

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 047606

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2024.08.13

(21) Номер заявки
202192684

(22) Дата подачи заявки
2020.04.10

(51) Int. Cl. C07D 401/04 (2006.01)
C07D 405/04 (2006.01)
C07D 487/04 (2006.01)
A61K 31/497 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)

(54) АГОНИСТЫ GLP-1R И ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

(31) PCT/CN2019/082381

(32) 2019.04.12

(33) CN

(43) 2021.12.28

(86) PCT/CN2020/084203

(87) WO 2020/207474 2020.10.15

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:

ЦИЛУ РЕГОР ТЕРАПЬЮТИКС ИНК.
(CN)

(72) Изобретатель:

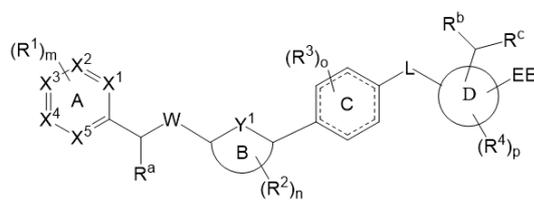
Чжун Вэнэ (US), Го Вэй (CN)

(74) Представитель:

Гизатуллина Е.М., Гизатуллин
Ш.Ф., Угрюмов В.М., Строкова О.В.,
Джермакян Р.В., Костюшенкова М.Ю.
(RU)

(56) WO-A1-2019239371
WO-A1-2018109607
WO-A2-2013090454
WO-A1-2011143365

(57) В изобретении представлены соединения формулы (I)



(I),

и их фармацевтические композиции для применения, например, в лечении сахарного диабета 2 типа, преддиабета, ожирения, неалкогольной жировой болезни печени, неалкогольного стеатогепатита и сердечно-сосудистого заболевания.

B1

047606

047606

B1

Перекрестная ссылка на родственные заявки

По настоящей заявке испрашивается приоритет международной патентной заявки PCT/CN 2019/082381, поданной 12 апреля 2019 г. Полное содержание вышеупомянутой заявки включено в данный документ посредством ссылки.

Уровень техники

Диабет представляет собой серьезную угрозу для здоровья населения из-за его растущей распространенности и связанных с ним рисков для здоровья. Указанное заболевание характеризуется высоким уровнем глюкозы в крови, вызванным нарушениями выработки инсулина, действия инсулина, или обоими указанными факторами. Известны две основные формы диабета: диабет 1 типа и 2 типа. Диабет 1 типа (СД1) развивается, когда иммунная система организма разрушает бета-клетки поджелудочной железы, единственные клетки в организме, вырабатывающие гормон инсулин, который регулирует уровень глюкозы в крови. Для выживания людям с диабетом 1 типа необходимо вводить инсулин путем инъекции или с использованием помпы. Сахарный диабет 2 типа (в общем случае называемый СД2), как правило, начинается либо с инсулинорезистентности, либо при выработке инсулина, недостаточной для поддержания приемлемого уровня глюкозы.

В настоящее время доступны разные фармакологические подходы для лечения гипергликемии, а, следовательно, и СД2 (Hampp et al., Use of Antidiabetic Drugs in the U.S., 2003-2012, Diabetes Care 37:1367-1374, 2014). Они могут быть разделены на шесть основных классов, каждый из которых имеет отличный от других основной механизм действия.

Секретагоги инсулина, включая сульфонилмочевины (например, глипизид, глимепирид, глибурид), меглитиниды (например, натеглинид, репаглинид), ингибиторы дипептидилпептидазы IV (DPP-IV) (например, ситаглиптин, вилдаглиптин, алоглиптин, дутоглиптин, линаглиптин, саксаглиптин) и агонисты рецептора глюкагоноподобного пептида-1 (GLP-1R) (например, лираглутид, албиглутид, эксенатид, лисисенатид, дулаглутид, семаглутид), повышают секрецию инсулина, воздействуя на бета-клетки поджелудочной железы. Сульфонилмочевины и меглитиниды имеют ограниченную эффективность и переносимость, вызывают набор массы тела и часто индуцируют гипогликемию. Ингибиторы DPP-IV имеют ограниченную эффективность. Доступные на рынке агонисты GLP-1R представляют собой пептиды, которые вводят путем подкожной инъекции. Лираглутид, кроме того, одобрен для лечения ожирения.

Как полагают, бигуаниды (например, метформин) действуют, главным образом, путем снижения выработки глюкозы в печени. Бигуаниды часто вызывают желудочно-кишечные расстройства и лактацидоз, что еще больше ограничивает их применение.

Ингибиторы альфа-глюкозидазы (например, акарбоза) снижают всасывание глюкозы в кишечнике. Указанные агенты часто вызывают желудочно-кишечные расстройства.

Тиазолидиндионы (например, пиоглитазон, росиглитазон) действуют на специфический рецептор (активируемый пролифераторами пероксисом рецептор-гамма) в печени, мышцах и жировых тканях. Они регулируют метаболизм липидов, усиливая последующий ответ в указанных тканях на действие инсулина. Частое применение указанных лекарственных средств может приводить к набору массы тела и может индуцировать отек и анемию.

Инсулин применяют в более тяжелых случаях, либо отдельно, либо в комбинации с указанными выше агентами, и его частое применение может также приводить к набору массы тела и сопряжено с риском гипогликемии.

Ингибиторы натрий-глюкозного котранспортера 2 (SGLT2) (например, дапаглифлозин, эмпаглифлозин, канаглифлозин, эртуглифлозин) ингибируют реабсорбцию глюкозы в почках и тем самым снижают уровень глюкозы в крови. Этот новый класс лекарственных средств может быть связан с кетоацидозом и инфекциями мочевыводящих путей.

Тем не менее, указанные лекарственные средства, за исключением агонистов GLP-1R и ингибиторов SGLT2, имеют ограниченную эффективность и не решают самые важные проблемы - снижение функции β -клеток и связанное с ним ожирение.

Ожирение представляет собой хроническое заболевание, которое широко распространено в современном обществе и связано с многочисленными медицинскими проблемами, включая гипертензию, гиперхолестеринемию и ишемическую болезнь сердца. Кроме того, оно тесно связано с СД2 и инсулинорезистентностью, причем последняя обычно сопровождается гиперинсулинемией или гипергликемией, или обоими указанными состояниями. Кроме того, СД2 связан с повышенным в два-четыре раза риском ишемической болезни сердца. В настоящее время единственным способом лечения, который устраняет ожирение с высокой эффективностью, является бариатрическая хирургия, но этот способ является дорогостоящим и рискованным. Фармакологическое вмешательство, в общем случае, является менее эффективным и связано с побочными эффектами.

Таким образом, существует потребность в более эффективном способе фармакологического вмешательства с меньшим числом побочных эффектов и удобным для проведения.

Хотя СД2 чаще всего связан с гипергликемией и инсулинорезистентностью, другие заболевания, связанные с СД2, включают печеночную инсулинорезистентность, нарушение толерантности к глюкозе, диабетическую нейропатию, диабетическую нефропатию, диабетическую ретинопатию, ожирение, дис-

липидемию, гипертензию, гиперинсулинемию и неалкогольную жировую болезнь печени (НАЖБП).

НАЖБП представляет собой печеночное проявление метаболического синдрома и охватывает спектр состояний печени, включая стеатоз, неалкогольный стеатогепатит (НАСГ), фиброз, цирроз и, в конечном итоге, гепатоцеллюлярную карциному.

НАЖБП и НАСГ считаются основными жировыми заболеваниями печени, так как на их долю приходится наибольшее число особ с повышенным уровнем липидов в печени. Тяжесть НАЖБП/НАСГ определяется присутствием липидов, инфильтратом воспалительных клеток, баллонированием гепатоцитов и степенью фиброза. Несмотря на то, что стеатоз прогрессирует до НАСГ не у всех индивидуумов, у значительной их части это происходит.

GLP-1 представляет собой гормон инкретинового ряда длиной 30 аминокислот, секретируемый L-клетками в кишечнике в ответ на прием пищи. Было показано, что GLP-1 стимулирует секрецию инсулина физиологическим и глюкозозависимым образом, снижает секрецию глюкагона, подавляет опорожнение желудка, снижает аппетит и стимулирует пролиферацию бета-клеток. В доклинических экспериментах GLP-1 способствует поддержанию компетенции бета-клеток путем стимуляции транскрипции генов, имеющих важное значение для глюкозозависимой секреции инсулина и усиления неогенеза бета-клеток (Meier et al., *Biodrugs*. 17(2): 93-102, 2013).

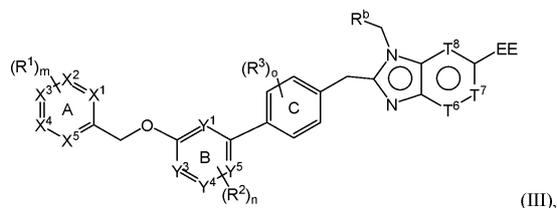
У здорового индивидуума GLP-1 играет важную роль, регулируя уровень глюкозы в крови после приема пищи путем стимуляции глюкозозависимой секреции инсулина в поджелудочной железе, что приводит к повышенному всасыванию глюкозы в периферических органах. GLP-1 также подавляет секрецию глюкагона, что приводит к снижению выброса глюкозы печенью. Кроме того, GLP-1 задерживает опорожнение желудка и замедляет перистальтику тонкого кишечника, задерживая всасывание пищи. У людей с СД2 нормальное повышение уровня GLP-1 после приема пищи не происходит или понижено (Vilsboll et al., *Diabetes*. 50:609-613, 2001).

В работах Hoist (*Physiol. Rev.* 87:1409, 2007) и Meier (*Nat. Rev. Endocrinol.* 8:728, 2012) описано, что агонисты рецептора GLP-1, такие как GLP-1, лираглутид и эксендин-4, обладают 3 основными видами фармакологической активности для улучшения гликемического контроля у пациентов с СД2 путем снижения уровней глюкозы натощак и после приема пищи (FPG и PPG): (i) повышение глюкозозависимой секреции инсулина (улучшение в первой и второй фазах), (ii) глюкагонподавляющая активность в условиях гипергликемии, (iii) задержка опорожнения желудка, приводящая к замедленному всасыванию глюкозы, получаемой с пищей.

Сохраняется потребность в легко реализуемом способе предотвращения и/или лечения кардиометаболических и связанных с ними заболеваний.

