли воду (20 мл), затем экстрагировали дихлорметаном (20 мл × 3). Органические фазы объединяли, промывали насыщенным солевым раствором (20 мл), высушивали с помощью безводного сульфата натрия и фильтровали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением остатка и остаток очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-5.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 240,0.

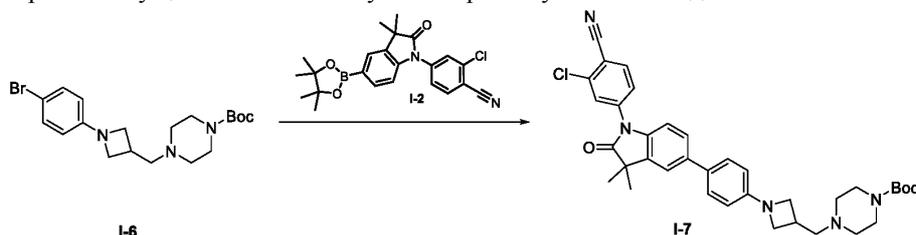
Пример варианта осуществления 6. Получение промежуточного соединения I-6



При 25°C промежуточное соединение I-5 (200,00 мг, 0,83 ммоль) растворяли в дихлорметане (10 мл), последовательно добавляли 1-Вос-пиперазин (232,72 мг, 1,25 ммоль), триацетоксиборгидрид натрия (353,09 мг, 1,67 ммоль) и уксусную кислоту (5,00 мг, 0,083 ммоль) и реакционный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. К реакционной системе добавляли воду (10 мл) и реакционную систему экстрагировали дихлорметаном (10 мл×3). Органические фазы объединяли, промывали насыщенным солевым раствором (10 мл), высушивали с помощью безводного сульфата натрия и фильтровали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением остатка и остаток очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-6.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 410,2.

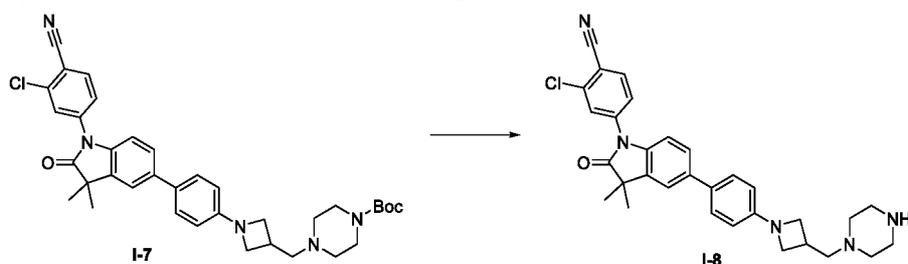
Пример варианта осуществления 7. Получение промежуточного соединения I-7



Промежуточное соединение I-6 (200,00 мг, 0,48 ммоль) растворяли в смешанном растворе диоксан/вода (8 мл/2 мл), затем последовательно добавляли карбонат калия (194,93 мг, 1,41 ммоль), промежуточное соединение I-2 (239,52 мг, 0,56 ммоль) и [1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроцен]дихлорпалладий(II) (68,78 мг, 0,094 ммоль). Реакционный раствор перемешивали при 80°C в течение 16 ч в защитной атмосфере азота. Реакционный раствор охлаждали до комнатной температуры, добавляли воду (10 мл) и экстрагировали этилацетатом (10 мл × 3). Органические фазы объединяли, промывали насыщенным солевым раствором (10 мл), высушивали с помощью безводного сульфата натрия и фильтровали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением остатка и остаток очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-7.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 626,4.

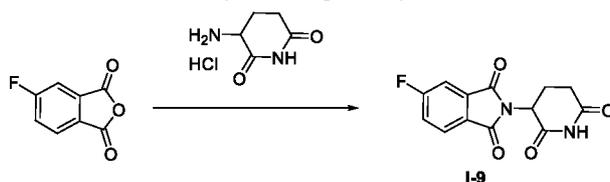
Пример варианта осуществления 8. Получение промежуточного соединения I-8



Промежуточное соединение I-7 (200,00 мг, 0,32 ммоль) растворяли в дихлорметане (4 мл), затем добавляли трифторуксусную кислоту (2 мл) и реакционный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционный раствор концентрировали при пониженном давлении с получением остатка и остаток очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-8.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 526,3.

Пример варианта осуществления 9. Получение промежуточного соединения I-9

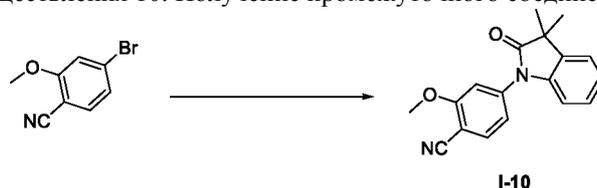


Гидрохлорид 3-аминопиперидин-2,6-диона (991 мг, 6,02 ммоль) и ацетат натрия (988 мг, 12,04 ммоль) добавляли к раствору 4-фторфталевого ангидрида (1,0 г, 6,02 ммоль) в уксусной кислоте (10 мл) при комнатной температуре. Обеспечивали осуществление реакции в реакционной смеси при

120°C в течение 16 ч. Реакционный раствор охлаждали до комнатной температуры и концентрировали при пониженном давлении с удалением большого количества растворителя, представляющего собой уксусную кислоту. Остаток выливали в воду (25 мл), перемешивали в течение 10 мин и фильтровали. Осадок на фильтре промывали водой (20 мл × 2) и высушивали *in vacuo* с получением промежуточного соединения I-9.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 11,14 (s, 1H), 8,01 (dd, J=8,3, 4,5 Гц, 1H), 7,85 (dd, J=7,5, 2,3 Гц, 1H), 7,76-7,69 (m, 1H), 5,16 (dd, J=12,8, 5,4 Гц, 1H), 2,95-2,83 (m, 1H), 2,65-2,51 (m, 2H), 2,11-2,02 (m, 1H).

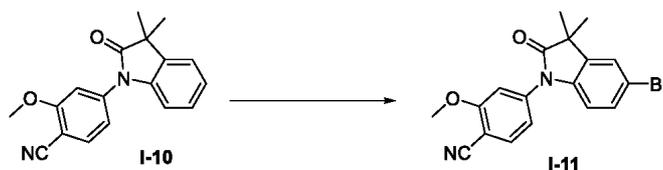
Пример варианта осуществления 10. Получение промежуточного соединения I-10



2-Метокси-4-бромбензонитрил (6,20 г, 29,20 ммоль), 3,3-диметил-1-гидроиндол-2-он (4,71 г, 29,20 ммоль), (1R,2R)-N,N'-диметил-1,2-циклогександиамин (1,66 г, 11,70 ммоль), йодид меди (1,11 г, 5,84 ммоль) и карбонат калия (8,07 г, 58,40 ммоль) добавляли к N-метилпирролидону (100 мл). Реакционную систему перемешивали при 140°C в атмосфере аргона в течение ночи. После охлаждения реакционной смеси до комнатной температуры реакционную смесь выливали в воду (50 мл), экстрагировали этилацетатом (100 мл × 2) и органические фазы объединяли. Органические фазы промывали насыщенным соевым раствором (200 мл), высушивали с помощью безводного сульфата натрия и фильтровали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с удалением органического растворителя и неочищенный продукт разделяли и очищали с помощью хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-10.

LCMS (ESI) [M+H]⁺: 293,1.

Пример варианта осуществления 11. Получение промежуточного соединения I-11

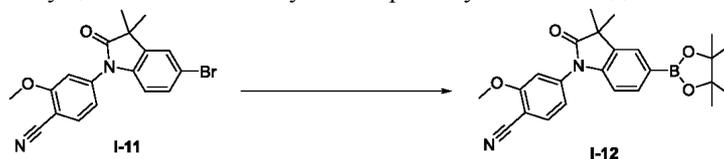


Промежуточное соединение I-10 (530 мг, 1,81 ммоль) и ацетат натрия (148 мг, 1,81 ммоль) растворяли в уксусной кислоте (8 мл) и добавляли к раствору жидкого брома (347 мг, 2,17 ммоль) в уксусной кислоте (2 мл) с перемешиванием при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали и обеспечивали осуществление реакции при комнатной температуре в течение ночи. Реакционную смесь выливали в воду (100 мл), экстрагировали этилацетатом (20 мл × 2) и органические фазы объединяли. Органические фазы промывали насыщенным раствором бикарбоната натрия (50 мл × 2), насыщенным соевым раствором (50 мл), высушивали с помощью безводного сульфата натрия и фильтровали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с удалением органического растворителя с получением промежуточного соединения I-11.

LC-MS (ESI) [M+H]⁺: 371,2.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,69 (d, J=8,7 Гц, 1H), 7,41 (d, J=2,0 Гц, 1H), 7,36 (dd, J=8,4, 2,0 Гц, 1H), 7,12 - 7,05 (m, 2H), 6,84 (d, J=8,4 Гц, 1H), 3,96 (s, 3H), 1,49 (s, 6H).

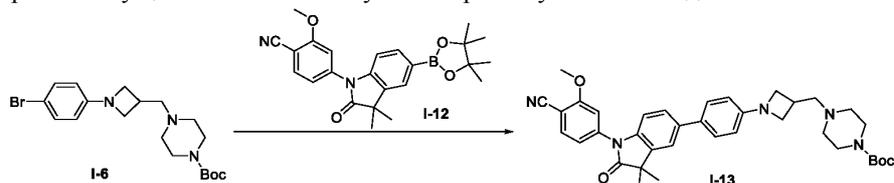
Пример варианта осуществления 12. Получение промежуточного соединения I-12



При 25°C промежуточное соединение I-11 (500 мг, 1,35 ммоль) растворяли в диоксане (10 мл), затем к этому последовательно добавляли бис-(пинаколато)дифтор (448 мг, 1,75 ммоль), [1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроцен]дихлорпалладий(II) (95 мг, 0,13 ммоль) и ацетат калия (264 мг, 2,7 ммоль). Смесь перемешивали при 80°C в течение ночи в защитной атмосфере азота. После завершения реакции реакционный раствор выливали в воду (20 мл) и экстрагировали этилацетатом (20 мл × 3). Органические фазы объединяли и промывали насыщенным соевым раствором (30 мл), высушивали с помощью безводного сульфата натрия и фильтровали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с удалением органического растворителя с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт отделяли и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-12.

^1H ЯМР (400 МГц, MeOH- d_4) δ 7,82 (d, $J=8,00$ Гц, 1H), 7,76 (s, 1H), 7,70 (dd, $J=1,13, 7,88$ Гц, 1H), 7,33 (d, $J=1,50$ Гц, 1H), 7,16 - 7,23 (m, 1H), 7,00 (d, $J=8,00$ Гц, 1H), 4,01 (s, 3H), 1,50 (s, 6H), 1,23 - 1,29 (m, 12H).

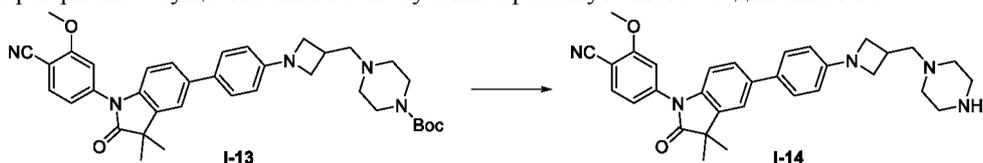
Пример варианта осуществления 13. Получение промежуточного соединения I-13



Промежуточное соединение I-6 (150 мг, 0,366 ммоль), промежуточное соединение I-12 (152 мг, 0,363 ммоль) и фосфат калия (232 мг, 1,09 ммоль) растворяли в смешанном растворе тетрагидрофуран/вода (5 мл/5 мл). В защитной атмосфере аргона добавляли при перемешивании [2'-(амино)[1,1'-бифенил]-2-ил][[2',6'-бис-(1-метилэтокси)[1,1'-бифенил]-2-ил]дициклогексилфосфин]хлорпалладий (28 мг, 0,036 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 70°C в течение 8 ч в защитной атмосфере аргона. Реакционный раствор разбавляли водой (10 мл) и экстрагировали этилацетатом (20 мл \times 3). Органические фазы объединяли и промывали насыщенным солевым раствором (30 мл \times 2), высушивали с помощью безводного сульфата натрия и фильтровали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с удалением органического растворителя с получением остатка. Остаток отделяли и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-13.

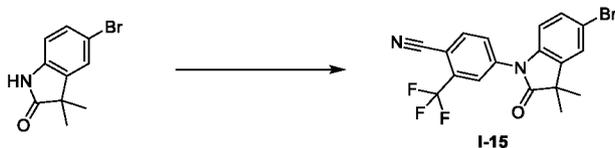
LC-MS (ESI) $[M+H]^+$ 622,5.

Пример варианта осуществления 14. Получение промежуточного соединения I-14



Промежуточное соединение I-13 (166 мг, 0,267 ммоль) растворяли в дихлорметане (5 мл), затем добавляли трифторуксусную кислоту (1 мл). Реакционную смесь перемешивали и обеспечивали осуществление реакции при комнатной температуре в течение 16 ч. Реакционный раствор концентрировали с получением неочищенного продукта промежуточного соединения I-14 и затем неочищенный продукт применяли непосредственно для следующей реакции без очистки.

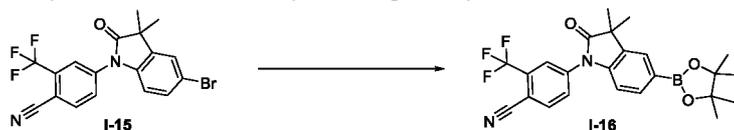
Пример варианта осуществления 15. Получение промежуточного соединения I-15



5-Бром-3,3-диметил-1H-индол-2-он (5,76 г, 24,00 ммоль) и 4-фтор-2-(трифторметил)фенил-ацетонитрил (6,81 г, 36,00 ммоль) растворяли в диметилсульфоксиде (60 мл), добавляли трет-бутоксид калия (4,04 г, 36,00 ммоль) при комнатной температуре и реакционный раствор перемешивали при 20°C в течение 5 ч. К реакционной системе добавляли воду (30 мл) и экстрагировали этилацетатом (30 мл \times 3). Органические фазы объединяли, промывали насыщенным солевым раствором (30 мл), высушивали с помощью безводного сульфата натрия и фильтровали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении, и остаток отделяли, и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-15.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 8,37 (d, $J=8,3$ Гц, 1H), 8,18 (d, $J=1,6$ Гц, 1H), 8,05 (dd, $J=8,3, 1,8$ Гц, 1H), 7,77 (d, $J=2,0$ Гц, 1H), 7,45 (dd, $J=8,4, 2,1$ Гц, 1H), 6,97 (d, $J=8,4$ Гц, 1H), 1,44 (s, 6H).

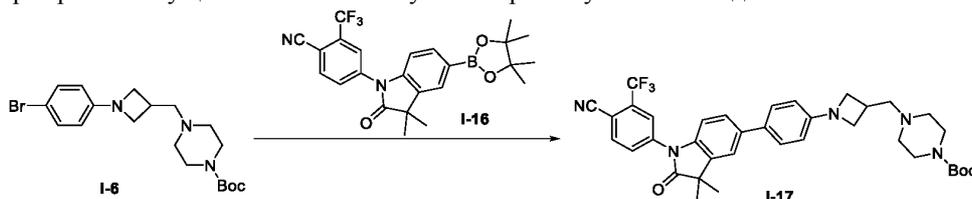
Пример варианта осуществления 16. Получение промежуточного соединения I-16



При 25°C промежуточное соединение I-15 (200 мг, 0,48 ммоль) растворяли в диоксане (10 мл), затем последовательно добавляли бис-(пинаcolato)дистор (185 мг, 0,73 ммоль), ацетат калия (95 мг, 0,13 ммоль) и [1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроцен]дихлорпалладий(II) (35 мг, 0,048 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 80°C в течение 12 ч в защитной атмосфере азота. Реакционный раствор охлаждали до комнатной температуры, концентрировали при пониженном давлении с удалением органического растворителя с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт отделяли и очи-

шали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-16.
LCMS(ESI) $[M+H]^+$: 457,18.

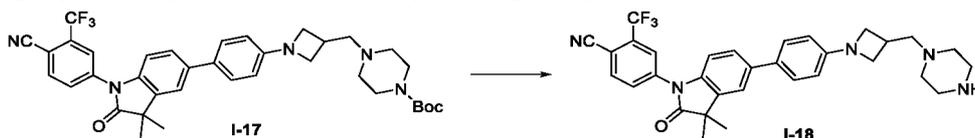
Пример варианта осуществления 17. Получение промежуточного соединения I-17



Промежуточное соединение I-6 (150 мг, 0,36 ммоль), промежуточное соединение I-16 (250 мг, 0,55 ммоль) и фосфат калия (235 мг, 1,11 ммоль) растворяли в смешанном растворе тетрагидрофурана и воды (8 мл/2 мл). В защитной атмосфере аргона добавляли при перемешивании [2'-(амино)[1,1'-бифенил]-2-ил]дидициклогексилфосфин]хлорпалладий (29 мг, 0,037 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 60°C в течение 5 ч в защитной атмосфере аргона. Реакционный раствор разбавляли водой (10 мл) и экстрагировали этилацетатом (20 мл × 3). Органические фазы объединяли и промывали насыщенным соевым раствором (30 мл × 2), высушивали с помощью безводного сульфата натрия, затем фильтровали и фильтрат концентрировали при пониженном давлении с удалением органического растворителя с получением остатка, представляющего собой промежуточное соединение I-17. Остаток отделяли и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-17.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 660,4.

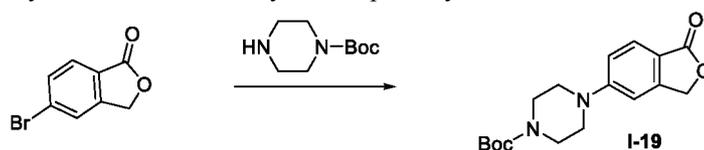
Пример варианта осуществления 18. Получение промежуточного соединения I-18



Промежуточное соединение I-17 (160 мг, 0,24 ммоль) растворяли в дихлорметане (5 мл), затем добавляли трифторуксусную кислоту (1 мл). Реакционную смесь перемешивали и обеспечивали осуществление реакции при комнатной температуре в течение 6 ч. Реакционный раствор концентрировали с получением неочищенного продукта промежуточного соединения I-18 и затем неочищенный продукт применяли непосредственно для следующей реакции без очистки.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 560,4.

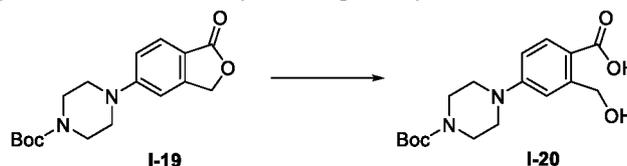
Пример варианта осуществления 19. Получение промежуточного соединения I-19



5-Бромфталид (3,00 г, 14,08 ммоль) растворяли в 1,4-диоксане (50 мл), затем последовательно добавляли 1-Бос-пиперазин (2,62 г, 14,08 ммоль), 4,5-бис-(дифенилфосфино)-9,9-диметилксантен (816 мг, 1,41 ммоль), трис-(дипенилиден)ацетон)дипалладий (1,29 г, 1,41 ммоль) и фосфат калия (5,97 г, 28,16 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 100°C в течение 10 ч в защитной атмосфере аргона. Реакционный раствор охлаждали до комнатной температуры, фильтровали, концентрировали при пониженном давлении с получением остатка, и остаток отделяли, и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-19.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 319,3.

Пример варианта осуществления 20. Получение промежуточного соединения I-20

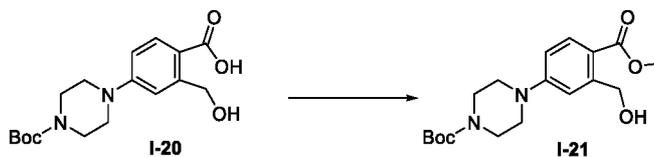


Промежуточное соединение I-19 (1,00 г, 3,14 ммоль) растворяли в смеси метанол/вода/тетрагидрофуран (30 мл, 1:1:1) и добавляли гидроксид натрия (502 мг, 12,56 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч. Регулировали pH реакционного раствора до ниже 5 с помощью водного раствора HCl (1 M) и экстрагировали этилацетатом (50 мл × 3). Органические фазы объединяли и промывали насыщенным соевым раствором (50 мл × 2), высушивали с помощью безводного сульфата натрия. Смесь фильтровали, фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением остатка

и остаток отделяли и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-20.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 337,0.