Сущность изобретения

В одном аспекте настоящее изобретение предусматривает соединение, представленное структурной формулой (III)



или его фармацевтически приемлемая соль, где каждый из X^1 , X^2 , X^3 , X^4 и X^5 независимо выбирают из N и CH, при этом не более чем один из X^1 , X^2 , X^3 , X^4 и X^5 представляет собой N;

кольцо B представляет собой 6-членный гетероарил или фенил, причем Y^1 , Y^3 , Y^4 и Y^5 каждый независимо выбирают из N или CH; причем кольцо B содержит не более 2 кольцевых атомов азота;

каждый из T^6 , T^7 и T^8 независимо выбирают из N и CR⁴;

EE представляет собой -COOH;

R^b представляет собой 3-7-членный насыщенный гетероцикл;

каждый R^1 независимо выбирают из галогена, -CN и 5-8-членного гетероарила;

каждый R^2 представляет собой галоген;

каждый R^3 представляет собой галоген или C₁-C₄-алкил;

каждый R^4 независимо выбирают из H, F и Cl;

m обозначает целое число, выбранное из 1 или 2;

n обозначает целое число, выбранное из 0, 1 или 2;

o обозначает целое число, выбранное из 0, 1 или 2; и

где гетероарил содержит не более 2 кольцевых гетероатомов азота, где гетероцикл содержит 1 кольцевой гетероатом кислорода.

В одном аспекте настоящее изобретение предусматривает фармацевтическую композицию, содержащую соединение структурной формулы (III) или его фармацевтически приемлемую соль, как определено в любом из вариантов реализации, описанных в данном документе, и фармацевтически приемлемый

эксципиент.

Согласно другому аспекту настоящее изобретение предусматривает способ лечения заболевания, включающий введение субъекту, нуждающемуся в таком лечении, терапевтически эффективного количества соединения структурной формулы (III) или его фармацевтически приемлемой соли, причем заболевание представляет собой диабет 1 типа (СД1), сахарный диабет 2 типа (СД2), ожирение, гипергликемию, неалкогольный стеатогепатит (НАСГ), болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона или неалкогольную жировую болезнь печени (НАЖБП).

Согласно другому аспекту настоящее изобретение предусматривает применение терапевтически эффективного количества соединения структурной формулы (III) или его фармацевтически приемлемой соли для получения лекарственного средства для лечения нуждающегося в этом субъекта, страдающего от заболевания, причем заболевание представляет собой диабет 1 типа (СД1), сахарный диабет 2 типа (СД2), ожирение, гипергликемию, неалкогольный стеатогепатит (НАСГ), болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона или неалкогольную жировую болезнь печени (НАЖБП).

Краткое описание графических материалов

На фиг. 1 показаны кривые зависимости доза-ответ для исследования рекрутинга GLP-1R/ β -аррестина при использовании определенных соединений по настоящему изобретению и GLP-1 (7-37) в качестве контроля. По вертикальной оси отложен относительный эффект исследуемых соединений, нормированный по уровню эффекта для природного лиганда GLP-1 (7-37), выраженному в процентах. Фиг. 1 сравнивает Соединения 74-91, 93-95, 100 и 101 с GLP-1 (7-37).

На фиг. 2 показаны кривые зависимости доза-ответ для исследования интернализации GLP-1R/ β -аррестина при использовании определенных соединений по настоящему изобретению и GLP-1 (7-37) в качестве контроля. По вертикальной оси отложен относительный эффект исследуемых соединений, нормированный по уровню эффекта для природного лиганда GLP-1 (7-37), выраженному в процентах. Две панели на фиг. 2 сравнивают соединения 74-80, 93-95, 100 и 101 (левая панель) и соединения 81-91 (правая панель), соответственно, с GLP-1 (7-37).

На фиг. 3 показано изменение во времени ответов в анализе NanoBit как для GLP-1 (7-37), так и для соединения 94, при различных концентрациях соединений.

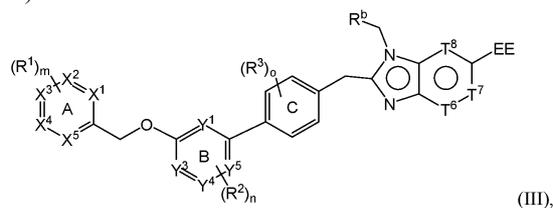
На фиг. 4 показаны кривые зависимости доза-ответ в анализе NanoBit GLP-1R/ β -аррестина при использовании определенных соединений по настоящему изобретению и GLP-1 (7-37) в качестве контроля. По вертикальной оси отложены относительные эффекты исследуемых соединений, нормированные по уровню эффекта для природного лиганда GLP-1 (7-37), выраженному в процентах. На двух панелях фиг. 4 сравнивают данные для соединений 74-91, 93-95, 100 и 101 с GLP-1 (7-37), полученные через 3 и 5 мин соответственно.

На фиг. 5 показаны результаты анализа цАМФ с использованием GLP-1R обезьяны для выбранных соединений по настоящему изобретению (т.е. соединений 75, 84, 93 и 94) и GLP-1 (7-37) в качестве контроля.

Подробное описание изобретения

1. Соединения

В первом варианте реализации настоящее изобретение предусматривает соединение, представленное структурной формулой (III)



или его фармацевтически приемлемая соль, где каждый из X^1 , X^2 , X^3 , X^4 и X^5 независимо выбирают из N и CH, при этом не более чем один из X^1 , X^2 , X^3 , X^4 и X^5 представляет собой N;

кольцо B представляет собой 6-членный гетероарил или фенил, причем Y^1 , Y^3 , Y^4 и Y^5 , каждый, независимо выбирают из N или CH, причем кольцо B содержит не более 2 кольцевых атомов азота;

каждый из T^6 , T^7 и T^8 независимо выбирают из N и CR⁴;

EE представляет собой -COOH;

R^b представляет собой 3-7-членный насыщенный гетероцикл;

каждый R¹ независимо выбирают из галогена, -CN и 5-8-членного гетероарила;

каждый R² представляет собой галоген;

каждый R³ представляет собой галоген или C₁-C₄-алкил;

каждый R⁴ независимо выбирают из H, F и Cl;

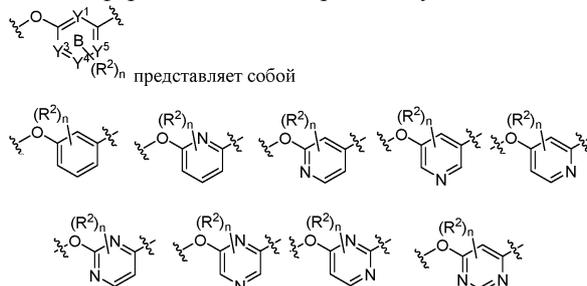
m обозначает целое число, выбранное из 1 или 2;

n обозначает целое число, выбранное из 0, 1 или 2;

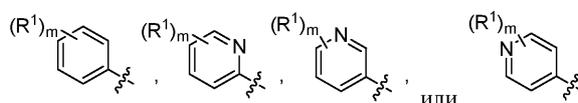
o обозначает целое число, выбранное из 0, 1 или 2; и

где гетероарил содержит не более 2 кольцевых гетероатомов азота, где гетероцикл содержит 1 кольцевую гетероатом кислорода.

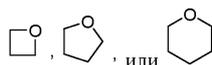
Во втором варианте реализации настоящее изобретение предусматривает соединение согласно первому варианту реализации, или его фармацевтически приемлемую соль, где



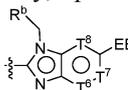
В третьем варианте реализации настоящее изобретение относится к соединению согласно первому или второму вариантам реализации, или его фармацевтически приемлемой соли, где кольцо А представляет собой

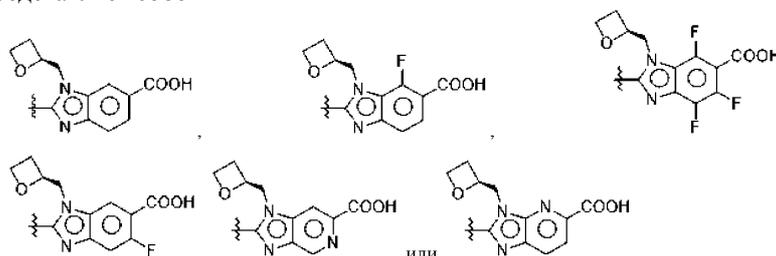


В четвертом варианте реализации настоящее изобретение предусматривает соединение согласно первому, второму или третьему вариантам реализации или его фармацевтически приемлемую соль, где R^b представляет собой

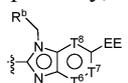


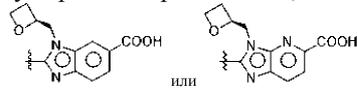
В пятом варианте реализации настоящее изобретение относится к соединению согласно первому, второму, третьему или четвертому вариантам реализации, или его фармацевтически приемлемой соли,

где  представляет собой



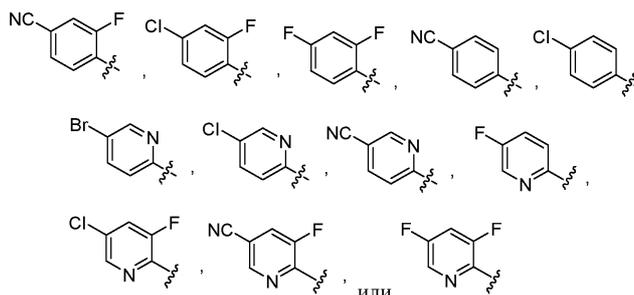
В шестом варианте реализации настоящее изобретение относится к соединению согласно второму, третьему, четвертому или пятому вариантам реализации, или его фармацевтически приемлемой соли, где

где  представляет собой



В седьмом варианте реализации настоящее изобретение предусматривает соединение согласно первому, второму, третьему, четвертому, пятому или шестому вариантам реализации, или его фармацевтически приемлемую соль, где каждый R³ представляет собой F, Cl или CH₃; и о равен 0, 1 или 2.

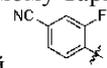
В восьмом варианте реализации настоящее изобретение предусматривает соединение согласно первому, второму, третьему, четвертому, пятому, шестому или седьмому вариантам реализации, где кольцо А представляет собой



В девятом варианте реализации настоящее изобретение предусматривает соединение согласно пер-

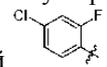
вому, второму, третьему, четвертому, пятому, шестому, seventhому или восьмому вариантам реализации

или его фармацевтически приемлемую соль, где кольцо А представляет собой



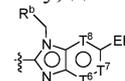
В десятом варианте реализации настоящее изобретение предусматривает соединение согласно первому, второму, третьему, четвертому, пятому, шестому, seventhому или восьмому вариантам реализации

или его фармацевтически приемлемую соль, где кольцо А представляет собой

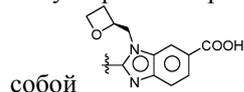


В одиннадцатом варианте реализации настоящее изобретение предусматривает соединение согласно первому, второму, третьему, четвертому, пятому, шестому, seventhому, восьмому, девятому или деся-

тому вариантам реализации или его фармацевтически приемлемую соль, где

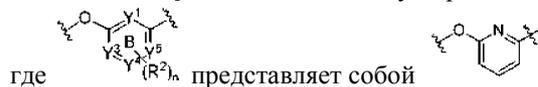


представляет собой



В двенадцатом варианте реализации настоящее изобретение предусматривает соединение согласно первому, второму, третьему, четвертому, пятому, шестому, seventhому, восьмому, девятому, десятому или одиннадцатому вариантам реализации или его фармацевтически приемлемую соль, где каждый R^3 представляет собой F или CH_3 ; и n равен 2.

В тринадцатом варианте реализации настоящее изобретение предусматривает соединение согласно первому, второму, третьему, четвертому, пятому, шестому, seventhому, восьмому, девятому, десятому, одиннадцатому или двенадцатому вариантам реализации, или его фармацевтически приемлемую соль,



где $(R^2)_n$ представляет собой

В одном варианте реализации соединение или его фармацевтически приемлемая соль, стереоизомер, сольват или гидрат выбирают из соединений, описанных в примерах и в табл. 1.

2. Определения

Термин "галоген", используемый в данном документе, относится к фториду, хлориду, бромиду или йодиду.

Термин "алкил", используемый отдельно или как часть более крупного фрагмента, такого как "алкокси" или "галоидалкил" и т.п., означает насыщенный алифатический одновалентный углеводородный радикал с прямой или разветвленной цепью формулы $-C_nH_{(2n+1)}$. Если не указано иное, алкильная группа обычно содержит 1-4 атома углерода, т.е. (C_1 - C_4)алкил. При использовании в данном документе, "(C_1 - C_4)алкильная" группа означает радикал, имеющий от 1 до 4 атомов углерода с линейной или разветвленной конфигурацией. Примеры включают метил, этил, *n*-пропил, изопропил и т.п.

Термин "алкилен", используемый в данном документе, обозначает линейную или разветвленную двухвалентную углеводородную группу формулы $-C_nH_{2n-}$. Неограничивающие примеры включают этилен и пропилен.

Термин "алкенил" означает алкильную группу, в которой одна или более одинарных углерод-углеродных связей заменены двойной связью.

Термин "алкинил" означает алкильную группу, в которой одна или более одинарных углерод-углеродных связей заменены тройной связью.

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

Термины "галоидалкил" и "галоидалкокси" означают алкил или алкокси, в зависимости от обстоятельств, замещенные одним или более атомами галогена.

Термины "гидроксиалкил" и "гидроксиалкокси" означают алкил или алкокси, в зависимости от обстоятельств, замещенные одной или более гидроксильными группами.

Термин "циклоалкил", используемый в данном документе, означает циклическую углеводородную группу, содержащую по меньшей мере три атома углерода (например, C_3 , C_4 , C_5 , C_6 , C_7 , C_8 , или C_{3-8} или C_{3-6}). Циклоалкил может быть (полностью) насыщенным или частично насыщенным (т.е. неароматическим), и может содержать одну или более углерод-углеродных двойных связей.

Полностью насыщенный циклоалкил имеет формулу $C_nH_{(2n-1)}$. Неограничивающие примеры включают циклопропил, циклобутил, циклопентил и циклогексил.

Термин "гетероциклил" или "гетероциклический" относится к радикалу 3-12-членной неароматической кольцевой системы, содержащей кольцевые атомы углерода и от 1 до 4 кольцевых гетероатомов, причем каждый гетероатом независимо выбирают из азота, четвертичного азота, окисленного азота (например, NO), кислорода и серы, включая сульфоксиды и сульфоны ("3-12-членный гетероциклил"). В некоторых вариантах реализации гетероциклильная группа представляет собой 3-8-членную неаромати-

ческую кольцевую систему, содержащую кольцевые атомы углерода и 1-4 кольцевых гетероатомов, причем каждый гетероатом независимо выбирают из азота, кислорода и серы ("3-8-членный гетероцикл"). В гетероциклических группах, которые содержат один или более атомов азота, точкой присоединения может быть атом углерода или азота, насколько позволяет валентность. Гетероциклическая группа может быть моноциклической ("моноциклический гетероцикл") или полициклической (например, бициклическая система ("бициклический гетероцикл") или трициклическая система ("трициклический гетероцикл")); полициклические кольцевые системы включают конденсированные, мостиковые или спирокольцевые системы. Примеры моноциклических гетероциклических групп включают азетидинил, оксетанил, тиетанил, тетрагидрофуранил, пирролидинил, пиперидинил, тетрагидропиранил, пиперазинил, морфолинил, азепанил, оксепанил, тиепанил, тетрагидропиридинил и т.п. Гетероциклические полициклические кольцевые системы могут включать гетероатомы в одном или более кольцах полициклической кольцевой системы. Заместители могут присутствовать в одном или более кольцах полициклической кольцевой системы.

В общем случае циклоалкил или гетероцикл может быть незамещенным или может быть замещен одним или более заместителями, если это допускает валентность, причем заместители могут быть независимо выбраны из ряда групп, таких как оксо-, -CN, галоген, алкил и алкоксил, необязательно, алкильный заместитель может быть дополнительно замещен.

Термин "гетероарил", используемый в данном документе, относится к моноциклическому или полициклическому ароматическому углеводороду, в котором по меньшей мере один из кольцевых атомов углерода заменен на гетероатом, независимо выбранный из кислорода, азота и серы. Предпочтительно, в основе гетероарила лежит C_{5-8} арил, в котором один или более кольцевых атомов углерода заменены на гетероатомы. Гетероарильная группа может быть присоединена через кольцевой атом углерода или, если это позволяет валентность, через кольцевой атом азота. В общем случае, гетероарил может быть незамещенным или может быть замещен одним или более заместителями, если это допускает валентность, причем заместители независимо выбирают из галогена, OH, алкила, алкоксила и аминогруппы (например, NH_2 , NH-алкила, N(алкил) $_2$), необязательно, алкил может быть дополнительно замещен.

Некоторые сокращения, используемые в данном документе, включают комнатная температура: КТ; метанол: MeOH; этанол: EtOH; изопропанол: iPrOH; этилацетат: EtOAc; тетрагидрофуран: THF; толуол: PhCH $_3$; карбонат цезия: Cs $_2$ CO $_3$; бис(триметилсилил)амид лития: LiHMDS; трет-бутоксид натрия: NaOt-Bu; трет-бутоксид калия: KOtBu; диизопропиламид лития: LDA; триэтиламин: Et $_3$ N; N,N-диизопропилэтиламин: DIPEA; карбонат калия: K $_2$ CO $_3$; диметилформамид: DMF; диметилацетамид: DMAA; диметилсульфоксид: DMSO; N-метил-2-пирролидинон: NMP; гидрид натрия: NaH; трифторуксусная кислота: TFA; ангидрид трифторуксусной кислоты: TFAA; уксусный ангидрид: Ac $_2$ O; дихлорметан: DCM; 1,2-дихлорэтан: DCE; хлороводородная кислота: HCl; 1,8-диазабисцикло[5.4.0]ундец-7-ен: DBU; комплекс борана-диметилсульфида: BH $_3$ -DMS; комплекс борана-тетрагидрофурана: BH $_3$ -THF; алюмогидрид лития: LAH; уксусная кислота: AcOH; ацетонитрил: MeCN; п-толуолсульфокислота: pTSCA; дибензилиденацетон: DBA; 2,2'-бис(дифенилфосфино)-1,1'-бинафталин: BINAP; 1,1'-ферроцендиил-бис(дифенилфосфин): dppe; 1,3-бис(дифенилфосфино)пропан: DPPP; 3-хлорпербензойная кислота: m-CPBA; метил-трет-бутиловый эфир: MTBE; метансульфонил: Ms; N-метилпирролидинон: NMP; тонкослойная хроматография: TLC; сверхкритическая флюидная хроматография: SFC; 4-(диметиламино)пиридин: DMAPI; трет-бутилоксикарбонил: Boc; гексафторфосфат 1-[бис(диметиламино)метил]-1H-1,2,3-триазоло[4,5-b]пиридиний-3-оксида: HATU; петролейный эфир: ПЭ; гексафторфосфат 2-(1H-бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилурония: HBTU; и 2-амино-2-(гидрокси-метил)пропан-1,3-диол: tris; трис(дибензилиденацетон)дипалладий: Pd $_2$ (dba) $_3$.

Спектры 1H ядерного магнитного резонанса (ЯМР) во всех случаях соответствовали предложенным структурам. Характеристические химические сдвиги (δ) приведены в миллионных долях относительно сигнала остаточного протона дейтерированного растворителя (CHCl $_3$ при 7,27 ppm; CD $_2$ HOD при 3,31 ppm; MeCN при 1,94 ppm; DMSO при 2,50 ppm) и указаны с использованием традиционных сокращений, принятых для обозначения основных пиков: например, с, синглет; д, дублет; т, триплет; кв, квинтет; м, мультиплет; ушир., уширенный пик. Спектры 1H ЯМР получали при напряженности магнитного поля 400 или 600 МГц, если не указано иное.

В настоящем документе волнистая линия обозначает место присоединения заместителя к другой группе.

Фармацевтически приемлемые соли

Фармацевтически приемлемые соли соединений любой из описанных выше формул включают соли присоединения кислот и оснований.