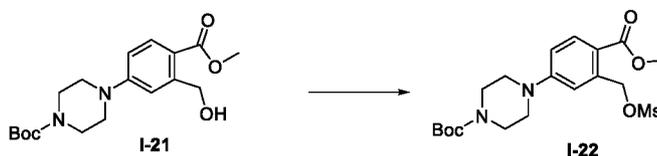
Пример варианта осуществления 21. Получение промежуточного соединения I-21



Промежуточное соединение I-20 (600 мг, 1,78 ммоль) растворяли в смеси метанол/этилацетат (20 мл, 1:1) и добавляли (триметилсилил)дiazометан (611 мг, 5,35 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при -10°C в течение 0,25 ч. После концентрирования реакционного раствора при пониженном давлении остаток разбавляли водой (30 мл) и экстрагировали этилацетатом (30 мл \times 3). Органические фазы объединяли и промывали насыщенным солевым раствором (50 мл \times 2), высушивали с помощью безводного сульфата натрия. Смесь фильтровали, фильтрат концентрировали при пониженном давлении с удалением органического растворителя с получением неочищенного продукта промежуточного соединения I-21. Затем неочищенный продукт применяли непосредственно для следующей реакции без очистки.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 351,2.

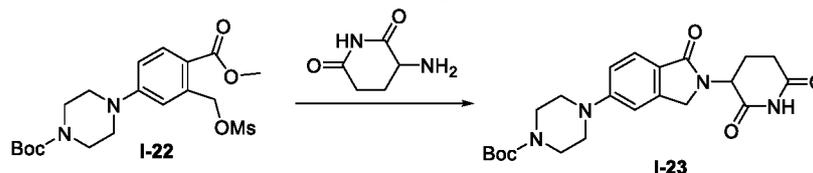
Пример варианта осуществления 22. Получение промежуточного соединения I-22



Промежуточное соединение I-21 (400 мг) растворяли в дихлорметане (20 мл) и добавляли метансульфонилхлорид (170 мг, 1,48 ммоль) и триэтиламин (346 мг, 3,42 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 2 ч. После концентрирования реакционного раствора при пониженном давлении с получением остатка остаток добавляли к воде (30 мл) и экстрагировали этилацетатом (30 мл \times 3). Органические фазы объединяли и промывали насыщенным солевым раствором (50 мл \times 2), высушивали с помощью безводного сульфата натрия. Смесь фильтровали, фильтрат концентрировали при пониженном давлении с удалением органического растворителя с получением неочищенного продукта промежуточного соединения I-22. Затем неочищенный продукт применяли непосредственно для следующей реакции без очистки.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 429,0.

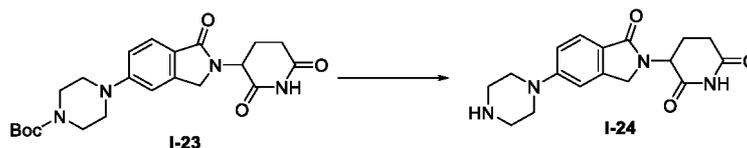
Пример варианта осуществления 23. Получение промежуточного соединения I-23



Промежуточное соединение I-22 (350 мг) растворяли в ацетонитриле (20 мл) и добавляли 3-амино-2,6-пиперидиндион (157 мг, 1,23 ммоль) и N,N-диизопропилэтиламин (318 мг, 2,46 ммоль). Реакционную смесь перемешивали и обеспечивали осуществление реакции при 80°C в течение 16 ч. Реакционный раствор охлаждали до комнатной температуры, затем фильтровали, фильтрат концентрировали при пониженном давлении с удалением органического растворителя с получением остатка и остаток отделяли и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-23.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 429,1.

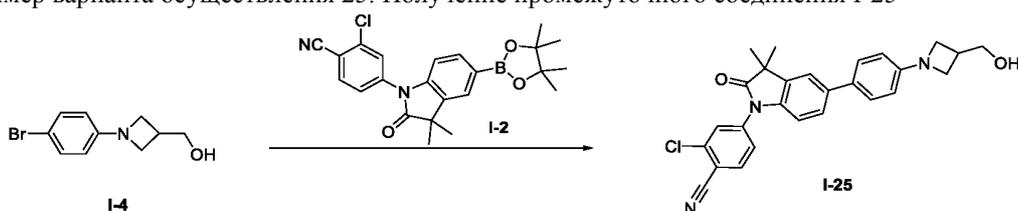
Пример варианта осуществления 24. Получение промежуточного соединения I-24



Промежуточное соединение I-23 (200 мг, 0,467 ммоль) растворяли в дихлорметане (20 мл), затем добавляли трифторуксусную кислоту (160 мг, 1,40 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч. Реакционный раствор концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток отделяли и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-24.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 329,2.

Пример варианта осуществления 25. Получение промежуточного соединения I-25



Промежуточное соединение I-4 (1,00 г, 4,13 ммоль), промежуточное соединение I-2 (2,09 г, 4,96 ммоль) и фосфат калия (2,63 г, 12,4 ммоль) растворяли в смешанном растворе диоксана (100 мл) и воды (20 мл). В защитной атмосфере аргона добавляли при перемешивании [1,1'-бис-(дифенил-фосфино)ферроцен]дихлорпалладий(II) (302 мг, 0,41 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 100°C в течение 16 ч. Реакционный раствор охлаждали до комнатной температуры, концентрировали при пониженном давлении с удалением органического растворителя с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт разделяли и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-25.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 458,3.

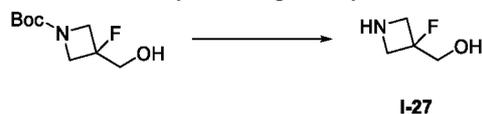
Пример варианта осуществления 26. Получение промежуточного соединения I-26



Промежуточное соединение I-25 (300 мг, 0,655 ммоль) растворяли в этилацетате (30 мл), затем добавляли к полученному 2-йодбензойную кислоту (1,47 г, 5,24 ммоль). Реакционную смесь перемешивали и обеспечивали осуществление реакции при 100°C в течение 3 ч. Реакционный раствор фильтровали и фильтрат концентрировали с получением неочищенного продукта промежуточного соединения I-26 и затем неочищенный продукт применяли непосредственно для следующей реакции без очистки.

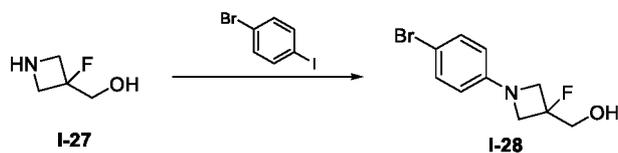
LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 456,0.

Пример варианта осуществления 27. Получение промежуточного соединения I-27



трет-Бутил-3-фтор-3-(гидроксиметил)азетидин-1-карбоксилат (50 мг, 1,70 ммоль) растворяли в дихлорметане (5 мл) и затем добавляли трифторуксусную кислоту (3 мл). Реакционный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение ночи в защитной атмосфере азота. Реакционный раствор концентрировали с получением неочищенного продукта промежуточного соединения I-27 и затем неочищенный продукт применяли непосредственно для следующей реакции без очистки.

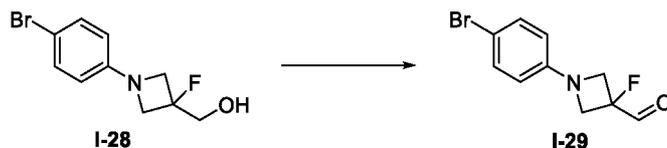
Пример варианта осуществления 28. Получение промежуточного соединения I-28



Промежуточное соединение I-27 (179 мг, 1,70 ммоль), пара-бромйодбензол (482 мг, 1,70 ммоль), L-пролин (78 мг, 0,68 ммоль) растворяли в N,N-диметилформамиде (10 мл), добавляли карбонат калия (1,18 г, 8,54 ммоль) и йодид меди (65 мг, 0,34 ммоль). Реакционный раствор перемешивали при 80°C в течение ночи в защитной атмосфере азота. Реакционный раствор охлаждали до комнатной температуры и разбавляли этилацетатом (60 мл). Органическую фазу промывали водой (30 мл) и насыщенным соевым раствором (30 мл), высушивали с помощью безводного сульфата натрия и фильтровали. Фильтрат концентрировали с получением остатка, и остаток отделяли, и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-28.

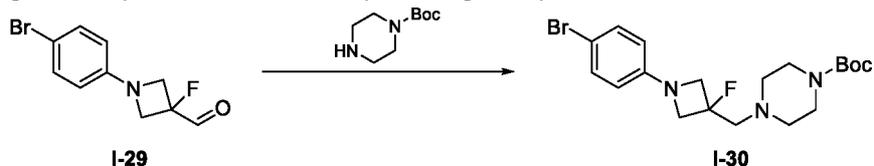
LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 260,0.

Пример варианта осуществления 29. Получение промежуточного соединения I-29



Промежуточное соединение I-28 (200 мг, 0,77 ммоль) растворяли в дихлорметане (6 мл), затем добавляли периодиан Десса-Мартина (388 мг, 0,92 ммоль). Реакционный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение ночи в защитной атмосфере азота. Реакционный раствор фильтровали и фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток отделяли и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-29.

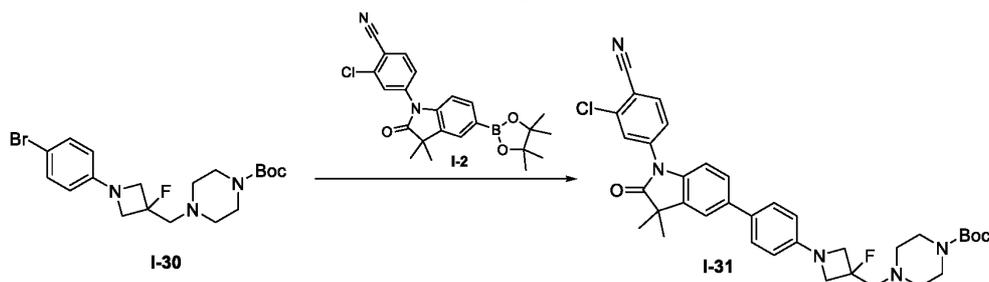
Пример варианта осуществления 30. Получение промежуточного соединения I-30



Промежуточное соединение I-29 (200 мг), N-Вос-пиперазин (218 мг, 1,17 ммоль) растворяли в 1,2-дихлорэтане (6 мл), добавляли уксусную кислоту (20 мг) и триацетоксиборгидрид натрия (331 мг, 1,56 ммоль). Реакционный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение ночи в защитной атмосфере азота. Реакционный раствор концентрировали с получением остатка и остаток отделяли и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-30.

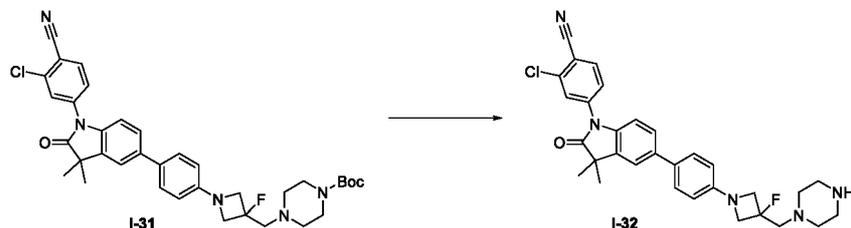
LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 428,0.

Пример варианта осуществления 31. Получение промежуточного соединения I-31



Промежуточное соединение I-30 (50 мг, 0,12 ммоль), промежуточное соединение I-2 (59 мг, 0,14 ммоль) и карбонат калия (40 мг, 0,29 ммоль) растворяли в смешанном растворе диоксан/вода (объем 4 мл: 1 мл), добавляли [1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроцен]дихлорпалладий(II) (8 мг, 0,011 ммоль). Реакционный раствор перемешивали при 85°C в течение ночи в защитной атмосфере азота. Реакционный раствор охлаждали до комнатной температуры, концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток отделяли и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-31.

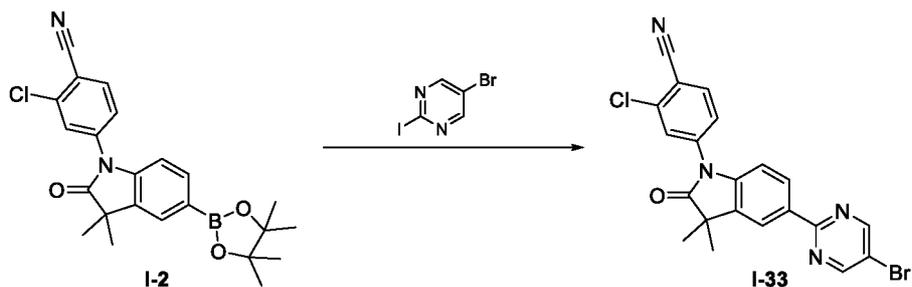
Пример варианта осуществления 32. Получение промежуточного соединения I-32



Промежуточное соединение I-31 (45 мг, 0,070 ммоль) растворяли в дихлорметане (4 мл), затем добавляли трифторуксусную кислоту (2 мл). Реакционный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение ночи в защитной атмосфере азота. Реакционный раствор концентрировали с получением неочищенного продукта промежуточного соединения I-32 и затем неочищенный продукт применяли непосредственно для следующей реакции без очистки.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 544,3.

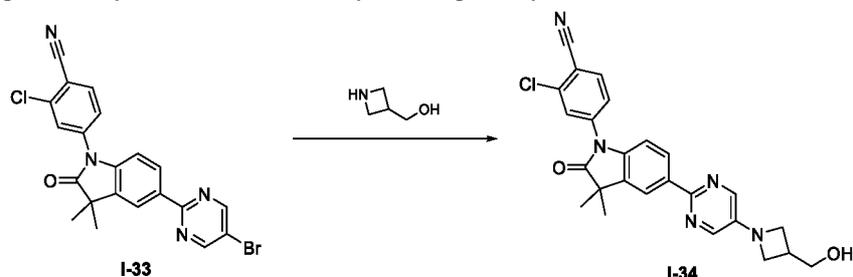
Пример варианта осуществления 33. Получение промежуточного соединения I-33



При 25°C промежуточное соединение I-2 (150,00 мг, 0,35 ммоль) растворяли в диоксане (8 мл) и воде (2 мл), затем последовательно добавляли карбонат калия (147,13 мг, 1,06 ммоль), 5-бром-2-йодпиримидин (122,50 мг, 0,43 ммоль), [1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроцен]дихлорпалладий(II) (51,95 мг, 0,071 ммоль). Реакционный раствор перемешивали при 80°C в течение 16 ч в защитной атмосфере азота. Реакционный раствор охлаждали до комнатной температуры, разбавляли водой (10 мл) и экстрагировали этилацетатом (10 мл × 3). Органические фазы объединяли, промывали насыщенным соевым раствором (10 мл), высушивали с помощью безводного сульфата натрия, фильтровали и концентрировали с получением остатка. Остаток отделяли и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-33.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 453,0.

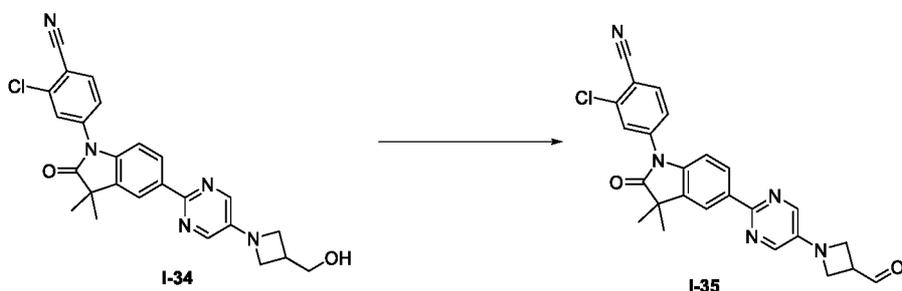
Пример варианта осуществления 34. Получение промежуточного соединения I-34



При 25°C промежуточное соединение I-33 (140,00 мг, 0,31 ммоль) растворяли в диметилсульфоксиде (5 мл), затем последовательно добавляли карбонат калия (128,54 мг, 0,93 ммоль), 3-гидрокси-метилазетидин (32,26 мг, 0,37 ммоль), L-пролин (7,18 мг, 0,062 ммоль) и йодид меди (11,81 мг, 0,062 ммоль), и трижды проводили замену атмосферы системы на азот, и обеспечивали осуществление реакции при 90°C в течение 16 ч в атмосфере азота из баллона. К реакционному раствору добавляли воду (10 мл) и экстрагировали этилацетатом (10 мл × 3). Органические фазы объединяли, промывали насыщенным соевым раствором (10 мл), высушивали с помощью безводного сульфата натрия, фильтровали и концентрировали с получением остатка. Остаток отделяли и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-34.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 460,2.

Пример варианта осуществления 35. Получение промежуточного соединения I-35

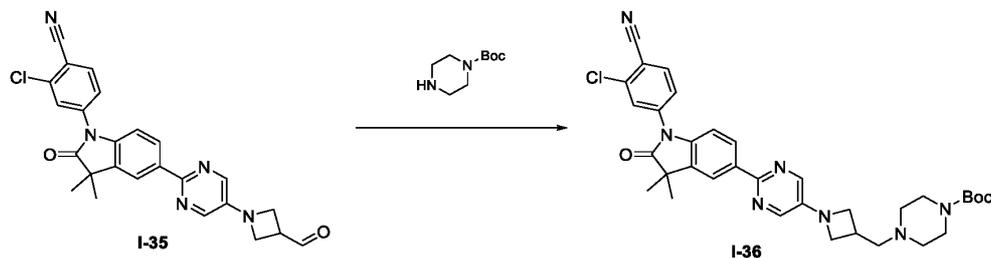


При 25°C оксалилхлорид (22,85 мг, 0,18 ммоль) растворяли в дихлорметане (10 мл) и смесь охлаждали до -60°C, медленно добавляли диметилсульфоксид (28,36 мг, 0,36 ммоль) и реакционный раствор перемешивали при -60°C в течение 0,5 ч. Затем добавляли раствор промежуточного соединения I-34 (50,00 мг, 0,11 ммоль) в дихлорметане (5 мл) и дополнительно перемешивали при -60°C в течение 0,5 ч. Добавляли триэтиламин (55,65 мг, 0,55 ммоль) и реакционный раствор дополнительно перемешивали при -60°C в течение 1 ч. Повышали температуру реакционного раствора до комнатной температуры, разбавляли водой (10 мл) и экстрагировали дихлорметаном (10 мл × 3). Органические фазы объединяли, промывали насыщенным соевым раствором (10 мл), высушивали с помощью безводного сульфата натрия, фильтровали и концентрировали с получением остатка. Остаток отделяли и очищали посредством

хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-35.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 458,2.

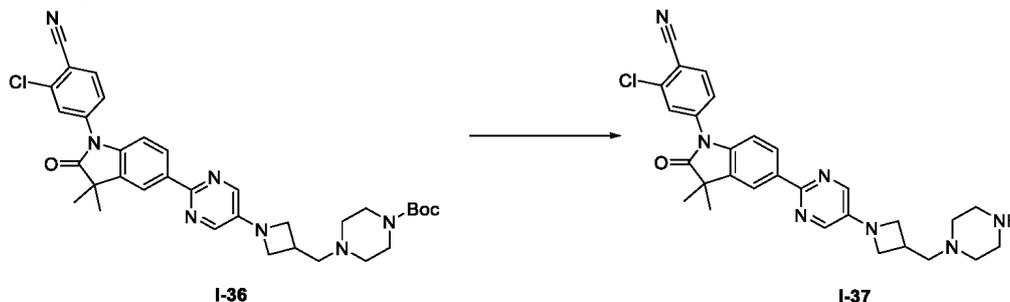
Пример варианта осуществления 36. Получение промежуточного соединения I-36



При 25°C промежуточное соединение I-35 (45,00 мг, 0,098 ммоль) растворяли в дихлорметане (5 мл), последовательно добавляли I-Бос-пиперазин (27,94 мг, 0,15 ммоль), триацетоксидборгидрид натрия (42,39 мг, 0,20 ммоль) и уксусную кислоту (0,60 мг, 0,0098 ммоль) и обеспечивали осуществление реакции в реакционном растворе при комнатной температуре в течение 3 ч. К реакционному раствору добавляли воду (10 мл) и реакционный раствор экстрагировали дихлорметаном (10 мл × 3). Органические фазы объединяли, промывали насыщенным солевым раствором (10 мл), высушивали с помощью безводного сульфата натрия, фильтровали и концентрировали с получением остатка. Остаток отделяли и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-36.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 628,4.

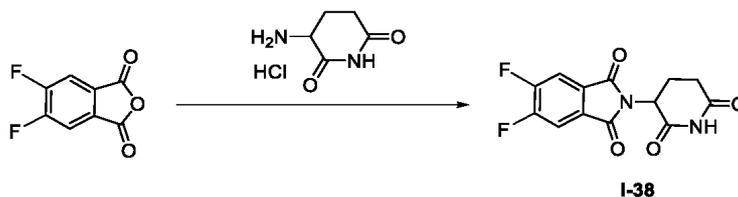
Пример варианта осуществления 37. Получение промежуточного соединения I-37



При 25°C промежуточное соединение I-36 (25,00 мг, 0,040 ммоль) растворяли в дихлорметане (2 мл) и добавляли трифторуксусную кислоту (1 мл). Обеспечивали осуществление реакции в реакционной смеси при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционный раствор концентрировали с получением неочищенного продукта промежуточного соединения I-37 и затем неочищенный продукт применяли непосредственно для следующей реакции без очистки.

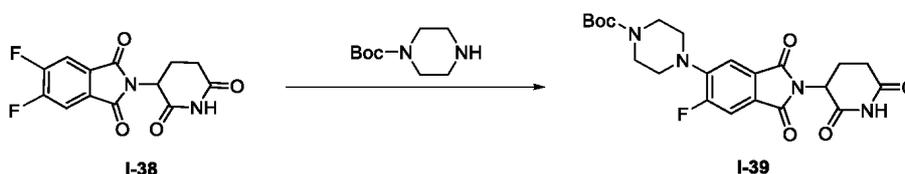
LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 528,3.

Пример варианта осуществления 38. Получение промежуточного соединения I-38



4,5-Дифторфталевый ангидрид (1,00 г, 5,43 ммоль) растворяли в ледяной уксусной кислоте (20,0 мл) и последовательно добавляли при перемешивании ацетат натрия (894 мг, 10,9 ммоль) и гидрохлорид 3-амино-2,6-пиперидиндиона (894 мг, 5,43 ммоль). Реакционную смесь перемешивали и обеспечивали осуществление реакции при 120°C в течение 16 ч в защитной атмосфере аргона. Реакционный раствор охлаждали до комнатной температуры, выливали в воду (100 мл) и осаждали большее количество твердых веществ, фильтровали, осадок на фильтре промывали водой (10,0 мл × 2) и осадок на фильтре высушивали с получением промежуточного соединения I-38.

Пример варианта осуществления 39. Получение промежуточного соединения I-39



Промежуточное соединение I-38 (1,40 г, 4,76 ммоль) растворяли в безводном диметилсульфоксиде (20,0 мл), последовательно добавляли диизопропилэтиламин (1,23 г, 9,52 ммоль) и 1-трет-бутоксикарбонилпиперазин (887 мг, 4,76 ммоль). Реакционную смесь перемешивали и обеспечивали осуществление реакции при 110°C в течение 16 ч в защитной атмосфере аргона. Реакционный раствор охлаждали до комнатной температуры, выливали в воду (100 мл) и экстрагировали этилацетатом (50,0 мл × 3). Органические фазы объединяли и промывали насыщенным солевым раствором (50,0 мл × 2), высушивали с помощью безводного сульфата натрия. Смесь фильтровали, фильтрат концентрировали при пониженном давлении с удалением органического растворителя с получением остатка, и остаток отделяли, и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-39.

LC-MS (ESI) $[M+H]^{+}$: 405,2.

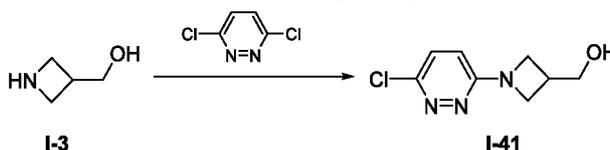
Пример варианта осуществления 40. Получение промежуточного соединения I-40



Промежуточное соединение I-39 (600 мг, 1,30 ммоль) растворяли в растворе гидрохлорида диоксана (25,0 мл). Реакционную смесь перемешивали и обеспечивали осуществление реакции при комнатной температуре в течение 1 ч в защитной атмосфере аргона. Смесь концентрировали при пониженном давлении с удалением органического растворителя, остаток добавляли к воде (100 мл) и регулировали pH системы до 8,0 с помощью насыщенного водного раствора бикарбоната натрия. Смесь экстрагировали дихлорметаном (50,0 мл × 3), органические фазы объединяли и промывали насыщенным солевым раствором (50,0 мл × 2), высушивали с помощью безводного сульфата натрия. Реакционный раствор фильтровали и фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта промежуточного соединения I-40, и затем неочищенный продукт применяли непосредственно для следующей реакции без очистки.

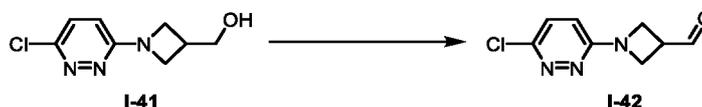
LC-MS (ESI) $[M+H]^{+}$: 361,2.

Пример варианта осуществления 41. Получение промежуточного соединения I-41



Промежуточное соединение I-3 (230,00 мг), 3,6-дихлорпиридазин (589,93 мг, 3,960 ммоль) и карбонат калия (1,09 г, 7,920 ммоль) суспендировали в N,N-диметилформамиде (15,0 мл) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали на масляной бане при 80°C в течение 3 ч. Реакционный раствор охлаждали до комнатной температура естественным образом, разбавляли водой (20,0 мл) и экстрагировали этилацетатом (20,0 мл × 3). Органическую фазу высушивали с помощью безводного сульфата натрия, фильтровали, фильтрат концентрировали с получением остатка и остаток отделяли и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-41.

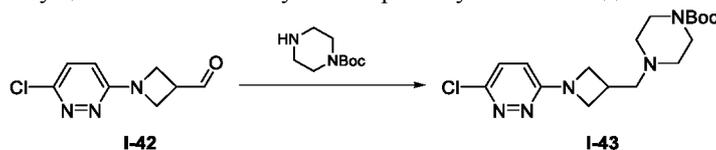
Пример варианта осуществления 42. Получение промежуточного соединения I-42



При -78°C оксалилхлорид (305,16 мг, 2,400 ммоль) растворяли в дихлорметане (10,0 мл), и медленно добавляли по каплям диметилсульфоксид (250,47 мг, 3,210 ммоль), и реакционный раствор перемешивали при -78°C в течение 0,5 ч. Промежуточное соединение I-41 (160,00 мг, 0,801 ммоль) растворяли в дихлорметане (5,0 мл), и добавляли по каплям к реакционной системе, и продолжали перемешивание при -78°C в течение 1 ч. Триэтиламин (486,61 мг, 4,810 ммоль) добавляли по каплям к реакционной системе, и смесь перемешивали в течение 0,5 ч, и затем естественным образом повышали ее температуру до комнатной температуры. Для разбавления добавляли воду (30 мл) и реакционный раствор экстрагировали дихлорметаном (20 мл × 3). Органическую фазу высушивали с помощью безводного сульфата натрия, фильтровали, фильтрат концентрировали с получением остатка и остаток отделяли и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-42.

LC-MS (ESI) $[M+H]^{+}$: 197,8.

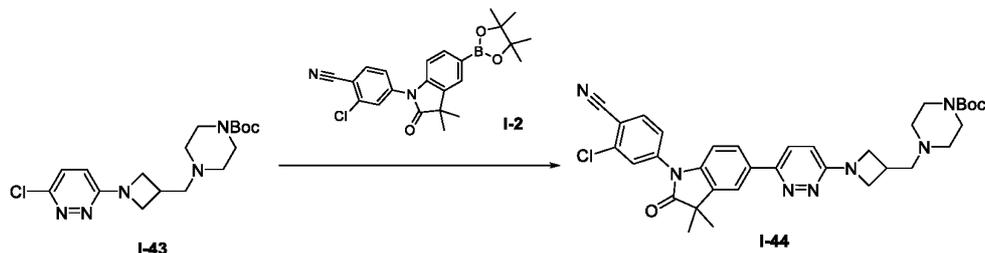
Пример варианта осуществления 43. Получение промежуточного соединения I-43



Промежуточное соединение I-42 (150,00 мг, 0,76 ммоль) и N-Вос-пиперазин (155,51 мг, 0,83 ммоль) растворяли в 1,2-дихлорэтане (15,0 мл), затем добавляли к этому триацетоксиборгидрид натрия (377,61 мг, 1,60 ммоль). Реакционный раствор перемешивали в течение 3 ч. Добавляли воду (30 мл) и реакционный раствор экстрагировали дихлорметаном (30 мл × 3). Органическую фазу высушивали с помощью безводного сульфата натрия, фильтровали, фильтрат концентрировали с получением остатка и остаток отделяли и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-43.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 368,3.

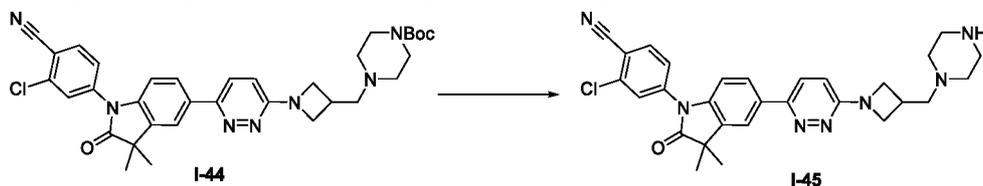
Пример варианта осуществления 44. Получение промежуточного соединения I-44



В защитной атмосфере азота промежуточное соединение I-43 (50,00 мг, 0,136 ммоль), I-2 (68,94 мг, 0,163 ммоль), [1,1''-бис-(дифенилфосфино)ферроцен]дихлорпалладий(II) (9,93 мг, 0,014 ммоль), карбонат калия (46,96 мг, 0,340 ммоль) суспендировали в смеси 1,4-диоксан/вода (4,0 мл/1,0 мл). Реакционную смесь перемешивали на масляной бане при 80°C в течение 3 ч. После охлаждения до комнатной температуры нерастворимое вещество удаляли посредством фильтрования с отсасыванием и фильтрат концентрировали с получением остатка. Остаток отделяли и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-44.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 628,4.

Пример варианта осуществления 45. Получение промежуточного соединения I-45



При комнатной температуре промежуточное соединение I-44 (60,00 мг, 0,096 ммоль) растворяли в дихлорметане (2,0 мл), затем добавляли трифторуксусную кислоту (1,0 мл). Реакционный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч и реакционный раствор концентрировали с получением неочищенного продукта промежуточного соединения I-45, и затем неочищенный продукт применяли непосредственно для следующей реакции без очистки.

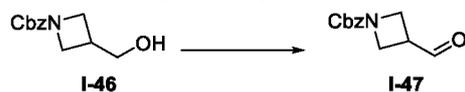
LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 528,3.

Пример варианта осуществления 46. Получение промежуточного соединения I-46



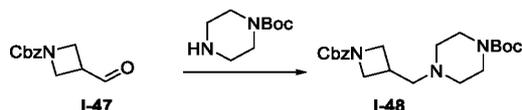
Промежуточное соединение I-3 (694,00 мг) растворяли в дихлорметане (10 мл) при комнатной температуре, затем последовательно добавляли триэтиламин (2,42 г, 23,90 ммоль) и бензилхлорформиат (1,36 г, 7,97 ммоль) и реакционный раствор перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакционный раствор выливали в воду (50 мл) и экстрагировали дихлорметаном (20 мл × 3). Органические фазы объединяли, высушивали с помощью безводного сульфата натрия и фильтровали. Фильтрат концентрировали с получением остатка. Остаток отделяли и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-46.

Пример варианта осуществления 47. Получение промежуточного соединения I-47



Оксалилхлорид (773,60 мг, 6,10 ммоль) растворяли в дихлорметане (5 мл), и в защитной атмосфере азота при -60°C добавляли безводный диметилсульфоксид (2,16 г, 27,71 ммоль), и реакционный раствор перемешивали в течение 0,5 ч. Затем добавляли раствор промежуточного соединения I-46 (1,23 г, 5,54 ммоль) в дихлорметане (5 мл) и реакционную смесь перемешивали при -60°C в течение 0,5 ч. Добавляли триэтиламин (2,80 г, 27,71 ммоль), температуру реакционной смеси медленно поднимали до комнатной температуры после добавления по каплям, реакционный раствор выливали в воду (50 мл), экстрагировали этилацетатом (20 мл \times 3), высушивали с помощью безводного сульфата натрия и фильтровали. Фильтрат концентрировали с получением неочищенного продукта промежуточного соединения I-47 и затем неочищенный продукт применяли непосредственно для следующей реакции без очистки.

Пример варианта осуществления 48. Получение промежуточного соединения I-48



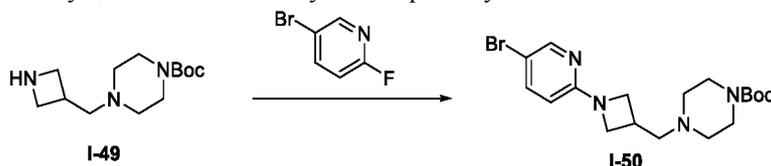
Промежуточное соединение I-47 (1,25 г), N-Вос-пиперазин (1,58 г, 8,55 ммоль) растворяли в дихлорэтане (15 мл), добавляли при комнатной температуре уксусную кислоту (684,77 мг, 11,40 ммоль) и триацетоксиборгидрид натрия (1,81 г, 8,55 ммоль). Реакционный раствор перемешивали в течение ночи при комнатной температуре, и реакционный раствор выливали в насыщенный раствор бикарбоната натрия (30 мл), и экстрагировали этилацетатом (20 мл \times 3). Органические слои объединяли, высушивали с помощью безводного сульфата натрия и фильтровали. Фильтрат концентрировали с получением остатка. Остаток отделяли и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-48.

Пример варианта осуществления 49. Получение промежуточного соединения I-49



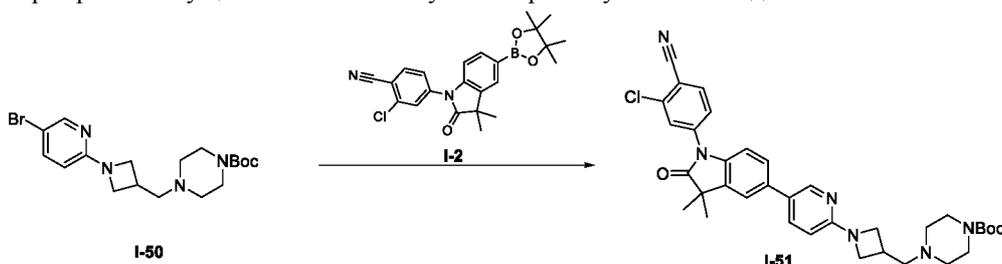
При комнатной температуре промежуточное соединение I-48 (1,70 г, 4,36 ммоль) растворяли в метанол (20 мл), затем добавляли палладий на угле (500 мг, 10 мас.%). Реакционный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение ночи в атмосфере водорода. Реакционный раствор фильтровали и фильтрат концентрировали с получением неочищенного продукта промежуточного соединения I-49 и затем неочищенный продукт применяли непосредственно для следующей реакции без очистки.

Пример варианта осуществления 50. Получение промежуточного соединения I-50



Промежуточное соединение I-49 (100,00 мг) и 2-фтор-5-бромпиридин (103,38 мг, 0,59 ммоль) растворяли в N,N-диметилформамиде (5 мл) при комнатной температуре и добавляли карбонат калия (162,36 мг, 1,17 ммоль). Реакционный раствор нагревали и перемешивали при 80°C в течение ночи в защитной атмосфере азота. Реакционный раствор охлаждали до комнатной температуры, выливали в воду (50 мл), затем экстрагировали этилацетатом (20 мл \times 3). Органические фазы объединяли, высушивали с помощью безводного сульфата натрия и фильтровали. Фильтрат концентрировали с получением остатка, и остаток отделяли, и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-50.

Пример варианта осуществления 51. Получение промежуточного соединения I-51

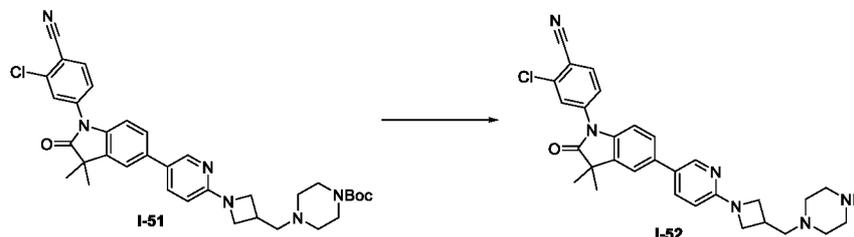


Промежуточные соединения I-50 (110,00 мг, 0,27 ммоль), I-2 (112,76 мг, 0,27 ммоль) растворяли в смеси диоксана и воды (5 мл/2 мл) при комнатной температуре и добавляли 1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроцендихлорпалладий(II) (19,74 мг, 0,027 ммоль) и карбонат калия (111,78 мг, 0,81 ммоль). Реакционный раствор перемешивали при 80°C в течение 2 ч в защитной атмосфере азота.

Реакционный раствор охлаждали до комнатной температуры, выливали в воду (50 мл) и экстрагировали этилацетатом (20 мл × 3). Органические фазы объединяли, высушивали с помощью безводного сульфата натрия и фильтровали. Фильтрат концентрировали с получением остатка, и остаток отделяли, и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-51.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 627,4.

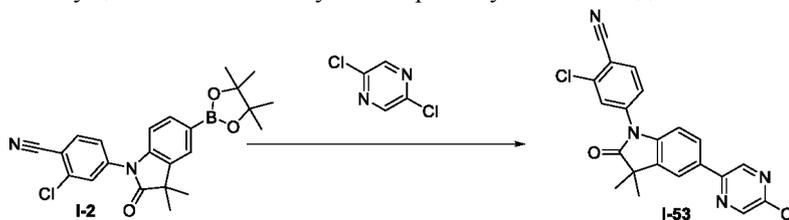
Пример варианта осуществления 52. Получение промежуточного соединения I-52



Промежуточное соединение I-51 (100 мг, 0,159 ммоль) растворяли в растворе хлороводорода в этилацетате (3 М, 8 мл) при комнатной температуре. Реакционный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч и реакционный раствор концентрировали с получением неочищенного продукта промежуточного соединения I-52, и затем неочищенный продукт применяли непосредственно для следующей реакции без очистки.

LCMS (ESI) $[M+H]^+$: 527,3.

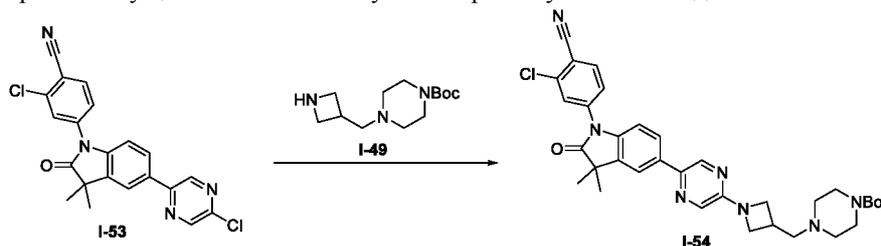
Пример варианта осуществления 53. Получение промежуточного соединения I-53



Промежуточные соединения I-2 (75,00 мг, 0,18 ммоль), 2,5-дихлорпиризин (52,86 мг, 0,35 ммоль) растворяли в смеси тетрагидрофурана и воды (5 мл/2 мл) при комнатной температуре и добавляли тетратрифенилфосфинпалладий (20,50 мг, 0,018 ммоль) и карбонат калия (73,56 мг, 0,53 ммоль). Реакционный раствор перемешивали при 80°C в течение 2 ч в защитной атмосфере азота. Реакционный раствор охлаждали до комнатной температуры, затем выливали в воду (50 мл) и экстрагировали этилацетатом (20 мл × 3). Органические фазы высушивали с помощью безводного сульфата натрия и фильтровали. Фильтрат концентрировали с получением остатка, и остаток отделяли, и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-53.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 441,2.