Подходящие соли присоединения кислот получают из кислот, образующих нетоксичные соли. Примеры включают ацетатную, адипатную, аспартатную, бензоатную, безилатную, бикарбонатную/карбонатную, бисульфатную/сульфатную, боратную, камзилатную, цитратную, цикламатную, эдзилатную, эзилатную, формиатную, фумаратную, глюцептатную, глюконатную, глюкуроонатную, гексафторфосфатную, гибензатную, гидрохлоридную/хлоридную, гидробромидную/бромидную, гидроиодидную/йодидную, изетионатную, лактатную, малатную, малеатную, малонатную, мезилатную, метилсуль-

фатную, нафтилатную, 2-напсилатную, никотинатную, нитратную, оротатную, оксалатную, пальмитатную, памоатную, фосфатную/гидрофосфатную/дигидрофосфатную, пироглутаматную, сахаратную, стеаратную, сукцинатную, таннатную, тартратную, тозилатную, трифторацетатную, 1,5-нафталиндисульфатную и ксинафоатную соли.

Подходящие соли оснований получают из оснований, образующих нетоксичные соли. Примеры включают соли алюминия, аргинина, бензатина, кальция, холина, диэтиламина, бис(2-гидроксиэтил)амин (диоламина), глицина, лизина, магния, меглумина, 2-аминоэтанола (оламина), калия, натрия, 2-амино-2-(гидроксиметил)пропан-1,3-диола (трис или трометамина) и цинка.

Также могут быть получены полусоли кислот и оснований, например, гемисульфатные и гемикальциевые соли. Обзор подходящих солей приведен в Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, Stahl and Wermuth (Wiley-VCH, 2002). Этот источник включен в данный документ посредством ссылки.

Фармацевтически приемлемые соли соединений любой из формул, описанных выше, могут быть получены одним или более из трех способов:

(i) путем проведения взаимодействия соединения любой из формул, описанных выше, с целевой кислотой или основанием;

(ii) путем удаления лабильной к действию кислот или оснований защитной группы из подходящего предшественника соединения любой из формул, описанных выше, или путем раскрытия кольца подходящего циклического предшественника, например лактона или лактама, с использованием целевой кислоты или основания; или

(iii) путем превращения одной соли соединения любой из формул, описанных выше, в другую путем проведения взаимодействия с соответствующей кислотой или основанием или с использованием подходящей ионообменной колонки.

Все три реакции, как правило, проводят в растворе. Полученная соль может осаждаться и может быть собрана путем фильтрования, или может быть выделена путем выпаривания растворителя. Степень ионизации полученной соли может варьироваться от полностью ионизированной до практически неионизированной.

Соединения любой из формул, описанных выше, и их фармацевтически приемлемые соли могут существовать в несольватированных и сольватированных формах.

Стереизомеры и другие варианты

Соединения любой из формул, описанных выше, могут проявлять один или более видов изомерии (например, оптической, геометрической изомерии или таутомерии). Соединения любой из формул, описанных выше, также могут быть изотопно мечеными. Указанные варианты подразумеваются неявным образом для соединений любой из описанных выше формул, фактически определяемых путем ссылки на их структурные признаки, и, таким образом, входят в объем изобретения.

Соединения любой из формул, описанных выше, содержащие один или более асимметрических атомов углерода, могут существовать в виде двух или более стереоизомеров. Если соединение любой из формул, описанных выше, содержит алкенильную или алкениленовую группу, то возможно существование геометрических *цис*-/*транс*- (или *Z*-/*E*-) изомеров. Если структурные изомеры могут превращаться друг в друга с прохождением через низкий энергетический барьер, может возникать таутомерная изомерия ("таутомерия"). Она может принимать форму протонной таутомерии в случае соединений любой из описанных выше формул, содержащих, например, имино-, кето- или оксимную группу, или так называемой валентной таутомерии в случае соединений, содержащих ароматический фрагмент. Из этого следует, что отдельное соединение может проявлять более чем один тип изомерии.

Соединения, содержащие один или более хиральных центров, могут существовать в разных стереоизомерных формах. Стереизомеры представляют собой соединения, которые различаются только пространственной конфигурацией. Стереизомеры включают все диастереомерные, энантиомерные и эпимерные формы, а также рацематы и их смеси. Термин "геометрический изомер" относится к соединениям, содержащим по меньшей мере одну двойную связь, причем двойная связь (связи) может существовать в *цис*- (также называемой *син*- или *entgegen* (*E*)) или *транс*- (также называемой *анти*- или *zusammen* (*Z*)) формах, а также в виде их смесей. Следует понимать, что если раскрытое соединение названо или изображено при помощи структуры без указания стереохимии, то указанное название или структура включают один или более возможных стереоизомеров или геометрических изомеров, или смесь охваченных стереоизомеров или геометрических изомеров.

Следует понимать, что если геометрический изомер обозначен при помощи названия или структуры, то указанный названный или изображенный изомер присутствует в большем количестве по сравнению с другим изомером, то есть изомерная чистота названного или изображенного геометрического изомера составляет более 50%, например по меньшей мере 60%, 70%, 80%, 90%, 99% или 99,9% по массе. Чистота геометрического изомера определяется отношением массы названного или изображенного геометрического изомера в смеси к общей массе всех геометрических изомеров в смеси.

Рацемическая смесь обозначает присутствие 50% одного энантиомера и 50% соответствующего другого энантиомера. Следует понимать, что если соединение, содержащее один хиральный центр, на-

звано или изображено без указания стереохимии хирального центра, то его название или структура включает обе возможные энантиомерные формы (например, обе энантиомерно чистые, энантиомерно обогащенные или рацемические формы) соединения. Следует понимать, что если соединение, содержащее два или более хиральных центров, названо или изображено без указания стереохимии хиральных центров, то его название или структура включает все возможные диастереомерные формы (например, диастереомерно чистые, диастереомерно обогащенные и эквимолярные смеси одного или более диастереомеров (например, рацемические смеси)) соединения.

Смеси энантиомеров и диастереомеров могут быть разделены на составляющие их энантиомеры или стереоизомеры хорошо известными способами, такими как газовая хроматография на хиральной фазе, высокоэффективная жидкостная хроматография на хиральной фазе, кристаллизация соединения в виде хирального солевого комплекса или кристаллизация соединения в хиральном растворителе. Энантиомеры и диастереомеры также могут быть получены с использованием диастереомерно или энантиомерно чистых промежуточных соединений, реагентов и катализаторов хорошо известными способами асимметричного синтеза.

Если соединение обозначено при помощи названия или структуры, которые относятся к одному энантиомеру, то, если не указано иное, соединение имеет оптическую чистоту по меньшей мере 60%, 70%, 80%, 90%, 99% или 99,9% (и также называется "энантиомерно чистым"). Оптическая чистота представляет собой отношение массы в смеси названного или изображенного энантиомера к общей массе в смеси обоих энантиомеров.

Следует понимать, что если стереохимия описанного соединения обозначена при помощи названия или изображена при помощи структуры, и названная или изображенная структура включает более чем один стереоизомер (например, в случае пары диастереомеров), то включен один из описанных стереоизомеров или любая смесь описанных стереоизомеров. Кроме того, следует понимать, что стереоизомерная чистота названных или изображенных стереоизомеров составляет по меньшей мере 60%, 70%, 80%, 90%, 99% или 99,9% по массе. Стереоизомерная чистота в данном случае определяется отношением общей массы в смеси обозначенных при помощи названия или структуры стереоизомеров к общей массе в смеси всех стереоизомеров.

Фармацевтически приемлемые соли соединений любой из формул, описанных выше, также могут содержать противоион, который является оптически активным (например, d-лактат или l-лизин) или рацемическим (например, dl-тарtrat или dl-аргинин).

Цис/транс-изомеры могут быть разделены традиционными способами, хорошо известными специалистам в данной области техники, например, путем хроматографии и фракционной кристаллизации.

Традиционные способы получения/выделения отдельных энантиомеров включают хиральный синтез из подходящего оптически чистого предшественника или разделение рацемата (или рацемата соли или производного), например, путем хиральной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). В качестве альтернативы, рацемат (или рацемический предшественник) можно приводить во взаимодействие с подходящим оптически активным соединением, например, со спиртом или, в случае соединения любой из формул, описанных выше, содержащего кислотный или основной фрагмент, с основанием или кислотой, такими как l-фенилэтиламин или винная кислота. Полученная смесь диастереомеров может быть разделена путем хроматографии и/или фракционной кристаллизации, и один из или оба диастереомера могут быть превращены в соответствующие чистые энантиомеры средствами, хорошо известными специалисту.

Хиральные соединения любой из формул, описанных выше (и их хиральные предшественники) могут быть получены в энантиомерно обогащенной форме путем хроматографии, как правило, ВЭЖХ, на асимметричной смоле с использованием подвижной фазы, состоящей из углеводорода, как правило, гептана или гексана, содержащего от 0 до 50% об. изопропанола, как правило, от 2 до 20% и от 0 до 5 об.% алкиламина, как правило, 0,1% диэтиламина. Концентрирование элюата приводит к получению обогащенной смеси. Можно применять хиральную хроматографию с использованием суб- и сверхкритических флюидов. Способы хиральной хроматографии, подходящие для некоторых вариантов реализации настоящего изобретения, известны в данной области техники (см., например, Smith, Roger M., Loughborough University, Loughborough, UK; *Chromatographic Science Series* (1998), 75 (*Supercritical Fluid Chromatography with Packed Columns*), pp. 223-249, и ссылки, цитируемые в указанной работе). Колонки могут быть получены от фирмы Chiral Technologies, Inc. (Вест-Честер, Пенсильвания, США), дочерней компании Daicel® Chemical Industries, Ltd. (Токио, Япония).

Необходимо подчеркнуть, что хотя соединения любой из описанных выше формул изображены в данном документе в одной таутомерной форме, все возможные таутомерные формы включены в объем настоящего изобретения.

3. Введение и дозирование

Как правило, соединение по настоящему изобретению вводят в количестве, эффективном для лечения состояния, как описано в данном документе. Соединения по настоящему изобретению могут быть введены в виде соединения как такового или, в качестве альтернативы, в виде его фармацевтически приемлемой соли. Для задач введения и дозирования соединения как таковое или его фармацевтически при-

емлемая соль будут называться просто соединениями по настоящему изобретению.

Соединения по настоящему изобретению вводят любым подходящим способом в виде фармацевтической композиции, адаптированной для указанного способа, в дозе, эффективной для предполагаемого лечения. Соединения по настоящему изобретению могут быть введены перорально, ректально, внутривагинально, парентерально или местно.

Соединения по настоящему изобретению могут быть введены перорально. Пероральное введение может включать проглатывание, в результате чего соединение поступает в желудочно-кишечный тракт, или может применяться трансбуккальное или подязычное введение, в результате чего соединение поступает в кровоток непосредственно из полости рта.

В другом варианте реализации соединения по настоящему изобретению также могут быть введены напрямую в кровоток, в мышцу или во внутренний орган. Подходящие средства для парентерального введения включают внутривенные, внутриартериальные, интраперитонеальные, интратекальные, внутрижелудочковые, интрауретральные, внутригрудинные, интракраниальные, внутримышечные и подкожные. Подходящие устройства для парентерального введения включают игольчатые (включая микроигольчатые) инъекторы, безыгольные инъекторы и инфузионные методы.

В другом варианте реализации соединения по настоящему изобретению также могут быть нанесены местно на кожу или слизистую оболочку, т.е. дермально или трансдермально. В другом варианте реализации соединения по настоящему изобретению также могут быть введены интраназально или путем ингаляции. В другом варианте реализации соединения по настоящему изобретению могут быть введены ректально или внутривагинально. В другом варианте реализации соединения по настоящему изобретению также могут быть введены напрямую в глаз или ухо.

Режим введения соединений по настоящему изобретению и/или композиций, содержащих указанные соединения, определяется рядом факторов, включая тип, возраст, массу тела, пол и медицинское состояние пациента; тяжесть состояния; путь введения; и активность конкретного применяемого соединения. Таким образом, режим введения может изменяться в широких пределах. В одном из вариантов реализации общая суточная доза соединения по настоящему изобретению, как правило, составляет от около 0,001 до около 100 мг/кг (т.е. мг соединения по настоящему изобретению на кг массы тела) для лечения указанных состояний, описанных в данном документе. В другом варианте реализации общая суточная доза соединения по настоящему изобретению составляет от около 0,01 до около 30 мг/кг, и в другом варианте реализации от около 0,03 до около 10 мг/кг, и еще в одном варианте реализации от около 0,1 до около 3 мг/кг. Нередко введение соединений по настоящему изобретению повторяют несколько раз в день (как правило, не более 4 раз). При желании, для увеличения общей суточной дозы, как правило, можно вводить несколько доз в день.

При пероральном введении композиции могут быть предусмотрены в виде таблеток, содержащих 0,1, 0,5, 1,0, 2,5, 5,0, 10,0, 15,0, 25,0, 30,0, 50,0, 75,0, 100, 125, 150, 175, 200, 250 и 500 мг активного ингредиента, для симптоматического регулирования дозировки у пациента. Лекарственное средство, как правило, содержит от около 0,01 до около 500 мг активного ингредиента или в другом варианте реализации от около 1 до около 100 мг активного ингредиента. При внутривенном введении дозы могут составлять от около 0,01 до около 10 мг/кг/мин при постоянной скорости инфузии.

Подходящие субъекты или пациенты согласно изобретению включают субъектов-млекопитающих, включая млекопитающих, не являющихся человеком, таких как приматы, грызуны (мыши, крысы, хомяки, кролики и т.д.). В одном из вариантов реализации подходящими субъектами являются люди. Субъекты-люди могут быть любого пола и находиться на любой стадии развития.

4. Фармацевтические композиции

В другом варианте реализации настоящее изобретение включает фармацевтические композиции. Такие фармацевтические композиции содержат соединение по настоящему изобретению, присутствующее совместно с фармацевтически приемлемым носителем. Также могут присутствовать другие фармакологически активные вещества.

В настоящем документе "фармацевтически приемлемый носитель" включает любые растворители, диспергирующие среды, покрытия, антибактериальные и противогрибковые агенты, изотонические агенты и агенты, задерживающие всасывание, и т.д., которые являются физиологически совместимыми. Примеры фармацевтически приемлемых носителей в композиции включают что-то одно или более из: воды, физиологического раствора, фосфатного буферного раствора, декстрозы, глицерина, этанола и т.п., а также их комбинации, и могут включать изотонические агенты, например, сахара, хлорид натрия или многоатомные спирты, такие как маннит или сорбит. Могут быть включены фармацевтически приемлемые вещества, такие как увлажнители, или небольшие количества эксципиентов, таких как увлажнители или эмульгаторы, консерванты или буферы, которые увеличивают срок хранения или эффективность антигена или фрагмента антигена.

Композиции согласно изобретению могут иметь разнообразные формы. Они включают, например, жидкие, полутвердые и твердые лекарственные формы, такие как жидкие растворы (например, растворы для инъекций и инфузии), дисперсии или суспензии, таблетки, пилюли, порошки, липосомы и суппозитории. Форма зависит от предполагаемого способа введения и терапевтического применения.

Типовые композиции имеют форму растворов для инъекции или инфузии, такие как композиции, в целом схожие с используемыми для пассивной иммунизации человека антителами. Одним из способов введения является парентеральный (например, внутривенный, подкожный, интраперитонеальный, внутримышечный). В другом варианте реализации антитело вводят путем внутривенной инфузии или инъекции. В еще одном варианте реализации антитело вводят путем внутримышечной или подкожной инъекции.

Пероральное введение твердой лекарственной формы можно, например, осуществлять в виде отдельных стандартных форм, таких как твердые или мягкие капсулы, пилюли, крахмальные капсулы, пастилки или таблетки, каждая из которых содержит предварительно определенное количество по меньшей мере одного соединения по настоящему изобретению. В другом варианте реализации пероральное введение можно осуществлять в форме порошка или гранулы. В другом варианте реализации пероральная лекарственная форма представляет собой форму для подъязычного введения, такую как, например, пастилка. В указанных твердых лекарственных формах, соединения любой из формул, описанных выше, обычно объединяют с одним или более адьювантами. Указанные капсулы или таблетки могут содержать состав с контролируемым высвобождением. В случае капсул, таблеток и пилюль лекарственные формы также могут содержать буферные агенты или могут быть приготовлены с использованием кишечнорастворимых покрытий.

В другом варианте реализации пероральное введение можно осуществлять в жидкой лекарственной форме. Жидкие лекарственные формы для перорального введения включают, например, фармацевтически приемлемые эмульсии, растворы, суспензии, сиропы и эликсиры, содержащие инертные разбавители, традиционно применяемые в данной области техники (например, воду). Указанные композиции также могут содержать адьюванты, такие как увлажнители, эмульгаторы, суспендирующие агенты, вкусовые вещества (например, подсластители) и/или ароматизаторы.

В другом варианте реализации настоящее изобретение включает парентеральную лекарственную форму.

"Парентеральное введение" включает, например, подкожные инъекции, внутривенные инъекции, интраперитонеальные, внутримышечные инъекции, внутригрудные инъекции и инфузию. Инъекционные препараты (т.е. стерильные водные или масляные суспензии для инъекций) могут быть составлены согласно известному уровню техники с использованием подходящих диспергирующих агентов, увлажнителей и/или суспендирующих агентов.

В другом варианте реализации настоящее изобретение включает лекарственную форму для местного применения.

"Местное введение" включает, например, чрескожное введение, например, с использованием трансдермальных пластырей или устройств для ионтофореза, внутриглазное введение, или интраназальное или ингаляционное введение. Композиции для местного введения также включают, например, гели для местного применения, распыляемые составы, мази и кремы. Состав для местного введения может включать соединение, которое повышает всасывание или проникновение активного ингредиента через кожу или другие пораженные участки. Если соединения согласно настоящему изобретению вводят при помощи трансдермального устройства, то введение осуществляют с использованием резервуарного пластыря или пластыря с пористой мембраной, или разновидности твердых матриц. Типовые составы для указанной задачи включают гели, гидрогели, лосьоны, растворы, кремы, мази, присыпки, повязки, пенки, пленки, кожные пластыри, капсулы-имплантаты, имплантаты, губки, волокна, бинты и микроэмульсии. Также могут применяться липосомы. Типовые носители включают спирт, воду, минеральное масло, жидкий вазелин, белый вазелин, глицерин, полиэтиленгликоль и пропиленгликоль. Могут быть включены агенты, повышающие проницаемость (см., например, Finin and Morgan, J. Pharm. Sci., 88:955-958, 1999).

Составы, подходящие для местного введения в глаза, включают, например, глазные капли, причем соединение согласно настоящему изобретению растворено или суспендировано в подходящем носителе. Типовой состав, подходящий для внутриглазного или внутриушного введения, может иметь форму капль измельченной суспензии или раствора в изотоническом стерильном солевом растворе с отрегулированным рН. Другие составы, подходящие для внутриглазного и внутриушного введения, включают мази, биоразлагаемые (т.е. губки из рассасываемого геля, коллагеновые) и небiorазлагаемые (т.е. силиконовые) имплантаты, капсулы-имплантаты, линзы и дисперсные или везикулярные системы, такие как ниосомы или липосомы. Полимер, такой как сшитая полиакриловая кислота, поливиниловый спирт, гиалуроновая кислота, целлюлозный полимер, например, гидроксипропилметилцеллюлоза, гидроксипропилцеллюлоза или метилцеллюлоза, или гетерополисахаридный полимер, например, желатиновая камедь, может быть включен совместно с консервантом, таким как хлорид бензалкония. Указанные составы также могут быть доставлены путем ионтофореза.

Для интраназального введения или введения путем ингаляции соединения по настоящему изобретению эффективно доставляют в виде раствора или суспензии из контейнера с распыляющей помпой, которые выдавливаются или накачиваются пациентом, или в виде распыляемого аэрозоля из контейнера под давлением или небулайзера с использованием подходящего пропеллента. Составы, подходящие для интраназального введения, как правило, вводят в виде сухого порошка (либо отдельно, либо в смеси,

например, в сухой смеси с лактозой, либо в виде частиц из смешанных компонентов, например, в смеси с фосфолипидами, такими как фосфатидилхолин) из ингалятора сухих порошков или в виде распыляемого аэрозоля из контейнера под давлением, насоса, пульверизатора, распылителя (предпочтительно разбрызгивателя, в котором используются электрогидродинамические силы для получения тонкой взвеси) или небулайзера совместно с подходящим пропеллентом, таким как 1,1,1,2-тетрафторэтан или 1,1,1,2,3,3,3-гептафторпропан, или без него. Для интраназального применения порошок может содержать биоадгезивный агент, например, хитозан или циклодекстрин.