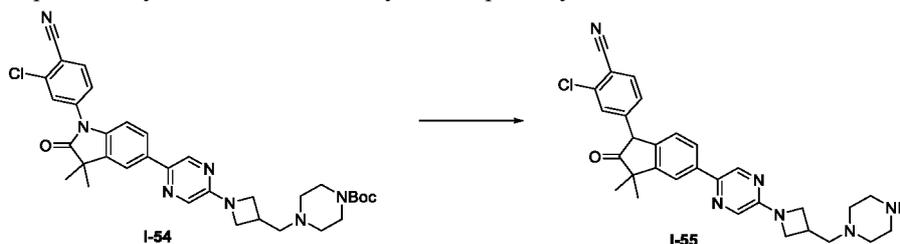
Пример варианта осуществления 54. Получение промежуточного соединения I-54



Промежуточные соединения I-53 (70,00 мг, 0,17 ммоль) и I-49 (52,41 мг, 0,21 ммоль) растворяли в N,N-диметилформамиде (5 мл) при комнатной температуре. Добавляли карбонат калия (70,91 мг, 0,51 ммоль). Реакционный раствор перемешивали при 80°C в течение ночи в защитной атмосфере азота. Реакционный раствор охлаждали до комнатной температуры, выливали в воду (50 мл), затем экстрагировали этилацетатом (20 мл × 3). Органические фазы объединяли, высушивали с помощью безводного сульфата натрия и фильтровали. Фильтрат концентрировали с получением остатка, и остаток отделяли, и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-54.

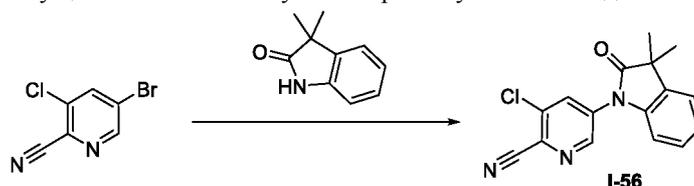
LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 628,4.

Пример варианта осуществления 55. Получение промежуточного соединения I-55



При комнатной температуре промежуточное соединение I-54 (60,00 мг, 0,096 ммоль) растворяли в дихлорметане (3 мл), затем добавляли трифторуксусную кислоту (1 мл). Реакционный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч с получением неочищенного продукта промежуточного соединения I-55 и затем неочищенный продукт применяли непосредственно для следующей реакции без очистки.

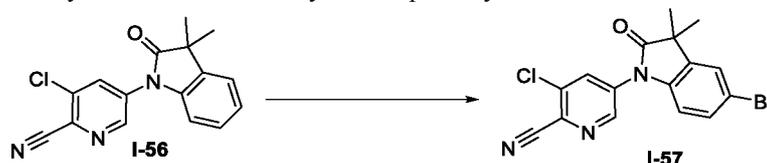
Пример варианта осуществления 56. Получение промежуточного соединения I-56



5-Бром-3-хлорпиридин-2-карбонитрил (2,00 г, 9,20 ммоль) растворяли в N-метилпирролидоне (80,0 мл) и последовательно добавляли промежуточное соединение 3,3-диметилиндол-2-она (1,48 г, 9,20 моль), йодид меди (350 мг, 1,84 моль), N,N-диметил-1,2-циклогександиамин (523 мг, 3,68 ммоль) и безводный ацетат калия (2,71 г, 27,6 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 100°C в течение 16 ч в защитной атмосфере аргона. Реакционный раствор охлаждали до комнатной температуры и разделяли и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-56.

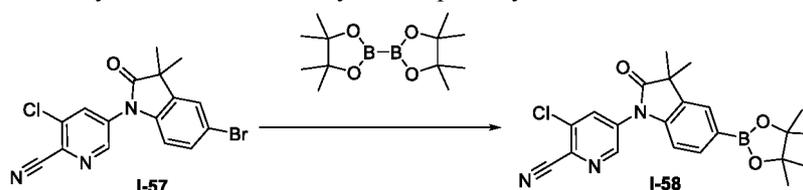
LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 298,1.

Пример варианта осуществления 57. Получение промежуточного соединения I-57



Промежуточное соединение I-56 (1,35 г, 4,53 ммоль) растворяли в уксусной кислоте (20,0 мл), систему охлаждали до 0°C, добавляли безводный ацетат натрия (446 мг, 5,44 ммоль) и добавляли по каплям раствор брома (796 мг, 4,98 ммоль) в уксусной кислоте (10,0 мл). После добавления по каплям реакционную систему помещали в защитную атмосферу аргона и перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Регулировали pH системы до 8,0 с помощью насыщенного водного раствора бикарбоната натрия. Смесь экстрагировали этилацетатом (30,0 мл × 3), органические фазы объединяли и высушивали с помощью безводного сульфата натрия, фильтровали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с удалением органического растворителя с получением неочищенного продукта промежуточного соединения I-57. Затем неочищенный продукт применяли непосредственно для следующей реакции без очистки. LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 376,0.

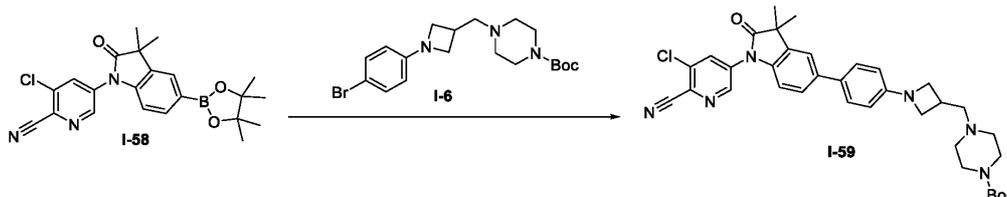
Пример варианта осуществления 58. Получение промежуточного соединения I-58



Промежуточное соединение I-57 (600 мг, 1,59 ммоль) растворяли в безводном диоксане (100 мл), затем последовательно добавляли к этому бис-(пинаколато)дибор (485 мг, 1,91 ммоль), безводный ацетат калия (485 мг, 1,91 ммоль), 1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроцендихлорпалладий(II) (23,3 мг, 0,032 ммоль). Реакционную систему перемешивали при 90°C в течение 3 ч в защитной атмосфере аргона. Смесь концентрировали при пониженном давлении с удалением растворителя с получением остатка, и остаток отделяли, и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-58.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$ 424,2.

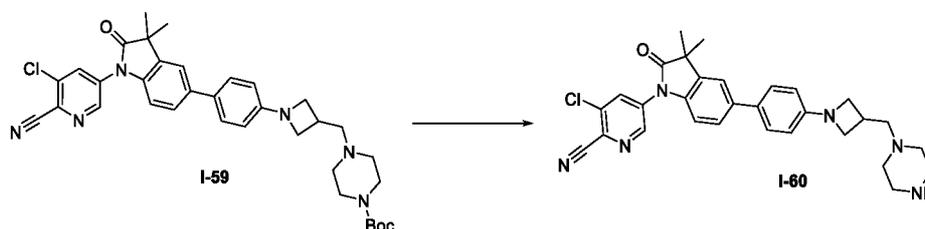
Пример варианта осуществления 59. Получение промежуточного соединения I-59



Промежуточное соединение I-6 (150 мг, 0,366 ммоль) растворяли в смеси безводного диоксана и воды (15 мл/5 мл), затем последовательно добавляли промежуточное соединение I-58 (186 мг, 0,439 ммоль), безводный фосфат калия (233 мг, 1,10 ммоль), дихлорид 1,1'-бис-(ди-трет-бутилфосфино)ферроценпалладия (4,77 мг, 0,00732 ммоль). Реакционную систему перемешивали и обезпечивали осуществление реакции при 100°C в течение 3 ч в защитной атмосфере аргона. Смесь концентрировали при пониженном давлении с удалением растворителя с получением остатка, и остаток отделяли, и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-59.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$ 627,3.

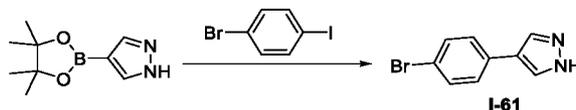
Пример варианта осуществления 60. Получение промежуточного соединения I-60



Промежуточное соединение I-59 (110 мг, 0,175 ммоль) растворяли в безводном дихлорметане (2,00 мл), затем добавляли трифторуксусную кислоту (0,60 мл), обезпечивали осуществление реакции в реакционной системе в защитной атмосфере аргона и перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Смесь концентрировали при пониженном давлении с удалением растворителя с получением остатка, и остаток отделяли, и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-60.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$ 527,2.

Пример варианта осуществления 61. Получение промежуточного соединения I-61



Сложный пинаколовый эфир 4-пиразолбороновой кислоты (2,00 г, 10,3 ммоль), парабромйодбензол (4,39 г, 15,5 ммоль), фосфат калия (4,37 г, 20,6 ммоль) и [1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроцен]дихлорпалладий(II) (377 мг, 0,52 ммоль) смешивали в N,N-диметилформамиде (20 мл) и воде (4 мл). После трехкратной замены атмосферы реакционной смеси на аргон при комнатной температуре реакционную смесь перемешивали и обезпечивали осуществление реакции при 90°C в течение 4 ч в атмосфере аргона. Смесь охлаждали до комнатной температуры, выливали в воду (200 мл), экстрагировали этилацетатом (50 мл × 3), органические фазы объединяли, промывали насыщенным соевым раствором (50 мл), высушивали с помощью безводного сульфата натрия, фильтровали и фильтрат концентрировали при пониженном давлении до остатка. Остаток отделяли и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-61.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 223,2.

Пример варианта осуществления 62. Получение промежуточного соединения I-62

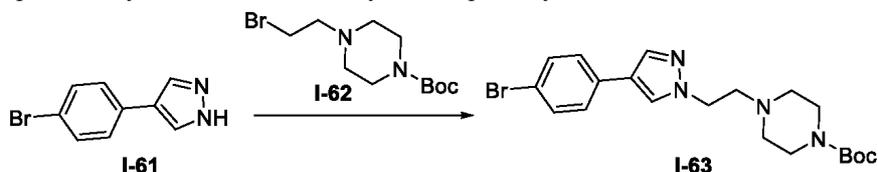


При комнатной температуре сложный трет-бутиловый эфир 4-(2-гидроксипропил)пиперазин-1-карбоновой кислоты (2 г, 8,68 ммоль) и тетрабромид углерода (3,15 г, 9,50 ммоль) добавляли в безводный дихлорметан (20 мл) и затем добавляли раствор трифенилфосфина (2,51 г, 9,57 ммоль) в дихлорметане (8 мл). Реакционную систему перемешивали при комнатной температуре в течение ночи в защитной атмосфере азота. Реакционный раствор концентрировали при пониженном давлении с удалением органического растворителя с получением остатка и остаток отделяли и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-62.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 293,1.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 3,45 - 3,22 (m, 6H), 2,72 (t, $J=7,3$ Гц, 2H), 2,50 - 2,25 (m, 4H), 1,61-1,43 (m, 2H), 1,39 (s, 9H).

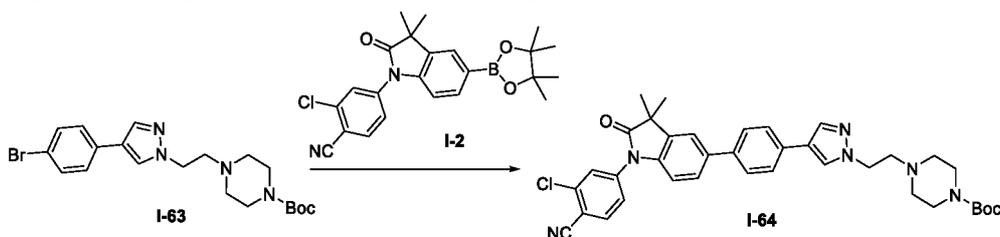
Пример варианта осуществления 63. Получение промежуточного соединения I-63



Промежуточное соединение I-61 (270 мг, 1,21 ммоль) растворяли в *N,N*-диметилформамиде (3 мл) и к смеси при 0°C добавляли гидрид натрия (72,8 мг, 1,82 ммоль, чистота 60%, в минеральном масле), реакционную смесь перемешивали и обеспечивали осуществление реакции при комнатной температуре в течение 0,5 ч, и добавляли по каплям при комнатной температуре раствор промежуточного соединения I-62 (355 мг, 1,21 ммоль) в *N,N*-диметилформамиде (2 мл). Реакционную смесь перемешивали и обеспечивали осуществление реакции при комнатной температуре в течение ночи. Реакционный раствор выливали в насыщенный раствор хлорида аммония (50 мл), экстрагировали этилацетатом (15 мл \times 3), объединяли органическую фазу, промывали насыщенным соевым раствором (30 мл), высушивали с помощью безводного сульфата натрия, фильтровали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта промежуточного соединения I-63 и затем неочищенный продукт применяли непосредственно для следующей реакции без очистки.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 435,1.

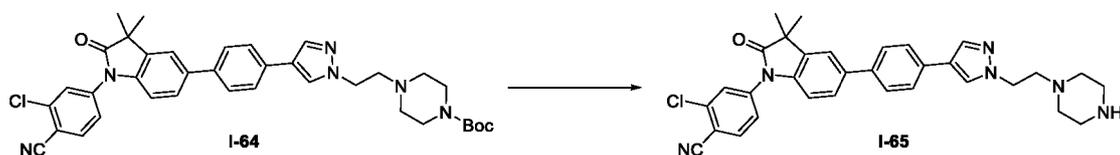
Пример варианта осуществления 64. Получение промежуточного соединения I-64



Промежуточное соединение I-63 (200 мг), промежуточное соединение I-2 (233 мг, 0,551 ммоль), фосфат калия (195 мг, 0,918 ммоль) и $[1,1'$ -бис-(дифенилфосфино)ферроцен]дихлорпалладий(II) (16,8 мг, 0,0230 ммоль) смешивали в *N,N*-диметилформамиде (10 мл) и воде (2 мл). После трехкратной замены атмосферы на аргон при комнатной температуре реакционную смесь перемешивали и обеспечивали осуществление реакции при 100°C в течение 2 ч в защитной атмосфере аргона. Реакционный раствор охлаждали до комнатной температуры, выливали в воду (100 мл), экстрагировали этилацетатом (20 мл \times 3). Органические фазы объединяли, промывали насыщенным соевым раствором (30 мл), высушивали с помощью безводного сульфата натрия, фильтровали и фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток отделяли и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-64.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 651,2.

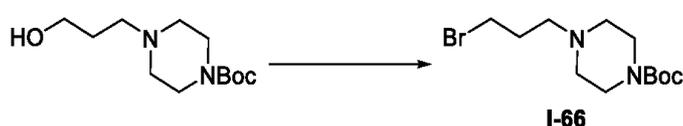
Пример варианта осуществления 65. Получение промежуточного соединения I-65



Промежуточное соединение I-64 (200 мг) растворяли в дихлорметане (2 мл) и раствор хлороводорода в диоксане (4 М, 1 мл) добавляли по каплям к раствору при комнатной температуре с перемешиванием. Реакционную смесь перемешивали и обеспечивали осуществление реакции при комнатной температуре в течение 0,5 ч. Растворитель удаляли из смеси при пониженном давлении. Остаток отделяли и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-65.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 551,3.

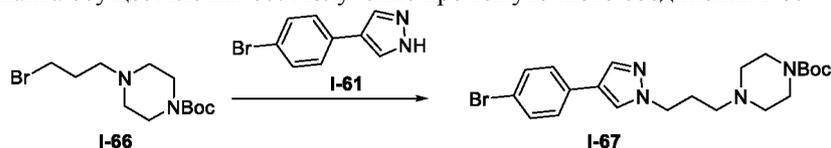
Пример варианта осуществления 66. Получение промежуточного соединения I-66



1-трет-Бутоксикарбонил-4-(3-гидроксипропан)пиперазин (2,00 г, 8,19 ммоль) и тетрабромид углерода (2,99 г, 9,01 ммоль) смешивали в тетрагидрофуране (60 мл), после замены атмосферы на аргон раствор трифенилфосфина (2,36 г, 9,01 ммоль) в тетрагидрофуране (10 мл) добавляли по каплям при 0°C, и реакционную смесь перемешивали, и обеспечивали осуществление реакции при комнатной температуре в атмосфере аргона в течение ночи. Растворитель удаляли из смеси при пониженном давлении. Остаток отделяли и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-66.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 3,47 (t, J=6,6 Гц, 2H), 3,42 (t, J=5,0 Гц, 4H), 2,48 (t, J=6,9 Гц, 2H), 2,38 (t, J=5,0 Гц, 4H), 2,02 (p, J=6,6 Гц, 2H), 1,46 (s, 9H).

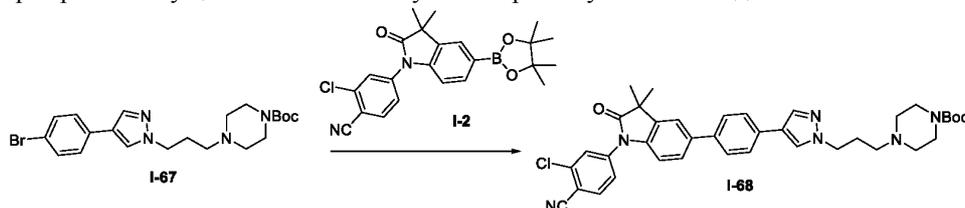
Пример варианта осуществления 67. Получение промежуточного соединения I-67



Промежуточное соединение I-61 (200 мг, 0,897 ммоль) растворяли в N,N-диметилформамиде (2 мл) и добавляли партиями к смеси при 0°C гидрид натрия (54,0 мг, 1,35 ммоль, чистота 60% в минеральном масле), реакционную смесь перемешивали и обеспечивали осуществление реакции при комнатной температуре в течение 0,5 ч, и раствор промежуточного соединения I-66 (276 мг, 0,897 ммоль) в N,N-диметилформамиде (1 мл) добавляли по каплям при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали и обеспечивали осуществление реакции при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционный раствор выливали в насыщенный раствор хлорида аммония (50 мл), экстрагировали этилацетатом (15 мл × 3). Органическую фазу объединяли, промывали насыщенным солевым раствором (30 мл), высушивали с помощью безводного сульфата натрия, фильтровали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта промежуточного соединения I-67 и затем неочищенный продукт применяли непосредственно для следующей реакции без очистки.

LC-MS (ESI) [M+H]⁺: 449,2.

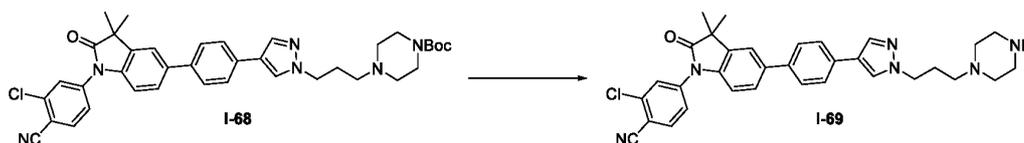
Пример варианта осуществления 68. Получение промежуточного соединения I-68



Промежуточное соединение I-67 (200 мг), промежуточное соединение I-2 (226 мг, 0,53 ммоль), фосфат калия (189 мг, 0,89 ммоль) и [1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроцен]дихлорпалладий(II) (16,3 мг, 0,023 ммоль) смешивали в N,N-диметилформамиде (5 мл) и воде (0,5 мл). После трехкратной замены атмосферы на аргон при комнатной температуре реакционную смесь перемешивали и обеспечивали осуществление реакции при 100°C в течение 2 ч в защитной атмосфере аргона. Реакционный раствор охлаждали до комнатной температуры, выливали в насыщенный солевой раствор (50 мл), экстрагировали этилацетатом (20 мл × 3). Органическую фазу объединяли, высушивали с помощью безводного сульфата натрия, фильтровали и фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток отделяли и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-68.

LC-MS (ESI) [M+H]⁺: 665,3.

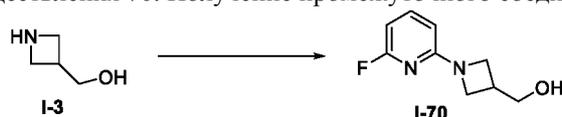
Пример варианта осуществления 69. Получение промежуточного соединения I-69



Промежуточное соединение I-68 (130 мг, 0,195 ммоль) растворяли в дихлорметане (1 мл), затем раствор хлороводорода (3 М, 2,5 мл) в метаноле добавляли по каплям к раствору при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали и обеспечивали осуществление реакции при комнатной температуре в течение 1 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Остаток отделяли и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-69.

LC-MS (ESI) [M+H]⁺: 565,3.