В другом варианте реализации настоящее изобретение включает ректальную лекарственную форму. Такая ректальная лекарственная форма может представлять собой, например, суппозиторий. Масло какао является традиционной основой суппозитория, но в соответствующих случаях можно применять разные альтернативные варианты.

Также можно применять другие материалы-носители и режимы введения, известные в области фармацевтики. Фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению могут быть приготовлены любым из способов, хорошо известных в фармацевтике, таких как эффективные способы составления и введения композиций.

Приведенные выше соображения, касающиеся эффективных процедур составления и введения, хорошо известны в данной области техники и описаны в стандартных справочниках. Составление композиций лекарственных средств описано, например, в Hoover, John E., Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1975; Liberman et al., Eds., Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Decker, New York, N.Y., 1980; и Kibbe et al., Eds., Handbook of Pharmaceutical Excipients (3rd Ed.), American Pharmaceutical Association, Washington, 1999.

5. Получение

Соединения любой из формул, описанных выше, могут быть получены общими и конкретными способами, описанными ниже, с использованием общих знаний специалиста в области синтетической органической химии. Указанные общие сведения приведены в стандартных справочниках, таких как Comprehensive Organic Chemistry, Ed. Barton and Ollis, Elsevier; Comprehensive Organic Transformations: A Guide to Functional Group Preparations, Larock, John Wiley and Sons и Compendium of Organic Synthetic Methods, Vol. I-XII (опубликовано Wiley-Interscience). Исходные вещества, применяемые в данном документе, являются коммерчески доступными или могут быть получены традиционными способами, известными в данной области техники.

Следует отметить, что при получении соединений любой из формул, описанных выше, некоторые способы получения, описанные в данном документе, могут требовать введения защиты удаленно расположенных функциональных групп (например, первичного амина, вторичного амина, карбоксила в любом из предшественников соединений описанных выше формул). Необходимость в указанной защите может варьироваться в зависимости от природы удаленно расположенных функциональных групп и условий способа получения. Необходимость в указанной защите может быть легко определена специалистом в данной области техники. Применение указанных способов введения/снятия защиты также находится в рамках компетенции специалистов в данной области техники. Общее описание защитных групп и их применения приведено в Greene, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley & Sons, New York, 1991.

Например, определенные соединения содержат функциональные первичные аминогруппы или группы карбоновых кислот, которые могут мешать взаимодействиям по другим участкам молекулы, если оставить их незащищенными. Соответственно, указанные функциональные группы могут быть защищены подходящей защитной группой, которая может быть удалена на последующей стадии. Подходящие защитные группы для защиты аминов и карбоновых кислот включают защитные группы, традиционно применяемые в синтезе пептидов (такие как N-трет-бутоксикарбонил (Boc), бензилоксикарбонил (Cbz) и 9-флуоренилметилоксикарбонил (Fmoc) для аминов, и низшие алкильные или бензиловые сложные эфиры для карбоновых кислот), которые, в общем случае, не проявляют химической активности в описанных условиях взаимодействия и, как правило, могут быть удалены без химического изменения других функциональных групп в соединениях любой из формул, описанных выше.

Описанные далее схемы предназначены для общего описания методологии, применяемой для получения соединений согласно настоящему изобретению. Некоторые из соединений согласно настоящему изобретению могут содержать один или более хиральных центров, имеющих стереохимию, обозначенную (R)- или (S)-. Специалисту в данной области техники будет понятно, что все превращения при синтезе могут быть проведены аналогичным образом независимо от того, обогащены ли вещества одним из энантиомеров или представляют собой рацематы. Кроме того, разделение для выделения целевого оптически активного вещества может быть проведено в любой желаемый последующий момент времени хорошо известными способами, такими как описанные в данном документе и в химической литературе.

Аминосодержащие соединения, полученные способами, описанными в данном документе, можно алкилировать защищенным 2-бромацетатом в присутствии подходящего основания, такого как K_2CO_3 , Et_3N , NaN или $LiHMDS$, в полярном апротонном растворителе, включая, без ограничений, ДМФА, ДМАА, ДМСО или NMP, для получения соединений. Стандартный гидролиз сложного эфира может

быть проведен для получения кислот. Если Rg^2 представляет собой трет-бутил, то можно применять стандартные способы удаления защитных групп в кислотных условиях, такие как ТФУК/ДХМ, $HCl/1,4$ -диоксан, $HCl/EtOAc$, или в других подходящих условиях, с образованием кислот.

Примеры

Активация рецептора, сопряженного с G белком (GPCR), GLP-1R, его природным лигандом GLP-1 вызывает рекрутинг множества внутриклеточных белков, каждый из которых может активировать разные сигнальные пути, наиболее важными из которых являются активация последующих G белков каскада (которая может быть измерена по выработке цАМФ), рекрутинг β -аррестина и/или последующая интернализация комплекса GPCR (т.е. GLP-1R) - β -аррестин. В отличие от природного лиганда GLP-1, определенные агонисты GLP-1R представляют собой так называемые "агонисты со смещенной активностью", т.е. они предпочтительно стимулируют подгруппы природных сигнальных путей, такие как путь активации G белка/выработки цАМФ, по сравнению с рекрутингом β -аррестина и/или последующей интернализацией комплекса GPCR (т.е. GLP-1R) - β -аррестин. В приведенных ниже исследованиях предложены средства измерения уровня разных последующих сигнальных путей каскада после активации предложенными соединениями.

Биологический пример 1. Исследование GLP-1R/ β -аррестина и исследование интернализации для демонстрации опосредуемой низкомолекулярным соединением активации взаимодействия GLP-1R/ β -аррестина

GLP1 играет важную физиологическую роль в поддержании гомеостаза глюкозы в крови. Как известно, GLP-1R экспрессируется в бета-клетках поджелудочной железы. Эффекты GLP-1 опосредованы по $G_{\alpha s}$ -сопряженному пути. Активированный GLP-1R стимулирует путь аденилатциклазы и, таким образом, повышает внутриклеточную концентрацию цАМФ, что приводит к повышению синтеза инсулина и высвобождению инсулина. Вследствие этого было сделано предположение о том, что GLP-1R является потенциальной мишенью при лечении диабета.

Активация GLP-1R после связывания с агонистом/лигандом также приводит к рекрутингу β -аррестина к рецептору GLP-1, который блокирует сигнальную систему GLP-1R, например, перекрывая участок связывания GLP-1R с гетеротримерным G-белком для предотвращения его активации (десенсбилизация), и связывая GLP-1R с элементами аппарата интернализации, такими как клатрин и адаптер клатрина AP2, которые способствуют интернализации рецептора через окаймленные ямки и последующему транспорту во внутренние эндосомальные компартменты. Затем рецептор может быть направлен либо в компартменты деградации (липосомы), либо возвращен к плазматической мембране, где он снова может участвовать в сигнализации. Как полагают, сила взаимодействия аррестин-рецептор влияет на выбор указанного маршрута: более плотные комплексы повышают вероятность деградации рецептора (класс B), в то время как более неустойчивые комплексы способствуют рециркуляции (класс A), хотя это "правило" выполняется далеко не во всех случаях.

Активность агониста GLP-1R в отношении рекрутинга β -аррестина может быть определена в клеточном функциональном исследовании с использованием набора для анализа PathHunter eXpress GLP1R CHO-K1 β -Arrestin GPCR Assay (DiscoverX кат. № 93-0300E2CP0M).

В технологии анализа PathHunter β -Arrestin GPCR используется фермент β -галактозидаза (β -gal), который разделен на два фрагмента, меньший из которых является донорным ферментом (ED), а более крупный - акцепторным ферментом (EA). Указанные фрагменты могут быть слиты с двумя белками, которые могут взаимодействовать друг с другом, такими как EA- β -аррестин и ED-GLP-1R. Указанные продукты слияния могут устойчиво экспрессироваться в исследуемой клеточной линии, такой как клетки PathHunter CHO-K1 GLP1R β -Arrestin, описанные ниже.

По отдельности указанные слитые фрагменты не проявляют активность β -gal; тем не менее, в растворе или в живой клетке они могут сближаться и комбинироваться с образованием активного фермента β -gal благодаря взаимодействию между слитыми белками, тем самым генерируя хемиллюминесцентный сигнал в присутствии подходящего субстрата β -gal.

В данном эксперименте клетки PathHunter CHO-K1 GLP1R β -Arrestin из набора для анализа помещали при плотности 1000 или 2000 клеток/20 мкл/луночку в 384-луночные планшеты с белым/прозрачным дном лунок (Greiner кат. № 781098). Быстро размораживали замороженные клетки и добавляли 10 мл среды для посева клеток (обеспеченной в наборе) к размороженным клеткам. Хранили клетки при 37°C в инкубаторе в атмосфере 5% CO_2 и выдерживали около 48 ч, после чего они были готовы для исследования.

Растворяли соединения сравнения и исследуемые соединения в 100% ДМСО. Готовили 5x концентрацию агониста в бессывороточной DMEM (Thermo, кат. № 11965). Добавляли 5 мкл полученного раствора к 20 мкл клеточной среды в аналитическом планшете для получения максимальной конечной концентрации 10 мкМ. Затем инкубировали планшеты при 37°C в атмосфере 5% CO_2 в течение 90 мин.

После 90-минутной инкубации готовили детектирующие реагенты, объединяя 1 часть субстрата Galacton Star с 5 частями раствора Emerald ИТМ и 19 частями буфера для анализа клеток PathHunter, соот-

ветственно. В каждую лунку добавляли по 12,5 мкл детектирующего реагента. Затем инкубировали планшеты при комнатной температуре без доступа света в течение 60 мин. Затем анализировали планшеты на EnVision со скоростью 0,1 с/лунку.

EC₅₀ определяли по кривым зависимости доза-ответ, которые анализировали при помощи программы аппроксимации кривой с использованием 4-параметрического логистического уравнения зависимости доза-ответ.

Влияние низкомолекулярного соединения, такого как соединение согласно настоящему изобретению, на активацию взаимодействия GLP-1R/β-аррестин или рекрутинг β-аррестина может быть продемонстрировано и измерено с использованием анализа и коммерческих реагентов, описанных ниже в данном документе.

Подготовка

Реагенты и расходные материалы:

Реагент	Поставщик	Кат.№
Набор для анализа PathHunter eXpress GLP1R CHO-K1 β-Arrestin GPCR 384-луночные планшеты с белым/прозрачным дном лунок	Discover X Greiner	93-0300E2CPOM 781098
Инструменты:		
Инструмент	Поставщик	Внутренний код
EnVision	PerkinElmer	HD-4HYSG2330

Среды и растворы

Готовили детектирующий рабочий раствор, объединяя 1 часть субстрата Galacton Star® Substrate с 5 частями раствора Emerald ИТМ и 19 частями буфера для клеточного исследования PathHunter, соответственно.

После получения рабочий раствор остается стабильным по меньшей мере 24 ч при комнатной температуре и не влияет на эффективность исследования. В каждом наборе обеспечено достаточное количество реагентов для проведения указанного числа анализов.

Процедуры

1. Посев клеток

Высеивали клетки с плотностью 1000 или 2000 клеток/20 мл/лунку. Быстро размораживали замороженные клетки и добавляли к 10 мл среды для посева клеток. Хранили клетки в инкубаторе при 37°C в атмосфере 5% CO₂ и оставляли около на 48 ч, после чего они были готовы для исследования.

2. Подготовка соединения

1) Соединение-агонист сравнения GLP1 (7-37): растворяли в ДМСО с получением 1 мМ маточных растворов, отбирали аликвоты и хранили при -80°C.

2) Растворяли исследуемые соединения (такие как соединения по настоящему изобретению) в 100% ДМСО. Готовили агонист в 10× концентрации в бессывороточной DMEM и добавляли все растворы в планшет для соединения. Добавляли 2,5 мкл полученного раствора к 20 мкл клеточной среды в планшете для анализа для получения максимальной конечной концентрации 10 мкМ. Инкубировали планшеты при 37°C в атмосфере 5% CO₂ в течение 30 мин. Во все лунки планшета добавляли еще по 2,5 мкл буфера для определения агониста и инкубировали при 37°C еще 90 мин.

3. Детектирующие реагенты

После 90-минутной инкубации готовили детектирующие реагенты согласно описанию. Добавляли во все лунки по 12,5 мкл. Затем инкубировали планшеты при комнатной температуре без доступа света в течение 60 минут. Затем анализировали планшеты на EnVision со скоростью 0,1 с/лунку.

4. Обработка данных исследования β-аррестина

Анализ данных: Использовали GraphPad Prism 6 для построения кривых изменения уровня. Определяли значения EC₅₀ или IC₅₀ при помощи 4-параметрического логистического уравнения зависимости доза-ответ.

Кривые зависимости доза-ответ для рекрутинга β-аррестина отдельными соединениями по настоящему изобретению по сравнению с GLP-1 (7-37) в качестве контроля показаны на фиг. 1. Тестируемые соединения включают соединения 74-91, 93-95, 100, 101, 257, 262, 263, 266, 267, 271, 276-278, 281, 284, 285, 289-293, 303, 305, 307, 308, 310-312, 323 и 331-334. Обратите внимание, что частичный максимальный относительный эффект V_{max} (при наивысшей концентрации в проведенных анализах) для тестируемого соединения обычно составляет около 20-40% от V_{max} для природного лиганда GLP-1 (7-37).

Рекрутинг β -аррестина, измеренный в анализе PathHunter на клетках CHO-K1

Соединение №	Рекрутинг β -аррестина V_{\max} (%)	Соединение №	Рекрутинг β -аррестина V_{\max} (%)
74	32,1 (n=1)	257	31,4 (n=1)
75	30,4 \pm 1,15 (n=2)	262	47,3 \pm 4,55 (n=3)
76	25,1 (n=1)	263	18,9 (n=1)
77	39,4 (n=1)	266	26,7 \pm 4,76 (n=2)
78	22,7 (n=1)	267	41,7 \pm 3,45 (n=3)
79	19,7 (n=1)	271	28,5 (n=1)
80	31,6 (n=1)	276	35,6 \pm 3,90 (n=2)
81	37,2 (n=1)	277	39,3 \pm 4,96 (n=3)
82	20,1 (n=1)	278	36,2 \pm 5,56 (n=2)
83	44,6 (n=1)	281	48,5 \pm 6,64 (n=2)
84	33,5 (n=1)	284	25,5 (n=1)
85	37,0 (n=1)	285	24,0 (n=1)
86	33,5 (n=1)	289	29,6 (n=1)
87	33,1 (n=1)	290	39,9 \pm 4,40 (n=2)
88	44,6 (n=1)	291	29,4 \pm 6,84 (n=2)
89	25,3 (n=1)	292	42,2 \pm 2,68 (n=2)
90	29,5 \pm 3,21 (n=2)	293	32,0 (n=1)
91	35,8 (n=1)	303	39,2 \pm 4,75 (n=2)
93	41,7 (n=1)	305	31,8 (n=1)
94	33,3 (n=1)	307	46,8 \pm 7,21 (n=3)
95	29,0 (n=1)	308	62,8 \pm 4,09 (n=3)
100	0,971 (n=1)	310	37,8 (n=1)
101	1,05 (n=1)	311	38,8 \pm 7,09 (n=3)
102	28,3 (n=1)	312	33,4 \pm 2,13 (n=2)
-	-	323	19,4 (n=1)
-	-	331	17,9 (n=1)
-	-	332	14,5 (n=1)
-	-	333	9,75 (n=1)
-	-	334	26,6 (n=1)

Следует отметить, что для указанных исследуемых соединений по настоящему изобретению, за более исключениями, частичный максимальный относительный эффект V_{\max} (при наивысшей концентрации в проведенных анализах) для исследуемых соединений, в общем случае, составлял от около 10 до около 40% от V_{\max} для природного лиганда GLP-1 (7-37). Значения V_{\max} приведены в таблице выше.

Схожее исследование также можно использовать для оценки степени ослабления сигнала, связанного с интернализацией GLP-1R (исследование интернализации). В данном исследовании создавали активированные клетки для интернализации GLP1R, которые экспрессировали одновременно немеченный GLP1R, меченный акцепторным ферментом (EA) β -аррестин, и метку ProLink™ (PK), локализованную в эндосомах. Активация GLP1R индуцирует рекрутинг β -аррестина, что приводит к интернализации комплекса рецептор/аррестин-EA в меченных PK эндосомах. Это способствует принудительному сочетанию двух фрагментов фермента β -галактозидазы (EA и PK) с образованием функционального фермента, который гидролизует субстрат, генерирующий хемилюминесцентный сигнал. Указанные клетки были модифицированы для предотвращения долговременного роста и размножения при использовании патентованного соединения, которое не оказывает видимого влияния на эффективность исследования.

В частности, искусственно созданные клетки PathHunter U2OS из набора для анализа (кат.№ 93-0724E3CP0L) помещали при плотности 2000 клеток/20 мкл/лунку в 384-луночные планшеты с белым/прозрачным дном (Greiner, кат. № 781098). Быстро размораживали замороженные клетки и добавляли к размороженным клеткам 10 мл среды для посева клеток (входящей в набор). Хранили клетки при 37°C в инкубаторе и выдерживали около 48 ч, после чего они были готовы для исследования.

Растворяли соединения сравнения и исследуемые соединения в 100% ДМСО. Готовили 5x концентрацию агониста в бессывороточной DMEM (Thermo, кат. № 11965). Добавляли 5 мкл полученного раствора к 20 мкл клеточной среды в аналитическом планшете для получения максимальной конечной концентрации 10 мкМ. Инкубировали планшеты при 37°C в течение 180 мин.

После 180-минутной инкубации готовили детектирующие реагенты, объединяя 1 часть субстрата Galacton Star Substrate с 5 частями раствора Emerald ИТМ и 19 частями буфера для клеточного исследования PathHunter, соответственно. В каждую лунку добавляли по 12,5 мкл детектирующего реагента. Затем инкубировали планшеты при комнатной температуре в течение 60 мин. Затем анализировали планшеты на Envision со скоростью 0,1 с/лунку.

EC₅₀ определяли по кривым зависимости доза-агониста-ответ, которые анализировали при помощи программы аппроксимации кривой с использованием 4-параметрического логистического уравнения зависимости доза-ответ.

Кривые зависимости доза-ответ для интернализации GLP-1R отдельными соединениями по настоящему изобретению, по сравнению с используемым в качестве контроля GLP-1 (7-37), показаны на фиг. 2. Тестируемые соединения включают соединения 74-80, 93-95, 100 и 101 (левая панель) и соединения 81-91 (правая панель). Опять же, частичный максимальный относительный эффект V_{max} (при наивысшей концентрации в проведенных анализах) для тестируемого соединения обычно составляет около 20-30% от значения V_{max} для природного лиганда GLP-1 (7-37).

При помощи указанной системы анализа также измеряли интернализацию GLP1R, опосредованную β-аррестином, при использовании некоторых других соединений по настоящему изобретению, и результаты собраны в таблице ниже.

Интернализация β-аррестина, измеренная с помощью клеточного анализа PathHunter U2OS

Соединение №	Интернализация β-аррестина V _{max} (ПОК)*	Соединение №	Интернализация β-аррестина V _{max} (ПОК)*
74	17,0 (n=1)	247	26,6 (n=1)
75	20,8 ± 10,2 (n=2)	262	25,4 ± 1,39 (n=2)
76	21,6 (n=1)	266	19,9 ± 0,122 (n=2)
77	22,5 (n=1)	267	30,2 ± 6,53 (n=2)
78	7,49 (n=1)	276	26,7 (n=1)
79	9,25 (n=1)	277	23,0 (n=1)
80	21,2 (n=1)	278	36,5 (n=1)
81	30,6 (n=1)	281	36,5 (n=1)
82	13,8 (n=1)	290	21,6 ± 3,52 (n=2)
83	27,8 (n=1)	291	22,8 ± 0,142 (n=2)
84	24,7 (n=1)	292	29,6 (n=1)
85	29,5 (n=1)	303	28,4 (n=1)
86	41,8 (n=1)	307	33,8 ± 2,73 (n=2)
87	23,9 (n=1)	308	48,8 ± 6,11 (n=2)
88	29,2 (n=1)	311	26,7 ± 4,53 (n=2)
89	20,0 (n=1)	312	45,2 (n=1)
90	21,6 (n=1)	-	-
91	21,6 (n=1)	-	-
93	41,0 (n=1)	-	-
94	27,3 ± 7,75 (n=2)	-	-
95	23,1 (n=1)	-	-
100	0,881 (n=1)	-	-
101	3,08 (n=1)	-	-

* Данное значение соответствует усредненному V_{max} в соответствующих случаях (ПОК, или процент относительно контроля).