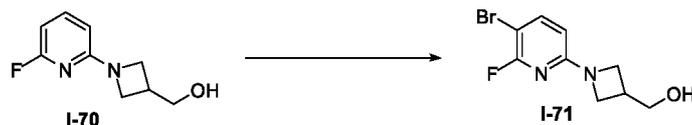
Пример варианта осуществления 70. Получение промежуточного соединения I-70



При 25°C промежуточное соединение I-3 (3 г) растворяли в N,N-диметилформамиде (50 мл), и последовательно добавляли карбонат калия (6,64 г, 48,07 ммоль), 2,6-дифторпиридин (2,21 г, 19,23 ммоль), и реакционный раствор перемешивали, и обеспечивали осуществление реакции при 85°C в течение 16 ч. К реакционному раствору добавляли воду (50 мл) и экстрагировали этилацетатом (50 мл \times 3). Органические фазы объединяли, промывали насыщенным солевым раствором (50 мл), высушивали с помощью безводного сульфата натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток отделяли и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-70.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 183,2.

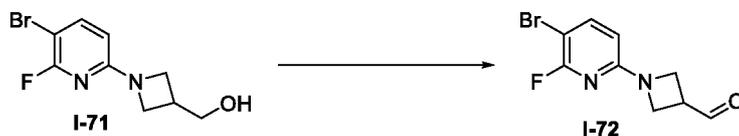
Пример варианта осуществления 71. Получение промежуточного соединения I-71



При 25°C промежуточное соединение I-70 (1,90 г, 10,43 ммоль) растворяли в дихлорметане (50 мл) и смесь охлаждали до 0°C, добавляли N-бромсукцинимид (1,86 г, 10,43 ммоль), и обеспечивали осуществление реакции в реакционном растворе при 0°C в течение 10 мин. Добавляли воду (50 мл) и реакционный раствор экстрагировали дихлорметаном (50 мл \times 3). Органические фазы объединяли, промывали насыщенным солевым раствором (50 мл), высушивали с помощью безводного сульфата натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток отделяли и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-71.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,58 (t, J=8,7 Гц, 1H), 6,00 (dd, J=8,5, 1,5 Гц, 1H), 4,12 - 4,04 (m, 2H), 3,86 (d, J=6,3 Гц, 2H), 3,81 (dd, J=8,4, 5,2 Гц, 2H), 3,02 - 2,84 (m, 1H), 2,77 (s, 1H).

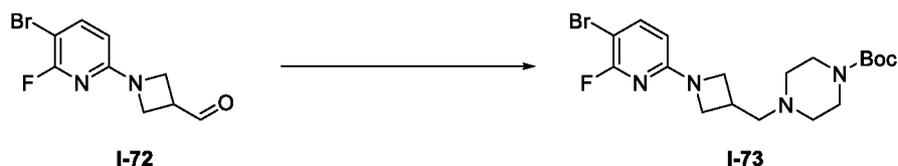
Пример варианта осуществления 72. Получение промежуточного соединения I-72



При 25°C оксалилхлорид (855,55 мг, 6,74 ммоль) растворяли в дихлорметане (50 мл) и смесь охлаждали до -60°C, добавляли диметилсульфоксид (1,09 г, 13,90 ммоль) и обеспечивали осуществление реакции в реакционном растворе при -60°C в течение 0,5 ч. Затем добавляли раствор промежуточного соединения I-71 (1,10 г, 4,21 ммоль) в дихлорметане (10 мл). Обеспечивали осуществление реакции в реакционной смеси при -60°C в течение 0,5 ч. Добавляли триэтиламин (2,13 г, 21,07 ммоль) и обеспечивали осуществление реакции в реакционном растворе при -60°C в течение 0,5 ч и при комнатной температуре в течение 0,5 ч. Добавляли воду (50 мл) и реакционный раствор экстрагировали дихлорметаном (50 мл \times 3). Органические фазы объединяли, промывали насыщенным солевым раствором (50 мл), высушивали с помощью безводного сульфата натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток отделяли и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-72.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 259,0.

Пример варианта осуществления 73. Получение промежуточного соединения I-73

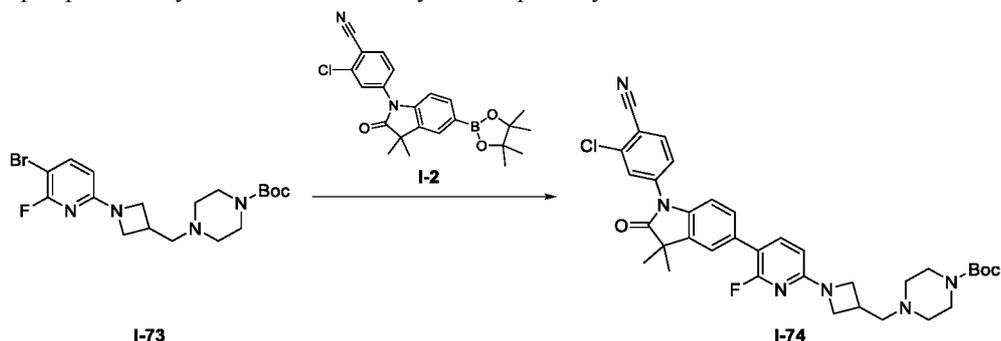


При 25°C промежуточное соединение I-72 (1,00 г, 3,86 ммоль) растворяли в дихлорметане (20 мл), последовательно добавляли 1-Вос-пиперазин (1,08 г, 5,79 ммоль), триацетоксиборгидрид натрия (1,64 г, 7,72 ммоль) и уксусную кислоту (23,42 мг, 0,39 ммоль) и обеспечивали осуществление реакции в реакционном растворе при комнатной температуре в течение 3 ч. Добавляли воду (20 мл) и реакционный раствор экстрагировали дихлорметаном (20 мл \times 3). Органические фазы объединяли, промывали насыщенным солевым раствором (20 мл), высушивали с помощью безводного сульфата натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток отделяли и очищали посред-

ством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-73.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 429,2.

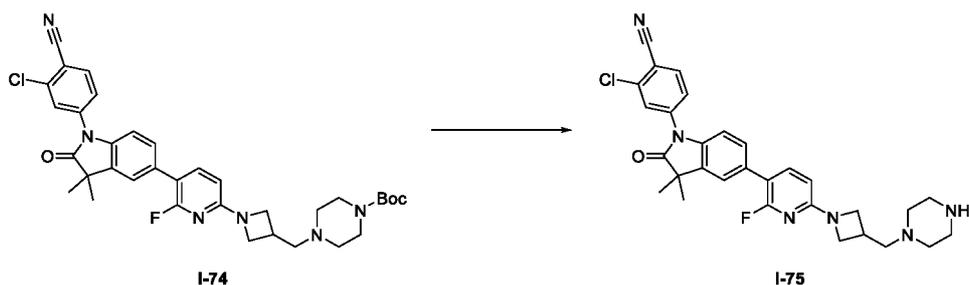
Пример варианта осуществления 74. Получение промежуточного соединения I-74



При 25°C промежуточное соединение I-73 (150,00 мг, 0,35 ммоль) растворяли в смешанном растворе диоксана (8 мл) и воды (2 мл), затем последовательно добавляли карбонат калия (144,86 мг, 1,05 ммоль), промежуточное соединение I-2 (177,23 мг, 0,42 ммоль), [1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроцен]дихлорпалладий(II) (50,52 мг, 0,070 ммоль), трижды заменяли атмосферу смеси на азот и обеспечивали осуществление реакции в атмосфере азота из баллона при 80°C в течение 2 ч. К реакционному раствору добавляли воду (10 мл) и экстрагировали этилацетатом (10 мл × 3). Органические фазы объединяли, промывали насыщенным солевым раствором (10 мл), высушивали с помощью безводного сульфата натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток отделяли и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-74.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 645,4.

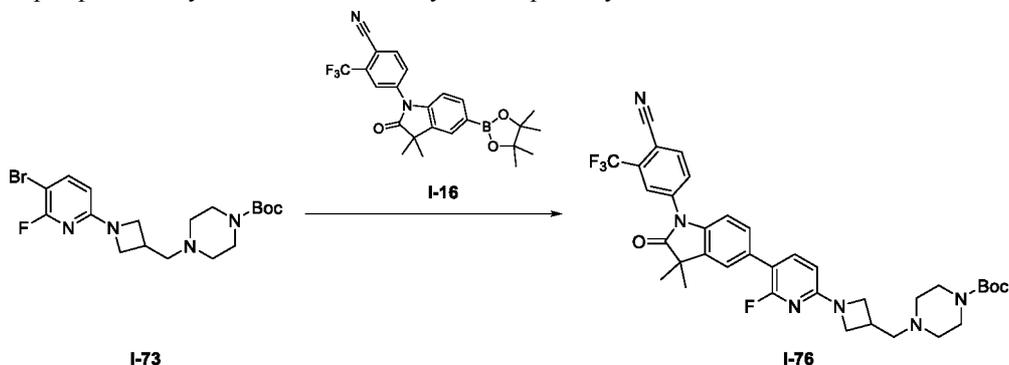
Пример варианта осуществления 75. Получение промежуточного соединения I-75



При 25°C промежуточное соединение I-74 (120,00 мг, 0,19 ммоль) растворяли в дихлорметане (4 мл), затем добавляли трифторуксусную кислоту (2 мл). Обеспечивали осуществление реакции в реакционной смеси при комнатной температуре в течение 3 ч. Смесь концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного промежуточного соединения I-75 и затем неочищенный продукт применяли непосредственно для следующей реакции.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 545,3.

Пример варианта осуществления 76. Получение промежуточного соединения I-76

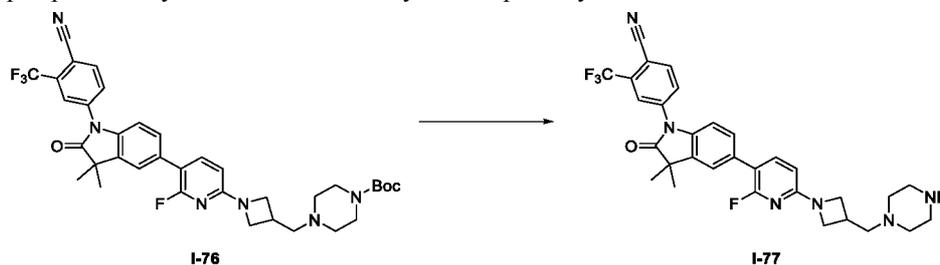


При 25°C промежуточное соединение I-73 (100,00 мг, 0,23 ммоль) растворяли в смешанном растворе диоксана (8 мл) и воды (2 мл), затем последовательно добавляли карбонат калия (96,74 мг, 0,70 ммоль), промежуточное соединение I-16 (127,53 мг, 0,28 ммоль), [1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроцен]дихлорпалладий(II) (33,92 мг, 0,047 ммоль), трижды заменяли атмосферу смеси на азот и обеспечивали осуществление реакции в атмосфере азота из баллона при 80°C в течение 2 ч. Добав-

ляли воду (10 мл) и смесь экстрагировали этилацетатом (10 мл × 3). Органические фазы объединяли, промывали насыщенным солевым раствором (10 мл), высушивали с помощью безводного сульфата натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток отделяли и очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением промежуточного соединения I-76.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 679,4.

Пример варианта осуществления 77. Получение промежуточного соединения I-77

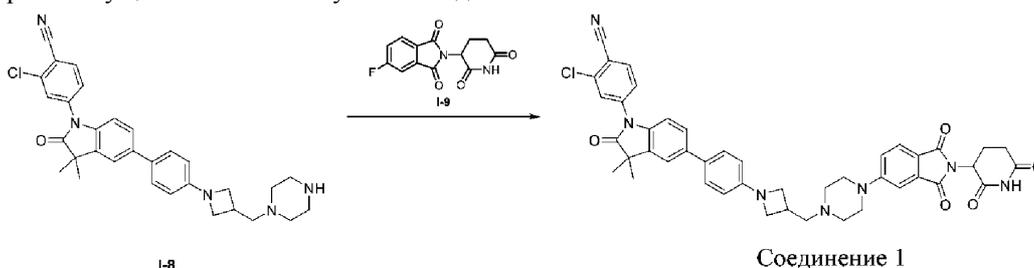


При 25°C промежуточное соединение I-76 (110,00 мг, 0,16 ммоль) растворяли в дихлорметане (4 мл), затем добавляли трифторуксусную кислоту (2 мл). Обеспечивали осуществление реакции в реакционной смеси при комнатной температуре в течение 3 ч. Смесь концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного промежуточного соединения I-77, которое непосредственно вводили в реакцию на следующей стадии.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 579,3.

Получение вариантов осуществления

Вариант осуществления 1. Получение соединения 1

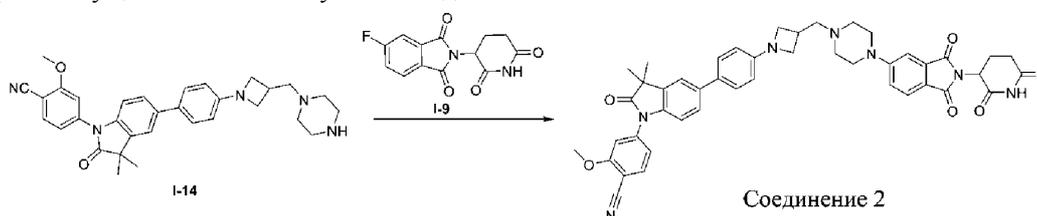


При 25°C промежуточное соединение I-8 (650,00 мг, 1,24 ммоль) растворяли в диметилсульфоксиде (8 мл) и последовательно добавляли промежуточное соединение I-9 (408,81 мг, 1,48 ммоль), и *N,N*-диизопропилэтиламин (480,81 мг, 3,72 ммоль), и реакционный раствор перемешивали при 120°C в течение 16 ч. Реакционный раствор охлаждали до комнатной температуры, затем разделяли и очищали посредством хроматографии с получением целевого соединения 1.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 782,3.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 11,03 (s, 1H), 8,11 (d, $J=8,4$ Гц, 1H), 7,91 (d, $J=1,9$ Гц, 1H), 7,71-7,58 (m, 3H), 7,46-7,34 (m, 3H), 7,29 (d, $J=2,2$ Гц, 1H), 7,20 (dd, $J=8,7, 2,3$ Гц, 1H), 6,93 (d, $J=8,3$ Гц, 1H), 6,44 (d, $J=8,2$ Гц, 2H), 5,01 (dd, $J=12,9, 5,4$ Гц, 1H), 3,91 (t, $J=7,4$ Гц, 2H), 3,45 (t, $J=6,4$ Гц, 2H), 3,38 (s, 4H), 2,92 (p, $J=6,8$ Гц, 1H), 2,87-2,75 (m, 1H), 2,64-2,56 (m, 2H), 2,51 (t, $J=11,7$ Гц, 6H), 1,99 - 1,88 (m, 1H), 1,39 (s, 6H).

Вариант осуществления 2. Получение соединения 2

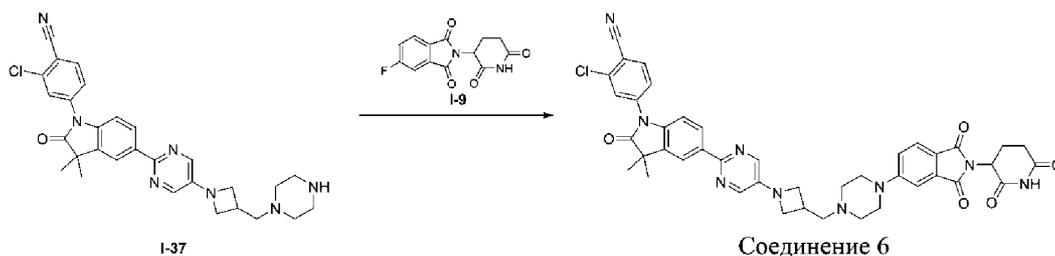


Промежуточное соединение I-14 (140 мг) растворяли в DMSO (8 мл) и затем последовательно добавляли промежуточное соединение I-9 (74 мг, 0,27 ммоль) и диизопропилэтиламин (103 мг, 0,80 ммоль). Реакционный раствор перемешивали при 110°C в течение 16 ч. Реакционный раствор охлаждали до комнатной температуры, и фильтровали, и фильтрат очищали посредством препаративной HPLC (с содержанием муравьиной кислоты) с получением соединения 2.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 778,4.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 11,08 (s, 1H), 8,40 (s, от муравьиной кислоты), 7,92 (d, $J=8,0$ Гц, 1H), 7,69 (d, $J=12,4$ Гц, 2H), 7,49 (d, $J=8,0$ Гц, 2H), 7,42 - 7,30 (m, 3H), 7,25 (dd, $J=15,0, 8,4$ Гц, 2H), 6,99 (d, $J=8,2$ Гц, 1H), 6,50 (d, $J=7,7$ Гц, 2H), 5,07 (d, $J=7,9$ Гц, 1H), 4,20 - 3,80 (m, 4H), 3,56 - 3,42 (m, 9H), 3,03 - 2,80 (m, 4H), 2,69 - 2,59 (m, 4H), 2,05 - 2,01 (m, 1H), 1,46 (s, 6H).

Вариант осуществления 6. Получение соединения 6

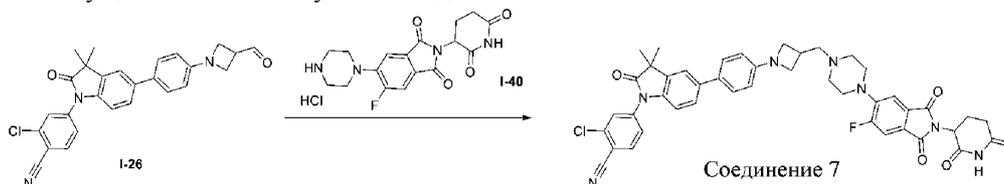


При 25°C промежуточное соединение I-37 (25,00 мл) растворяли в диметилсульфоксиде (2 мл), и последовательно добавляли промежуточное соединение I-9 (13,26 мг, 0,048 ммоль) и N,N-диизопропилэтиламин (25,85 мг, 0,20 ммоль), и реакционный раствор перемешивали при 120°C в течение 16 ч. Реакционный раствор охлаждали до комнатной температуры и соединение 6 получали с применением препаративной HPLC (с содержанием муравьиной кислоты).

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 784,4.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 11,10 (s, 1H), 8,29 (d, $J=1,7$ Гц, 1H), 8,23 - 8,16 (m, 2H), 8,12 (s, 2H), 8,01 (d, $J=1,9$ Гц, 1H), 7,75 (dd, $J=8,4$, 2,0 Гц, 1H), 7,69 (d, $J=8,4$ Гц, 1H), 7,36 (d, $J=2,4$ Гц, 1H), 7,27 (dd, $J=8,8$, 2,3 Гц, 1H), 7,05 (d, $J=8,4$ Гц, 1H), 5,08 (dd, $J=12,9$, 5,4 Гц, 1H), 4,11 (t, $J=7,7$ Гц, 2H), 3,69 (dd, $J=7,7$, 5,5 Гц, 2H), 3,45 (t, $J=4,8$ Гц, 4H), 3,07 (p, $J=6,6$ Гц, 1H), 2,89 (ddd, $J=17,3$, 14,1, 5,5 Гц, 1H), 2,68 (d, $J=7,4$ Гц, 2H), 2,64 - 2,52 (m, 6H), 2,02 (dp, $J=11,3$, 3,9, 3,5 Гц, 1H), 1,47 (s, 6H).

Вариант осуществления 7. Получение соединения 7

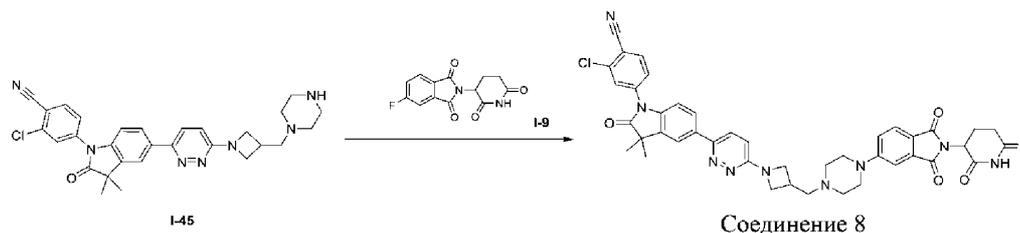


Промежуточное соединение I-26 (80,0 мг, 0,213 ммоль) растворяли в метаноле (10 мл) и последовательно добавляли промежуточное соединение I-40 (69,4 мг, 0,175 ммоль), ацетат натрия (28,7 мг, 0,350 ммоль) и борогидрид ацетат натрия (37,1 мг, 0,175 ммоль). Реакционный раствор перемешивали в течение 3 ч при комнатной температуре. Реакционный раствор концентрировали при пониженном давлении с получением остатка, который очищали посредством препаративной HPLC (муравьиная кислота) с получением соединения 7.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$ 800,1.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8,02 (s, 1H), 7,82 (d, $J=8,4$ Гц, 1H), 7,76 (d, $J=1,9$ Гц, 1H), 7,58 (dd, $J=8,4$, 2,0 Гц, 1H), 7,55 - 7,50 (m, 1H), 7,47 - 7,39 (m, 5H), 7,02 (d, $J=8,2$ Гц, 1H), 6,54 (d, $J=8,6$ Гц, 2H), 4,95 (dd, $J=12,3$, 5,3 Гц, 1H), 4,17 (s, 2H), 3,72 (s, 2H), 3,55 (s, 3H), 2,95 - 2,49 (m, 7H), 2,20 - 2,11 (m, 1H), 1,96 - 1,67 (m, 4H), 1,53 (s, 6H).

Вариант осуществления 8. Получение соединения 8

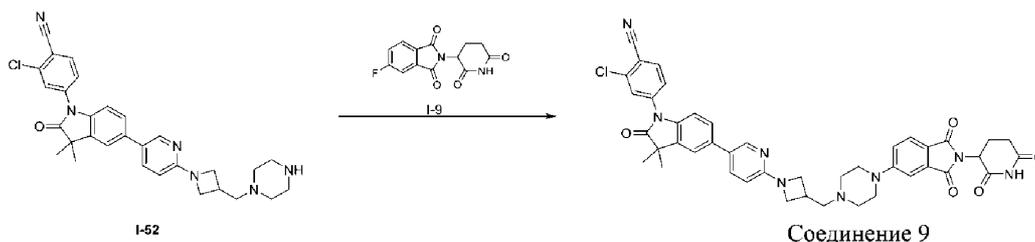


Промежуточные соединения I-45 (50,00 мг), I-9 (31,39 мг, 0,114 ммоль) и N,N-диизопропилэтиламин (122,38 мг, 0,947 ммоль) растворяли в диметилсульфоксиде (3,0 мл) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали и обеспечивали осуществление реакции на масляной бане при 110°C в течение 16 ч. Реакционный раствор естественным образом охлаждали до комнатной температуры, затем разделяли и очищали посредством хроматографии с получением соединения 8.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 784,4.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 11,10 (s, 1H), 8,20 (d, $J=8,0$ Гц, 1H), 8,15 (d, $J=1,8$ Гц, 1H), 8,01 (d, $J=1,9$ Гц, 1H), 7,94 (t, $J=9,4$ Гц, 2H), 7,76 (dd, $J=8,4$, 2,0 Гц, 1H), 7,69 (d, $J=8,5$ Гц, 1H), 7,36 (d, $J=2,2$ Гц, 1H), 7,28 (dd, $J=8,7$, 2,3 Гц, 1H), 7,08 (d, $J=8,3$ Гц, 1H), 6,90 (d, $J=9,3$ Гц, 1H), 5,08 (dd, $J=12,9$, 5,4 Гц, 1H), 4,21 (t, $J=8,1$ Гц, 2H), 3,78 (dd, $J=8,3$, 5,5 Гц, 2H), 3,50-3,40 (m, 4H), 3,10-3,03 (m, 2H), 2,89-2,82 (m, 1H), 2,69 (d, $J=7,5$ Гц, 2H), 2,63 - 2,53 (m, 5H), 2,08 - 1,97 (m, 1H), 1,48 (s, 6H).

Вариант осуществления 9. Получение соединения 9

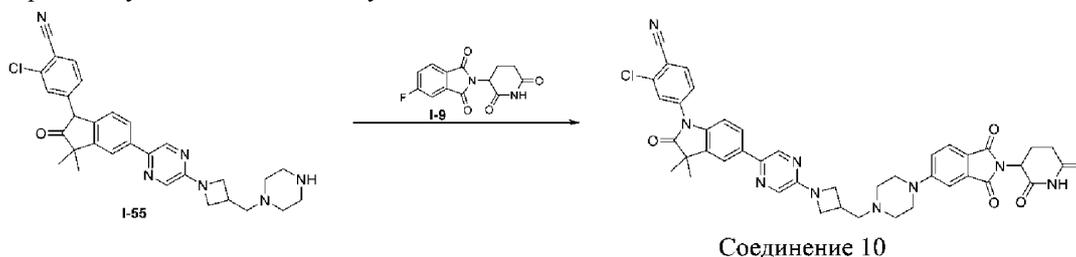


Промежуточное соединение I-52 (90 мг), промежуточное соединение I-9 (58,59 мг, 0,212 ммоль) и N,N-диизопропилэтиламин (233,72 мкл, 1,41 ммоль) растворяли в диметилсульфоксиде (2 мл) и реакционный раствор перемешивали при 110°C в течение 16 ч. Большую часть N,N-диизопропилэтиламина удаляли при пониженном давлении и остаток отделяли посредством препаративной HPLC с получением соединения 9.

LCMS (ESI) $[M+H]^+$: 783,4.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 11,09 (s, 1H), 8,39 (d, $J=2,13$ Гц, 1H), 8,18 (d, $J=8,51$ Гц, 1H), 7,98 (d, $J=1,75$ Гц, 1H), 7,79-7,86 (m, 1H), 7,64-7,78 (m, 3H), 7,44-7,52 (m, 1H), 7,35 (s, 1H), 7,23 - 7,30 (m, 1H), 7,02 (d, $J=8,25$ Гц, 1H), 6,43 - 6,50 (m, 1H), 5,02 - 5,13 (m, 1H), 4,03 - 4,13 (m, 2H), 3,60 - 3,71 (m, 2H), 3,45 (br. s., 4H), 2,82 - 3,05 (m, 2H), 2,51 - 2,69 (m, 8H), 1,95 - 2,06 (m, 1H), 1,46 (s, 6H).

Вариант осуществления 10. Получение соединения 10

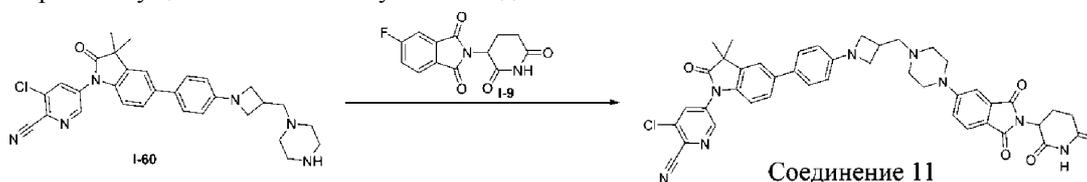


Промежуточное соединение I-55 (50,00 мг) растворяли в диметилсульфоксиде (2 мл) и затем последовательно добавляли N,N-диизопропилэтиламин (1 мл) и промежуточное соединение I-9 (52,31 мг, 0,19 ммоль) при комнатной температуре. Реакционный раствор перемешивали при 130°C в течение ночи в защитной атмосфере азота. Большую часть N,N-диизопропилэтиламина удаляли при пониженном давлении и остаток отделяли посредством препаративной HPLC с получением соединения 10.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 784,4.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 11,10 (s, 1H), 8,66 (d, $J=1,4$ Гц, 1H), 8,19 (d, $J=8,4$ Гц, 1H), 8,07 (d, $J=1,9$ Гц, 1H), 7,97 (dd, $J=21,8, 1,7$ Гц, 2H), 7,86 (dd, $J=8,4, 1,9$ Гц, 1H), 7,79-7,63 (m, 2H), 7,42-7,16 (m, 2H), 7,04 (d, $J=8,3$ Гц, 1H), 5,08 (dd, $J=12,9, 5,4$ Гц, 1H), 4,19 (t, $J=8,1$ Гц, 2H), 3,88-3,67 (m, 2H), 3,45 (t, $J=4,8$ Гц, 4H), 3,13 - 3,01 (m, 1H), 2,89 (ddd, $J=17,3, 13,9, 5,4$ Гц, 1H), 2,68 (d, $J=7,5$ Гц, 2H), 2,75 - 2,30 (m, 6H), 2,14 - 1,88 (m, 1H), 1,47 (s, 6H).

Вариант осуществления 11. Получение соединения 11

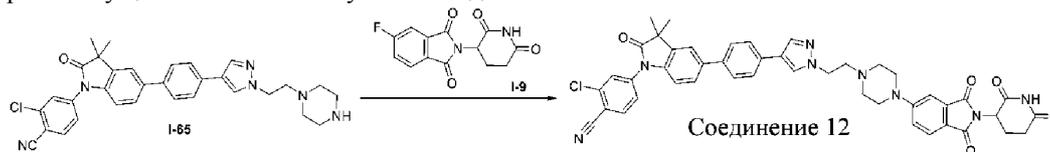


Промежуточное соединение I-60 (110 мг) растворяли в DMSO (5,00 мл) и затем последовательно добавляли промежуточное соединение I-9 (61,9 мг, 0,22 ммоль) и диизопропилэтиламин (88,9 мг, 0,69 ммоль). Реакционную систему перемешивали и обеспечивали осуществление реакции при 110°C в течение 2 ч в защитной атмосфере аргона. Реакционную смесь разделяли и очищали посредством препаративной HPLC (с содержанием муравьиной кислоты) с получением соединения 11.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 783,3.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 11,08 (s, 1H), 8,95 (s, 1H), 8,56 (s, 1H), 8,36 (s, 1H), 7,73 (s, 1H), 7,68 (d, $J=8,6$ Гц, 1H), 7,53 - 7,46 (m, 2H), 7,35 (s, 1H), 7,27 (d, $J=8,4$ Гц, 1H), 7,12 (d, $J=8,1$ Гц, 1H), 6,51 (d, $J=8,4$ Гц, 2H), 5,07 (dd, $J=12,7, 5,6$ Гц, 1H), 3,99 (t, $J=7,2$ Гц, 2H), 3,57 - 3,49 (m, 2H), 3,49 - 3,38 (m, 4H), 3,06 - 2,79 (m, 4H), 2,69 - 2,55 (m, 4H), 2,36 - 2,30 (m, 1H), 2,10 - 1,90 (m, 2H), 1,48 (s, 6H).

Вариант осуществления 12. Получение соединения 12

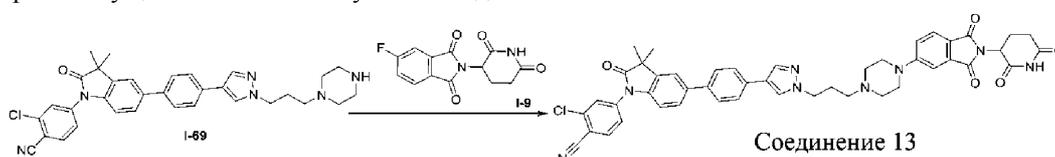


Промежуточные соединения I-65 (70,0 мг, 0,127 ммоль), промежуточное соединение I-9 (42,0 мг, 0,152 ммоль) и N,N-диизопропилэтиламин (32,8 мг, 0,254 ммоль) растворяли в диметилсульфоксиде (1,5 мл), реакционный раствор перемешивали и обеспечивали осуществление реакции при 80°C в течение 4 ч. Реакционный раствор охлаждали до 30°C и очищали посредством препаративной HPLC (с содержанием муравьиной кислоты) с получением соединения 12.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 807,4.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 11,08 (s, 1H), 8,38 (s, 1H), 8,27 (s, 1H), 8,19 (d, $J=8,4$ Гц, 1H), 8,00 (s, 1H), 7,94 (s, 1H), 7,85 (s, 1H), 7,75 (d, $J=8,5$ Гц, 1H), 7,69 - 7,64 (m, 4H), 7,59 (d, $J=8,4$ Гц, 1H), 7,35 (s, 1H), 7,26 (d, $J=8,6$ Гц, 1H), 7,05 (d, $J=8,2$ Гц, 1H), 5,07 (dd, $J=12,9, 5,4$ Гц, 1H), 4,30 (t, $J=6,5$ Гц, 2H), 3,49-3,41 (m, 6H), 2,89-2,79 (m, 3H), 2,63 - 2,57 (m, 4H), 2,05 - 1,97 (m, 1H), 1,48 (s, 6H).

Вариант осуществления 13. Получение соединения 13

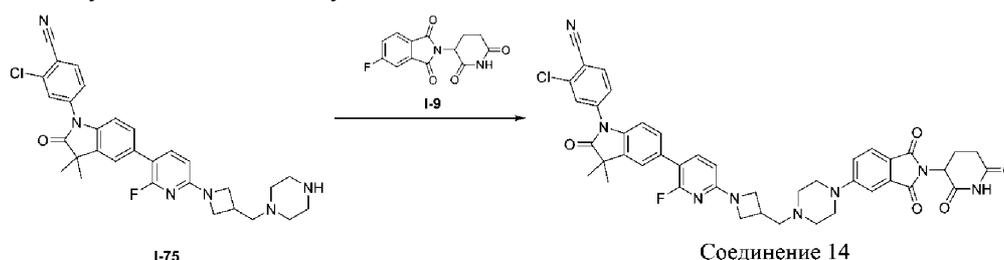


Промежуточные соединения I-69 (90,0 мг, 0,159 ммоль), промежуточное соединение I-9 (52,8 мг, 0,191 ммоль) и N,N-диизопропилэтиламин (103 мг, 0,795 ммоль) растворяли в диметилсульфоксиде (2 мл), реакционный раствор перемешивали и обеспечивали осуществление реакции при 80°C в течение 4 ч. Реакционный раствор охлаждали до 20°C, фильтровали и фильтрат подвергали препаративной HPLC (с содержанием муравьиной кислоты) с получением соединения 13.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 821,2.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 11,08 (s, 1H), 8,30 (s, 1H), 8,25 (s, 1H), 8,19 (d, $J=8,4$ Гц, 1H), 8,00 (d, $J=1,9$ Гц, 1H), 7,93 (s, 1H), 7,86 (d, $J=1,9$ Гц, 1H), 7,75 (dd, $J=8,4, 2,0$ Гц, 1H), 7,68 (d, $J=7,4$ Гц, 4H), 7,59 (dd, $J=8,3, 1,9$ Гц, 1H), 7,34 (d, $J=2,3$ Гц, 1H), 7,26 (dd, $J=8,7, 2,3$ Гц, 1H), 7,05 (d, $J=8,3$ Гц, 1H), 5,07 (dd, $J=12,9, 5,4$ Гц, 1H), 4,19 (t, $J=6,9$ Гц, 2H), 3,45 (s, 8H), 2,93 - 2,83 (m, 1H), 2,62 - 2,52 (m, 2H), 2,34 (t, $J=6,9$ Гц, 2H), 2,07 - 1,97 (m, 3H), 1,48 (s, 6H).

Вариант осуществления 14. Получение соединения 14

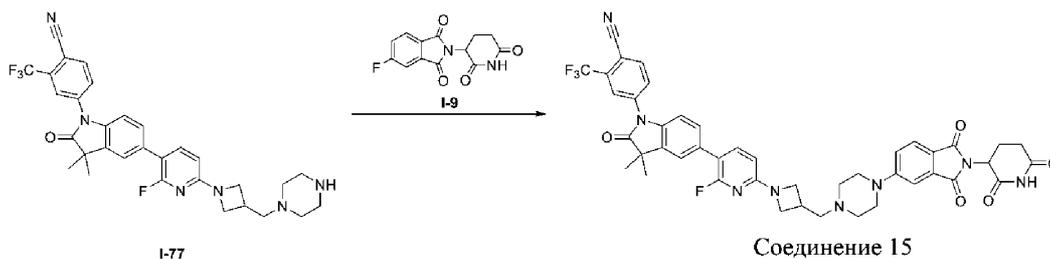


При 25°C промежуточное соединение I-75 (125,00 мг) растворяли в диметилсульфоксиде (2 мл) и промежуточное соединение I-9 (63,53 мг, 0,23 ммоль) и последовательно добавляли N,N-диизопропилэтиламин (122,79 мг, 0,95 ммоль) и обеспечивали осуществление реакции в реакционном растворе при 120°C в 16 ч. Реакционный раствор охлаждали до 20°C и подвергали препаративной HPLC (с содержанием муравьиной кислоты) с получением соединения 14.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 801,4.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 11,08 (s, 1H), 8,19 (d, $J=8,4$ Гц, 1H), 7,99 (d, $J=1,9$ Гц, 1H), 7,80 (dd, $J=10,5, 8,2$ Гц, 1H), 7,74 (dd, $J=8,4, 1,9$ Гц, 1H), 7,68 (d, $J=8,5$ Гц, 1H), 7,61 (d, $J=1,6$ Гц, 1H), 7,41 - 7,32 (m, 2H), 7,27 (dd, $J=8,7, 2,3$ Гц, 1H), 7,03 (d, $J=8,3$ Гц, 1H), 6,37 (dd, $J=8,3, 1,9$ Гц, 1H), 5,07 (dd, $J=12,8, 5,4$ Гц, 1H), 4,10 (t, $J=8,1$ Гц, 2H), 3,67 (dd, $J=8,4, 5,5$ Гц, 2H), 3,45 (t, $J=4,8$ Гц, 4H), 3,10-2,95 (m, 1H), 2,95-2,80 (m, 1H), 2,66 (d, $J=7,4$ Гц, 2H), 2,62-2,52 (m, 6H), 2,02 (ddt, $J=10,8, 6,0, 3,5$ Гц, 1H), 1,45 (s, 6H).

Вариант осуществления 15. Получение соединения 15



При 25°C промежуточное соединение I-77 (110,00 мл) растворяли в диметилсульфоксиде (2 мл) и последовательно добавляли промежуточное соединение I-9 (52,48 мг, 0,19 ммоль), и N,N-диизопропилэтиламин (103,40 мг, 0,80 ммоль), и реакционный раствор перемешивали и обеспечивали осуществление реакции при 120°C в течение 16 ч. Реакционный раствор охлаждали до 20°C и подвергали препаративной HPLC (с содержанием муравьиной кислоты) с получением соединения 15.

LC-MS (ESI) $[M+H]^+$: 835,4.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 11,09 (s, 1H), 8,38 (d, $J=8,3$ Гц, 1H), 8,21 (d, $J=1,9$ Гц, 1H), 8,09 (dd, $J=8,3, 2,0$ Гц, 1H), 7,81 (dd, $J=10,5, 8,2$ Гц, 1H), 7,69 (d, $J=8,5$ Гц, 1H), 7,62 (d, $J=1,5$ Гц, 1H), 7,44-7,31 (m, 2H), 7,27 (dd, $J=8,6, 2,3$ Гц, 1H), 7,07 (d, $J=8,3$ Гц, 1H), 6,38 (dd, $J=8,3, 1,9$ Гц, 1H), 5,08 (dd, $J=12,9, 5,4$ Гц, 1H), 4,11 (t, $J=8,1$ Гц, 2H), 3,68 (dd, $J=8,3, 5,4$ Гц, 2H), 3,45 (t, $J=4,9$ Гц, 4H), 3,08-2,95 (m, 1H), 2,95-2,81 (m, 1H), 2,66 (d, $J=7,5$ Гц, 2H), 2,58-2,52 (m, 6H), 2,12 - 1,95 (m, 1H), 1,46 (s, 6H).

Экспериментальный пример 1. Определение андрогенового рецептора посредством внутриклеточного Вестерн-анализа.

Посредством определения проводили оценку свойств соединений в клетках Lncar. Внутриклеточный андрогеновый рецептор определяли посредством внутриклеточного Вестерн-анализа в соответствии с описанными ниже стадиями для определения.

В предварительно обработанном с помощью поли-D-лизина 96-луночном планшете для культивирования клеток (Corning 3599) клетки Lncar распределяли по 100 мкл/объем лунки и инокулировали 30000 клеток/лунка в среде для анализа клеток Lncar [DMEM, содержащей феноловый красный (номер по каталогу Gibco: 11995065); фетальную бычью сыворотку FBS (номер по каталогу Gibco: 10099141C)]. Клетки культивировали в течение по меньшей мере двух дней.

1. Вначале клетки обрабатывали соединением. Соединения подвергали градиентному разбавлению с помощью DMSO и среды для культивирования клеток, таким образом DMSO, содержащийся в планшетах для культивирования клеток, разбавляли до 0,5%, полипропиленовые планшеты применяли в соответствии со следующим протоколом. (1)(i) Получали 200 \times исходного раствора в DMSO; (ii) 10 мМ исходного раствора разбавляли до 1:4 с помощью DMSO (10 мкл исходный раствор + 40 мкл DMSO) = 2000 мкМ, затем вносили в ряд 2; (iii) проводили градиентное разбавление 1:4 (10 мкл PROTAC + 40 мкл DMSO) от ряда 2 до ряда 9, и ряд 1 резервировали для 2000 мкМ эталонного соединения и ряд 10 резервировали для DMSO. (iv) В общей сложности 8 концентраций (конечные концентрации в 200 \times планшете составили 2000 мкМ, 400 мкМ и 80 мкМ и т.д.). (2) (i) Получали 3 \times исходный раствор в среде, (ii) 3 мкл 200 \times исходного раствора переносили к 197 мкл культуральной среды (с применением 12-канальной пипетки, от линии 1 до линии 10), т.е. 3 \times исходный раствор в планшете, (iii) Исходный раствор в планшете равномерно смешивали. (3) (i) Культуральную среду клеток Vcar заменяли на свежую культуральную среду, объем культуральной среды составлял 100 мкл. (ii) Тщательно перемешанный 3 \times исходный раствор переносили в планшет для культивирования клеток (с применением 12-канальной пипетки, и 50 мкл исходного раствора переносили от линии 1 до линии 10). (iii) Клетки культивировали в течение 24 ч.

2. Уровень экспрессии внутриклеточного андрогенового рецептора после обработки соединением определяли и измеряли в соответствии со следующим способом.

(1)(i) Для фиксации клеток добавляли равный объем 8% параформальдегида в планшет для культивирования клеток. Из планшета с клетками удаляли раствор для фиксации и трижды промывали планшет с помощью PBS. (ii) Получали раствор Triton (разбавление 1:1000 исходного раствора). Раствор из планшета с клетками удаляли и в каждую лунку добавляли 200 мкл разбавителя Triton, (iii) Получали 2 \times блокирующий раствор (разбавление 1: 4 10 \times исходного блокирующего раствора). Раствор из планшета с клетками удаляли и 100 мкл 2 \times блокирующего раствора добавляли в каждую лунку, (iv) Получали раствор первичного антитела (кроличьего mAb к андрогеновому рецептору, номер по каталогу Cell Signaling Technology: 5153; разбавление 1:1000). Раствор из планшета с клетками удаляли, в каждую лунку добавляли 100 мкл объема разбавителя первичного антитела и инкубировали при 4°C в течение ночи, (v) Раствор первичного антитела удаляли и планшет с клетками промывали с помощью 1 \times промывочного буфера, (vi) Получали раствор вторичного антитела (вторичного антитела козы к иммуноглобулинам кролика (H+L), HRP, номер по каталогу Thermo: 31460; разбавление 1:5000) и в каждую лунку добавляли 100 мкл

объема разбавления вторичного антитела для инкубации, (vii) Раствор вторичного антитела из планшета с клетками удаляли и планшет с клетками промывали с помощью 1× промывочного буфера, (viii) Получали хромогенный раствор ТМВ (номер по каталогу BD: 550534) и 100 мкл хромогенного раствора добавляли в каждую лунку, (ix) В каждую лунку добавляли объем останавливающего раствора, составляющий 50 мкл (номер по каталогу BD: 550534). (x) Значения абсорбции при OD 450 нм и 570 нм считывали с помощью EnVision. (2)(i) Нормализованный анализ проводили в отношении числа клеток в каждой лунке. Раствор из планшета с клетками удаляли, и планшет трижды промывали промывочным буфером, (ii) Получали разбавление Janus (разбавление 1:3). (iii) Добавляли в каждую лунку объем разбавителя, составляющий 50 мкл, для инкубации, (iv) Раствор из планшета удаляли и промывали деионизированной водой, (v) Получали 1М раствор хлористоводородной кислоты (разбавление концентрированной хлористоводородной кислотой в соотношении 1:24) и 200 мкл разбавленной хлористоводородной кислоты добавляли в каждую лунку для обработки клеток, (vi) Значения абсорбции при OD 595 нм считывали с помощью Flex Station, (vii) В соответствии с полученными значениями считывания рассчитывали эффекты тестируемых соединений на экспрессию андрогенового рецептора. Результаты экспериментов показаны в табл. 1.

Таблица 1

Оценка эффекта соединений на снижение активности андрогенового рецептора в клетках LnCaP

Номер соединения	DC ₅₀ (нМ)	D _{max} (%)
1	90,27	82
3	87,13	89
4	108,37	91
7	72,12	75
11	74,65	74
12	78,81	75
13	73,38	100
14	66,30	93
15	3,49	67

D_{max}: максимальная деградация AR в клетках LnCaP.

DC₅₀: концентрация соединения, требуемая для достижения половины от максимального разрушения AR в клетках LnCaP.

Экспериментальный пример 2. Ингибирующий эффект тестируемых соединений на пролиферацию клеток LNcap FGC.

Линию опухолевых клеток LNcap FGC (номер по каталогу ATC: CCRL-1740) культивировали в средах RPMI 1640 (номер по каталогу Gibco: 11875-093) и DMEM (номер по каталогу Gibco: 11965-092), содержащих 10% FBS (номер по каталогу Gibco: 10099-141C) соответственно.

Способ определения был следующим.

Инокулировали клетки LNcap FGC в 384-луночный планшет (номер по каталогу Perkin Elmer: 6007460) при плотности клеток 400 клеток/лунка в объеме 20 мкл/лунка и инкубировали в течение ночи в инкубаторе с диоксидом углерода (Thermo). Полученные растворы соединения с разными концентрациями добавляли в объеме 5 мкл/лунка. В то же время получали соответствующий контроль со средой-носителем. После культивирования в инкубаторе в течение 6 дней планшет с клетками и его содержимое уравнивали до комнатной температуры и 25 мкл Cell Titer Glog (номер по каталогу Promega: G7573) добавляли в каждую лунку, тщательно встряхивали и перемешивали, инкубировали в темноте в течение 10-30 мин и значения сигнала определяли с помощью считывающего устройства для микропланшетов Envision (PerkinElmer).

Способ обработки экспериментальных данных.

Уровень ингибирования в процентах в лунках, обработанных соединением, рассчитывали по контрольным лункам планшета со средой-носителем и данные в виде уровня ингибирования в процентах, соответствующие разным концентрациям, аппроксимировали посредством GraphPad prism, и значения IC₅₀ рассчитывали посредством нелинейной 4-параметрической функции. Результаты экспериментов показаны в табл. 2.

Таблица 2

Оценка ингибирующей активности соединений в отношении пролиферации клеток LnCaP

Номер соединения	IC ₅₀ (нМ)	E _{max} (%)
1	66,08	91
2	89,08	98
3	54,79	93
5	95,71	93

6	76,71	99
9	35,51	100
10	39,38	100
12	81,95	68
14	60,65	100

E_{\max} : максимальная степень ингибирования пролиферации клеток LnCaP.

IC_{50} : концентрация соединения, требуемая для достижения половины от максимального ингибирования пролиферации клеток LnCaP.

Экспериментальный вариант осуществления 3. Определение андрогенового рецептора посредством внутриклеточного Вестерн-анализа.

Проводили оценку для определения свойств соединений в клетках Vcar. Внутриклеточный андрогеновый рецептор определяли посредством внутриклеточного Вестерн-анализа в соответствии с описанными ниже стадиями для определения.

В предварительно обработанном с помощью поли-D-лизина 96-луночном планшете для культивирования клеток (Corning 3599) клетки Vcar распределяли по 500 мкл/объем лунки и инокулировали 50000 клеток/лунка в среде для анализа клеток Vcar [DMEM, содержащей феноловый красный (номер по каталогу Gibco: 11995065); фетальную бычью сыворотку FBS (номер по каталогу Gibco: 10099141C)]. Клетки культивировали в течение по меньшей мере двух дней.

1. Вначале клетки обрабатывали соединением. Соединения подвергали градиентному разбавлению с помощью DMSO и среды для культивирования клеток, таким образом DMSO, содержащийся в планшетах для культивирования клеток, разбавляли до 0,5%, полипропиленовые планшеты применяли в соответствии со следующим протоколом.

(1)(i) Получали 200× исходного раствора в DMSO; (ii) 10 мМ исходного раствора разбавляли до 1:4 с помощью DMSO (10 мкл исходный раствор + 40 мкл DMSO) = 2000 мкМ, затем вносили в ряд 2; (iii) проводили градиентное разбавление 1:4 (10 мкл PROTAC + 40 мкл DMSO) в ряде 2 до ряда 9, и ряд 1 резервировали для 2000 мкМ эталонного соединения и ряд 10 резервировали для DMSO. (iv) В общей сложности 8 концентраций (конечные концентрации в 200× планшете составили 2000 мкМ, 400 мкМ, 80 мкМ и т.д.) (i) Получали 3× исходный раствор в среде; (ii) 3 мкл 200 × исходного раствора переносили к 197 мкл культуральной среды (с применением 12-канальной пипетки, от линии 1 до линии 10), т.е. 3× исходный раствор в планшете. (iii) Исходный раствор в планшете равномерно смешивали. (3) (i) Культуральную среду клеток Vcar заменяли на свежую культуральную среду, объем культуральной среды составлял 100 мкл.

(ii) Тщательно перемешанный 3× исходный раствор переносили в планшет для культивирования клеток (с применением 12-канальной пипетки, и 50 мкл исходного раствора переносили от линии 1 до линии 10). (iii) Клетки культивировали в течение 24 ч.

2. Уровень экспрессии внутриклеточного андрогенового рецептора после обработки соединением определяли и измеряли в соответствии со следующим способом.

(1)(i) Для фиксации клеток добавляли равный объем 8% параформальдегида в планшет для культивирования клеток. Из планшета с клетками удаляли раствор для фиксации и трижды промывали планшет с помощью PBS. (ii) Получали раствор Triton (разбавление 1:1000 исходного раствора). Раствор из планшета с клетками удаляли и в каждую лунку добавляли 200 мкл разбавителя Triton, (iii) Получали 2× блокирующий раствор (разбавление 1:4 10× исходного блокирующего раствора). Раствор из планшета с клетками удаляли и 100 мкл 2× блокирующего раствора добавляли в каждую лунку. (iv) Получали раствор первичного антитела (кроличье mAb к андрогеновому рецептору, номер по каталогу Cell Signaling Technology: 5153; разбавление 1:1000). Раствор из планшета с клетками удаляли, в каждую лунку добавляли 100 мкл объема разбавителя первичного антитела и инкубировали при 4°C в течение ночи. (v) Раствор первичного антитела удаляли и планшет с клетками промывали с помощью 1× промывочного буфера. (vi) Получали раствор вторичного антитела (вторичного антитела козы к иммуноглобулинам кролика (H+L), HRP, номер по каталогу Thermo: 31460; разбавление 1:5000) и в каждую лунку добавляли 100 мкл объема разбавления вторичного антитела для инкубации. (vii) Раствор вторичного антитела в планшете с клетками удаляли и планшет с клетками промывали с помощью 1× промывочного буфера. (viii) Получали хромогенный раствор TMB (номер по каталогу BD: 550534) и 100 мкл хромогенного раствора добавляли в каждую лунку. (ix) В каждую лунку добавляли объем останавливающего раствора, составляющий 50 мкл (номер по каталогу BD: 550534). (x) Значения абсорбции при OD 450 нм и 570 нм считывали с помощью EnVision. (2)(i) Нормализованный анализ проводили в отношении числа клеток в каждой лунке. Раствор из планшета с клетками удаляли, и планшет трижды промывали промывочным буфером. (ii) Получали разбавление Janus (разбавление 1:3). (iii) Добавляли в каждую лунку объем разбавителя, составляющий 50 мкл, для инкубации, (iv) Раствор из планшета удаляли и промывали деионизированной водой. (v) Получали 1М раствор хлористоводородной кислоты (разбавление концентрированной хлористоводородной кислотой в соотношении 1: 24) и 200 мкл разбавленной хлористоводородной кислоты добавляли в каждую лунку для обработки клеток. (vi) Значения абсорбции при OD 595 нм считывали с

помощью Flex Station. (vii) В соответствии с полученными значениями считывания рассчитывали эффекты тестируемых соединений на экспрессию андрогенового рецептора. Результаты экспериментов показаны в табл. 3.

Таблица 3

Оценка эффекта соединений на снижение активности андрогенового рецептора в клетках VCaP

Номер соединения	DC ₅₀ (нМ)	D _{max} (%)
1	35	68
3	76	60
9	121	56
14	94	85

D_{max}: максимальная деградация AR в клетках VCaP.

DC₅₀: концентрация соединения, требуемая для достижения половины от максимального разрушения AR в клетках VCaP.

Экспериментальный пример 4. Ингибирующий эффект тестируемых соединений на пролиферацию клеток VCaP.

Линию опухолевых клеток VCaP FGC (номер по каталогу ATCC: CRL-2876) культивировали в среде DMEM (номер по каталогу Gibco: 11965-092), содержащей 10% FBS (номер по каталогу Gibco: 10099-141C) соответственно. Во время определения заменяли клетки VCaP на среду DMEM, содержащую 5% FBS и 0,1 нМ R1881 (номер по каталогу Sigma: R0908).

Способ определения был следующим.

Инокулировали клетки VCaP FGC в 384-луночном планшете (номер по каталогу Perkin Elmer: 6007460) при плотности клеток 1200 клеток/луночка в объеме 20 мкл/луночка и инкубировали в течение ночи в инкубаторе с диоксидом углерода (Thermo). Полученные растворы соединения с разными концентрациями добавляли в объеме 5 мкл/луночка. В то же время получали соответствующий контроль со средой-носителем. После культивирования в инкубаторе в течение 6 дней планшет с клетками и его содержимое уравнивали до комнатной температуры и 25 мкл Cell Titer Glog (номер по каталогу Promega: G7573) добавляли в каждую лунку, тщательно встряхивали и перемешивали, инкубировали в темноте в течение 10-30 мин и значения сигнала определяли посредством считывающего устройства для микропланшетов Envision (PerkinElmer).

Способ обработки экспериментальных данных.

Уровень ингибирования в процентах в лунках, обработанных соединением, рассчитывали по контрольным лункам планшета со средой-носителем и данные в виде уровня ингибирования в процентах, соответствующие разным концентрациям, аппроксимировали посредством GraphPad prism, и значения IC₅₀ рассчитывали посредством нелинейной 4 параметрической функции. Результаты экспериментов показаны в табл. 4.

Таблица 4

Оценка ингибирующей активности соединений на пролиферацию клеток VCaP

Номер соединения	IC ₅₀ (нМ)	E _{max} (%)
6	81	94
9	61	97
10	50	98
14	67	94
15	82	92

E_{max}: максимальная степень ингибирования пролиферации клеток VCaP IC₅₀: концентрация соединения, требуемая для достижения половины от максимального ингибирования пролиферации клеток VCaP.

Экспериментальный пример 5. Фармакокинетические эксперименты *in vivo* в отношении соединений по настоящему изобретению.

В данном экспериментальном примере фармакокинетику *in vivo* у мышей оценивали посредством внутривенной инъекции и перорального введения.

Экспериментальные способы и условия. В случае самцов мышей CD1 в возрасте 6-8 недель, все животные имели свободный доступ к пище и воде и получали однократную дозу соединения, подлежащего испытанию, в концентрации 1 мг/кг посредством внутривенной инъекции (растворитель 5% DMSO/15% Solutol/80% солевой раствор), через 5 мин, 15 мин, 30 мин, 1 ч, 2 ч, 4 ч, 8 ч, 24 ч, 48 ч после введения лекарственного средства или для перорального применения посредством введения соединения через желудочный зонд в концентрации 10 мг/кг (растворитель 5% DMSO/10% Solutol/85 % солевой раствор) через 15 мин, 30 мин, 1 ч, 2 ч, 4 ч, 6 ч, 8 ч, 24 ч, 48 ч после введения кровь собирали из орбитального синуса, не менее 50 мкл для каждого образца, гепарин натрия применяли для антикоагуляции, и затем после сбора помещали на лед, и центрифугировали в течение 1 ч для разделения плазмы крови для испытания.

Концентрацию лекарственного средства в плазме крови определяли посредством жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией (LC/MS/MS) и фармакокинетические параметры рассчитывали посредством программного обеспечения Phoenix WinNonlin. Экспериментальные результаты по-

казаны в табл. 5 и табл. 6 с использованием варианта осуществления 158 в CN110506039A в качестве эталонного вещества 1.

Таблица 5

Фармакокинетика в случае перорального введения (10 мг/кг)

Соединение	T _{1/2} (ч.)	C _{max} (нг/мл)	AUC _{0-inf} (нг × ч./мл)	F (%)
Соединение 6	11,2	2920	70268	71,3
Соединение 14	17,8	2647	71075	68,6
Эталонное вещество 1	14,4	1417	53042	99,0

Таблица 6

Фармакокинетика в случае внутривенного введения (1 мг/кг)

Соединение	T _{1/2} (ч.)	AUC _{0-inf} (нг × ч./мл)	Cl (мл/мин./кг)
Соединение 6	11,2	9860	1,69
Соединение 14	20,4	10365	1,61
Эталонное вещество 1	13,4	5359	3,11

Экспериментальные данные показывают, что соединения по настоящему изобретению проявляют более высокую C_{max}, большее воздействие *in vivo* и более высокую биологическую доступность при пероральном введении у мышей.

Экспериментальный пример 6. Фармакодинамическое исследование *in vivo* тестируемых соединений на модели рака предстательной железы человека, полученной на основе подкожной ксенотрансплантатной опухоли из клеток VCaP у мышей CB17 SCID.

Экспериментальное животное: самцы мышей линии CB17 SCID возрастом 6-8 недель, весом 18-22 г, поставщик: Beijing Weitong Lihua Laboratory Animal Technology Co., Ltd. филиал в Шанхае, номер сертификата животного: 20170011005577. Животных выращивали в экспериментальной среде в течение 7 дней с момента их поступления и начинали эксперимент.

Способ проведения эксперимента: клетки VCaP рака предстательной железы человека (ATCC-CRL-2876) культивировали *in vitro* в монослое, и условия культивирования были следующими: среда DMEM с 20% фетальной бычьей сывороткой, 100 Ед./мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина, культивировали в инкубаторе с 5% CO₂ при 37°C. Проводили традиционное открепление клеток с помощью трипсин-EDTA два раза в неделю для пассирования. Когда насыщение клеток составило 80%-90% и число достигало требуемого уровня, клетки собирали, подсчитывали и инокулировали. 0,2 мл (10×10⁶ клетки + Matrigel) клеток VCaP подкожно инокулировали в левую верхнюю конечность каждой мыши и проводили кастрацию через 33 дня после инокуляции клеток. Когда средний объем опухоли достигал 119 мм³, лекарственные средства вводили группам и для четырех групп устанавливали следующие дозы соединения 14: 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг и 30 мг/кг.

Ежедневное наблюдение экспериментальных животных: каждый день осуществляли мониторинг состояния здоровья животных и их смерти. Рутинные обследования включали осуществление наблюдения эффектов в отношении роста опухоли и лечения с помощью лекарственного средства на ежедневное поведение животных, такое как поведенческая активность, потребление пищи и воды (только визуальное наблюдение), и изменения веса тела (вес тела измеряли трижды в неделю), физические признаки или другие аномальные состояния.

Измерения опухоли и экспериментальные показатели. Экспериментальные показатели служили для исследования того, происходило ли подавление, замедление или устранение роста опухоли. Диаметры опухолей измеряли с помощью штангенциркулей с нониусом три раза в неделю.

Формула для расчета объема опухоли является следующей: $V = 0,5a \times b^2$, где *a* и *b* представляли собой длинный диаметр и короткий диаметр опухоли, соответственно. Противоопухолевый эффект соединений оценивали с помощью TGI (%) или относительной скорости роста опухоли T/C (%). Значение TGI (%) отражает степень ингибирования роста опухоли. Расчет TGI (%): $TGI (\%) = [(1 - (\text{средний объем опухоли в конце введения в определенной группе обработки} - \text{средний объем опухоли в начале введения в группе обработки})) / (\text{средний объем опухоли в конце обработки в контрольной группе, получавшей среду-носитель} - \text{средний объем опухоли в начале обработки в контрольной группе, получавшей среду-носитель})] \times 100\%$. В случае относительной скорости роста опухоли T/C (%) формула для расчета являлась следующей: $T/C\% = TRTV/CRTV \times 100\%$ (TRTV: RTV в группе обработки; CRTV: RTV в группе отрицательного контроля). Относительный объем опухоли (RTV) рассчитывали в соответствии с результатами измерения опухоли, и при этом формула является следующей: $RTV = Vt/V0$, где V0 представляет собой средний объем опухоли, измеренный в исходный момент времени в группе введения (т.е. d0), и Vt представляет собой средний объем опухоли в определенный момент измерения, и TRTV и CRTV получали в тот же день. После эксперимента определяли вес опухоли и значение T/Свес можно рассчитать. Tвес и Свес представляет собой вес опухоли в группе введения и контрольной группе со средой-носителем, соответственно.

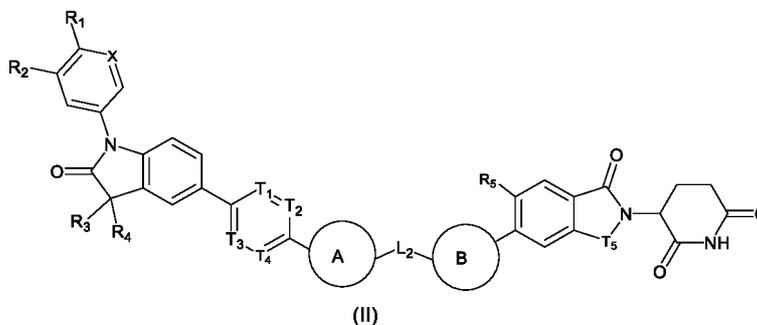
Статистический анализ.

Статистический анализ включал среднее значение и стандартную ошибку (SEM) для объема опухоли в каждый момент времени для каждой группы. Группу обработки обрабатывали в конце испытания в день 24 после введения, таким образом, статистический анализ проводили на основе этих данных для оценки отличий между группами. Т-критерий применяли для сравнения между двумя группами, и однофакторный ANOVA применяли для сравнения между тремя или более группами. Если было значительное отличие в показателях F-значения, для проверки применяли способ Геймса-Ховелла. Если не было значительного отличия в показателях F-значения, для анализа применяли способ Даннета (2-сторонний). Все анализы данных проводили с помощью SPSS 17.0. $p < 0,05$ считали значительным отличием. Вес экспериментальных животных применяли в качестве эталонного показателя для непрямого определения токсичности лекарственного средства. В данной модели все группы обработки показали различные степени потери веса во время периода после введения дозы.

Как показано на фиг. 1, соединение 14 продемонстрировало более высокий уровень ингибирования роста опухоли (TGI: 96%) при дозах 10 мг/кг и 30 мг/кг и продемонстрировало в значительной степени более сильный эффект, чем энзалутамид (20 мг/кг, TGI: 45%) и эталонное вещество 1 (10 мг/кг, TGI: 60%). Как показано на фигуре 2, соединение 14 имело лучшую переносимость, чем эталонное вещество 1 при дозах 10 мг/кг и 30 мг/кг.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение, представленное формулой (II), его оптический изомер или фармакологически приемлемая соль



где каждое из колец A и B независимо представляет собой 3-8-членный гетероциклоалкил или 5-6-членный гетероарил, при этом 3-8-членный гетероциклоалкил или 5-6-членный гетероарил содержат 1, 2 или 3 атома N;

R₁ представляет собой CN;

R₂ представляет собой галоген или C₁₋₆алкил, необязательно замещенный 1, 2 или 3 R;

R₃ представляет собой C₁₋₆алкил;

R₄ представляет собой C₁₋₆алкил;

X представляет собой CH;

каждый из T₁, T₂, T₃ и T₄ независимо представляет собой C(R) или N;

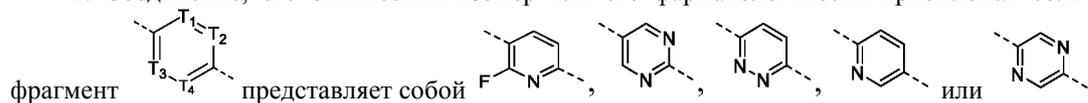
T₅ представляет собой -(C=O)- или -CH₂-;

L₂ представляет собой C₁₋₆алкилен-;

R представляет собой H, F, Cl, Br или I;

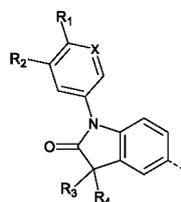
R₅ представляет собой H.

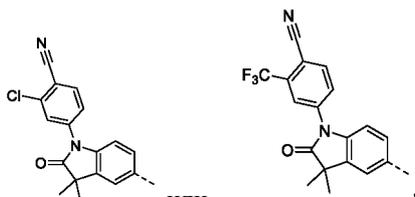
2. Соединение, его оптический изомер или его фармакологически приемлемая соль по п.1, где



3. Соединение, его оптический изомер или его фармакологически приемлемая соль по п.1 или 2, где каждый из R₃ и R₄ независимо представляет собой метил, этил, n-пропил или изопропил.

4. Соединение, его оптический изомер или его фармакологически приемлемая соль по пп.1, 2 или 3, где фрагмент





представляет собой

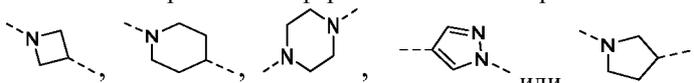
или

5. Соединение, его оптический изомер или его фармакологически приемлемая соль по любому из пп.1-4, где L_2 представляет собой $-CH_2-$, $-CH_2CH_2-$ или $-CH_2CH_2CH_2-$.

6. Соединение, его оптический изомер или его фармакологически приемлемая соль по любому из пп.1-5, где кольцо А и кольцо В независимо представляют собой 4-6-членный гетероциклоалкил.

7. Соединение, его оптический изомер или его фармакологически приемлемая соль по любому из пп.1-5, где кольцо А представляет собой азетидинил, пиперидинил, пиперазинил, пиразолил или тетрагидропирролил.

8. Соединение, его оптический изомер или его фармакологически приемлемая соль по п.7, где



кольцо А представляет собой

9. Соединение, его оптический изомер или его фармакологически приемлемая соль по любому из пп.6-8, где кольцо В представляет собой пиперазинил, тетрагидропирролил, пиперидинил или азетидинил.

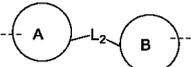
10. Соединение, его оптический изомер или его фармакологически приемлемая соль по п.9, где

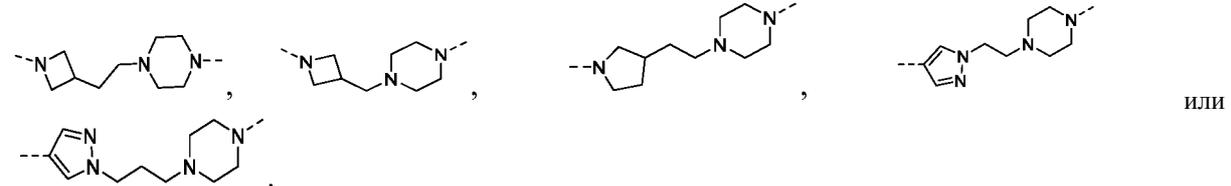


кольцо В представляет собой

или

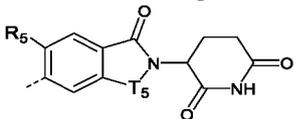
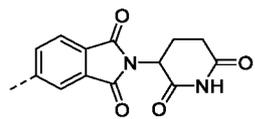
11. Соединение, его оптический изомер или его фармакологически приемлемая соль по любому из

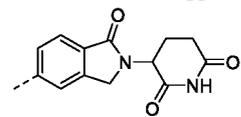
пп.1-5, где фрагмент  представляет собой



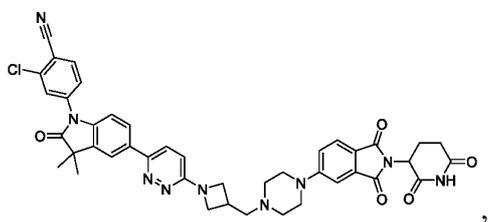
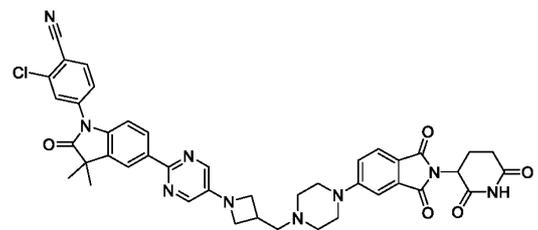
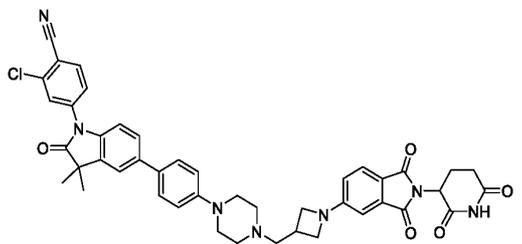
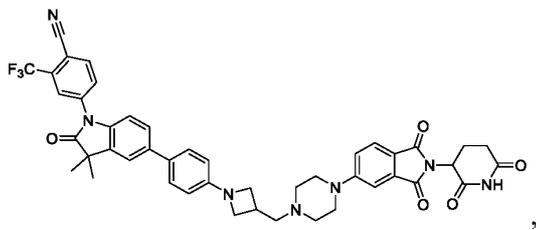
или

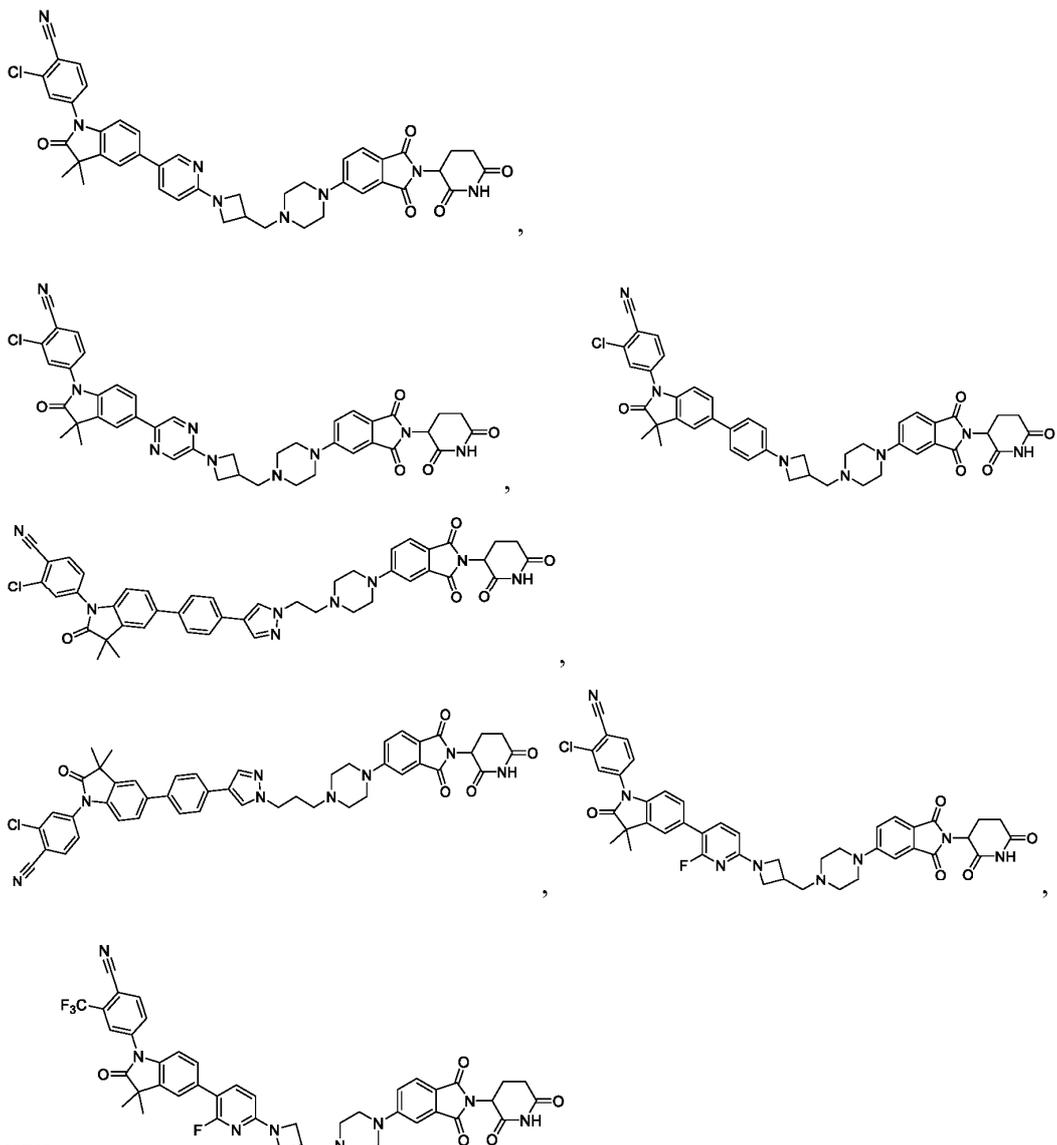
12. Соединение, его оптический изомер или его фармакологически приемлемая соль по любому из

пп.1-11, где фрагмент  представляет собой  или

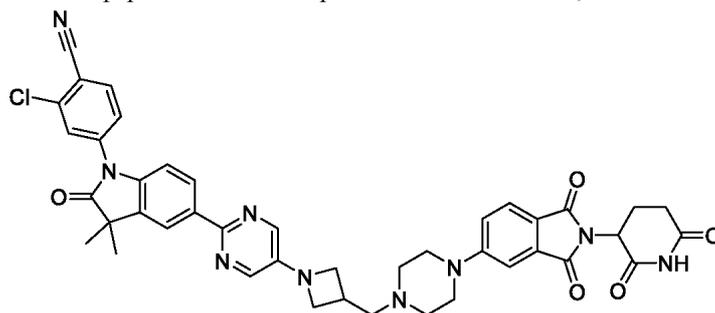


13. Соединение по п.1, его оптический изомер или его фармакологически приемлемая соль, при этом соединении представляет собой

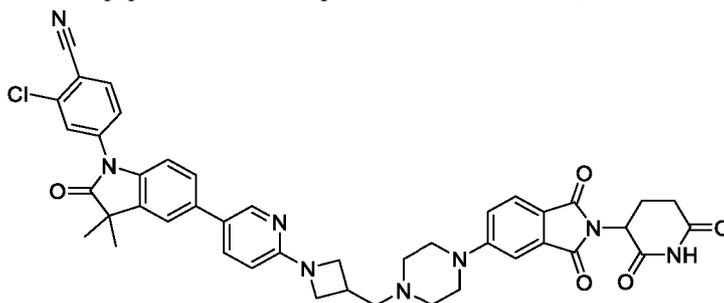




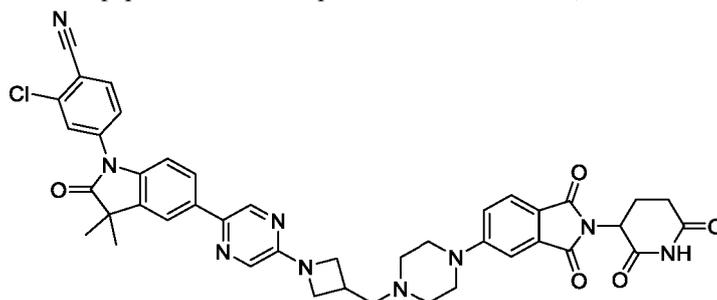
14. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль по п.1, где соединение имеет формулу



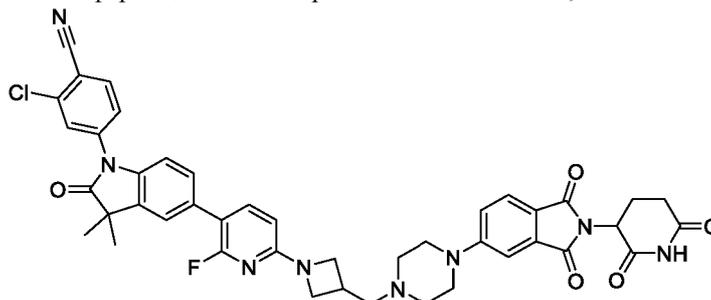
15. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль по п.1, где соединение имеет формулу



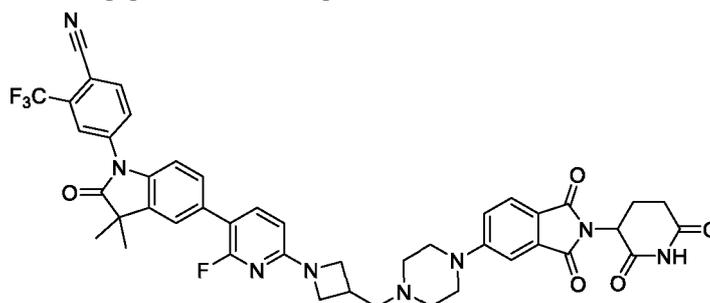
16. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль по п.1, где соединение имеет формулу



17. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль по п.1, где соединение имеет формулу



18. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль по п.1, где соединение имеет формулу

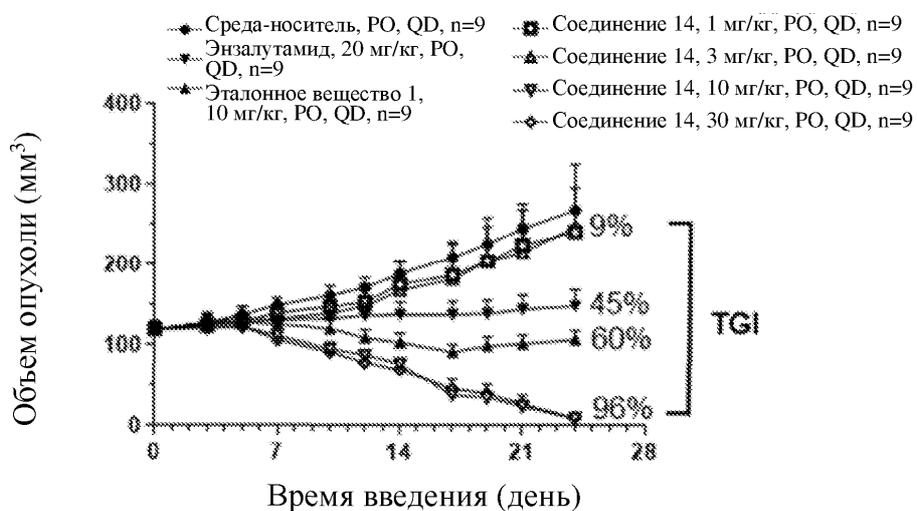


19. Применение соединения, его оптического изомера или его фармакологически приемлемой соли по любому из пп.1-18 для лечения рака.

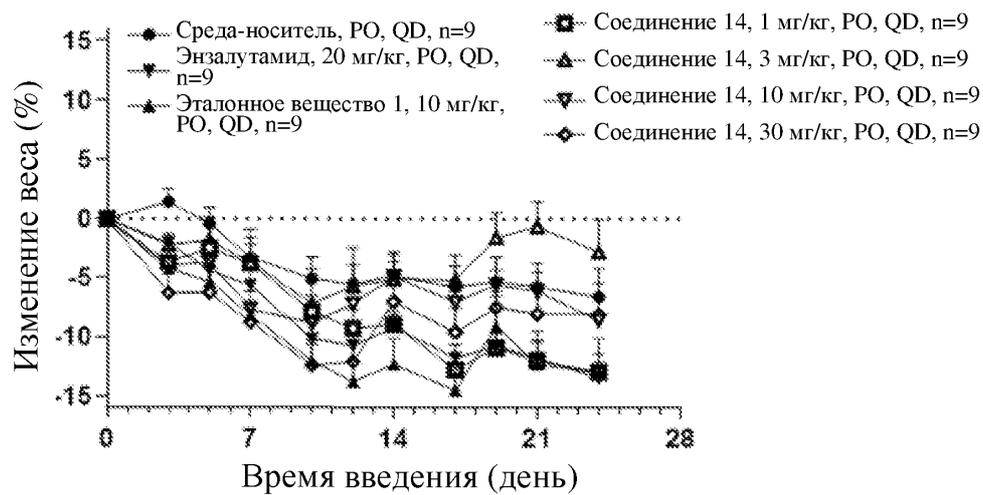
20. Применение по п.19, где рак представляет собой рак предстательной железы.

21. Применение по п.19, где рак представляет собой рак молочной железы.

22. Применение соединения, его оптического изомера или его фармакологически приемлемой соли по любому из пп.1-18 для предупреждения или лечения болезни Кеннеди.



Фиг. 1



Фиг. 2