Снова, следует отметить, что в каждом случае, за более исключениями, частичный максимальный относительный эффект V_{max} (в наивысшей исследуемой концентрации в проведенных анализах) для исследуемых соединений, в общем случае, составлял от около 10 до около 40% от значения V_{max} для природного лиганда GLP-1 (7-37).

Биологический пример 2. Исследование NanoBit взаимодействия GLP1R/β-аррестина для демонстрации активации опосредованного низкомолекулярными соединениями взаимодействия GLP1R и β-аррестина

Опосредованное GLP-1R взаимодействие с β-аррестином, измеряемое по активности агониста, определяли в клеточном функциональном анализе с использованием технологии NanoLuc® Binary Technol-

ogy (NanoBiT) (Promega N2015), разработанной для обнаружения взаимодействия GLP-1R и β -аррестина в живой клетке. Способ включает систему из двух субъединиц на основе люциферазы NanoLuc®, которые можно применять для внутриклеточного обнаружения взаимодействий белок:белок (PPI). Две субъединицы называют крупной BiT (LgBiT; 17,6 кДа) и малой BiT (SmBiT; 11 аминокислот). Указанные две субъединицы сливают с двумя белками, представляющими интерес, соответственно. Если экспрессируются оба белка, то в результате PPI субъединицы сближаются друг с другом на малое расстояние и образуют функциональный фермент, который генерирует яркий люминесцентный сигнал.

Более конкретно, субклонировали кодирующую последовательность GLP-1R человека (№ последовательности в NCBI NM_002062) и кодирующую последовательность β -аррестина 2 (№ последовательности в NCBI NM_004313.3) в векторы транзientной экспрессии из набора NanoBiT, в результате чего получали слитые продукты GLP-1R-LgBiT и SmBiT- β -аррестин 2. Было выбрано в общей сложности 8 комбинаций после трансфекции HEK293T при активации природным лигандом GLP-1₇₋₃₇. Комбинацию, продемонстрировавшую самое широкое окно анализа (GLP-1R-LgBiT и SmBiT- β -аррестин 2), отобрали для испытаний соединений по настоящему изобретению.

Исследование NanoBiT проводили, как вкратце описано в данном документе: высевали клетки HEK293T (7,5 тыс. клеток/лунку) в 96-луночный культуральный планшет (Corning, кат. № 3917) в DMEM (Thermo, кат. № 11965) с 10% ЭБС (Biosera, кат. № FB-10581), инактивированной нагреванием, и 25 мМ глюкозой. Через 48 ч трансфицировали клетки конструктами GLP-1R-LgBiT и SmBiT- β -аррестин 2 с использованием липофектамина 2000 (Thermo, кат. № 11668019) согласно протоколу анализа от производителя. Вкратце, плазмиды, кодирующие слитые продукты GLP-1R-LgBiT и SmBiT- β -аррестин 2, и реагент для трансфекции разбавляли с использованием Opti-MEM (Thermo, кат. № 31985-070). Затем смешивали плазмидные конструкты GLP-1R-LgBiT и 50 нг SmBiT- β -аррестин 2 в количестве около 50 нг и добавляли полученную смесь плазмид в разбавленный реагент для трансфекции. Отношение плазида (мкг) : липофектамин 2000 (мкл) составляло 1:10. Затем добавляли смеси к клеткам после 5-минутной инкубации при комнатной температуре. Примерно через 48 ч после трансфекции заменяли среду на 65 мкл/лунку свежей Opti-MEM.

Затем разбавляли субстрат Nano-Glo® Live Cell Substrate буфером для разбавления Nano-Glo® LCS Dilution Buffer в отношении 1:24. В каждую лунку добавляли около по 25 мкл реагента Nano-Glo® Live Cell Reagent. Разбавляли каждое из исследуемых соединений по настоящему изобретению в разных концентрациях (в ДМСО) в Opti-MEM с 0,1% БСА (Sigma, кат. № A7409) для получения 10× маточных растворов. В каждую лунку при помощи пипетки добавляли около по 10 мкл маточных растворов соединения. Сразу измеряли люминесценцию на EnVision с 40, 60 или 120 повторами, по 0,25 с на лунку.

EC₅₀ определяли по кривым зависимости доза агониста-ответ, которые анализировали при помощи программы аппроксимации кривой с использованием 4-параметрического логистического уравнения зависимости доза-ответ.

Влияние низкомолекулярного соединения, такого как соединение согласно настоящему изобретению, на активацию взаимодействия GLP-1R/ β -аррестин или рекрутинг β -аррестина может быть продемонстрировано и измерено с использованием анализа и коммерческих реагентов, описанных в данном документе, или их эквивалентов. Реагенты и подробные протоколы эксперимента, используемые в данном примере, дополнительно описаны ниже.

Подготовка

Реагенты и расходные материалы:

Реагент	Поставщик	Кат.№
Система взаимодействия NanoBiT® белок:белок	Promega	N2015
Среда Opti-MEM™ 1 с пониженным содержанием сыворотки	Thermo Fisher	31985-070
Реагент для трансфекции	Thermo Fisher	11668019
Липофектамин™ 2000		
GLP-1-(7-36)-амид человека	MCE	HY-P0054A
96-луночные планшеты, белые	Corning	3917
DMEM	Thermo Fisher	11965
Эмбриональная бычья сыворотка	Biosera	FB-10581/500
ДМСО	Sigma	D2650
Инструменты:		
Инструмент	Поставщик	Внутренний код
EnVision	PerkinElmer	HD-4HYSG2330

Приготовление реагента Nano-Glo® Live Cell Reagent:

1. При первом использовании буфер для разбавления Nano-Glo® LCS Dilution Buffer выдерживали для установления равновесия при температуре окружающей среды.
2. Удаляли субстрат Nano-Glo® Live Cell Substrate из контейнера и перемешивали.
3. Готовили желаемое количество перерастворенного реагента Nano-Glo® Live Cell Reagent, объе-

диния 1 объемную часть субстрата Nano-Glo® Live Cell Substrate с 24 объемными частями буфера для разбавления Nano-Glo® LCS Dilution Buffer (25-кратное разбавление), для получения 4× маточного раствора для смешения со средой для клеточной культуры.

Процедуры

Приготовление соединения:

Растворяли GLP-1 (7-36) в 100% ДМСО, концентрация маточного раствора составляла 1 мМ.

Стопроцентный эффект (HPE): 10 мкМ GLP-1 (7-36)

Нулевой эффект (ZPE): 0,1% ДМСО

Для исследуемых соединений разбавляли 1 мМ маточный раствор до 100 мкМ с использованием Opti-MEM, содержащей 1% БСА, конечная максимальная концентрация 10 мкМ, 1/4 log (4-кратное логарифмическое) разбавление, 8 точек разбавления, исследовали образцы в двух повторах для каждого разбавления. Схема планшета аналогична схеме для GLP-1, приведенной выше.

Процедура анализа:

Культура клеток и трансфекция:

1. Высеивали 7,5 тыс. клеток 293Т/лунку в 96-луночный культуральный планшет (Corning, кат. № 3917) в DMEM с 10% ЭБС (инактивированной нагреванием) и 25 мМ глюкозы.

2. Через 48 ч проводили трансфекцию липофектаминоом 2000 согласно протоколу.

3. 50 нг Lg-Bit и 50 нг Sm-Bit/лунку, отношение плазмиды (мкг) : липофектамин 2000 (мкл) составляло 1:10.

4. Через 48 ч после трансфекции заменяли среду на 65 мкл свежей Opti-MEM/лунку.

Активация и измерение люминесценции:

5. Готовили реагент Nano-Glo® Live Cell Reagent, разбавляли субстрат Nano-Glo® Live Cell Substrate буфером для разбавления Nano-Glo® LCS Dilution Buffer при отношении 1:24.

6. В каждую лунку добавляли по 25 мкл реагента Nano-Glo® Live Cell Reagent.

7. В каждую лунку добавляли по 10 мкл 10% ДМСО или 10× растворов GLP-1 или исследуемых соединений.

8. Сразу измеряли люминесценцию с 40, 60 или 120 повторами со скоростью 0,25 с/лунку.

На фиг. 3 представлены графики зависимости ответа от времени при различных концентрациях соединения в анализе NanoBit для GLP-1 (7-37) и соединения 94 (фиг. 3).

Результаты ясно показывают, что профили изменения во времени сильно различаются между природным лигандом GLP-1 (7-37) и тестируемыми соединениями по настоящему изобретению.

Были также построены кривые ответ-доза в анализе NanoBit для временных точек 3 мин (180 с) и 5 мин (300 с) для дополнительных тестируемых соединений, включая соединения 74-91, 93-95, 100 и 101 (фиг. 4). На каждой из указанных фигур максимальные относительные эффекты для исследуемых соединений E_{max} , в наибольших испытанных концентрациях, в общем случае, составляют не более 40% (как правило, порядка 20-40%) от соответствующего показателя для GLP-1 (7-37).

Были определены значения EC₅₀ для соединений 74-91, 93-95, 100 и 101 (данные не показаны).

В качестве альтернативы, анализ/обработку данных для получения значений EC₅₀ можно проводить после достижения максимального сигнала соединений - например, через 450-500 с (около 8 мин).

Биологический пример 3. Исследование цАМФ GLP1R для демонстрации активации GLP-1R, опосредованной низкомолекулярными соединениями HEK293/GLP-1R/CRE/Luc, клон 4 - исследование цАМФ

Определяли опосредованную GLP-1R активность агониста в клеточном функциональном анализе с использованием набора для детектирования цАМФ методом гомогенной флуоресценции с временным разрешением (HTRF) (набор для анализа cAMP Dynamic 2; CisBio, кат. № 62AM4PEC), который измеряет уровень цАМФ в клетке. Способ представляет собой конкурентный иммуноанализ, в котором сравнивают уровень нативного цАМФ, вырабатываемого в клетках, и экзогенного цАМФ, меченного красителем d2. Связывание метки визуализируют с использованием моноклонального антитела (mAb) к цАМФ, меченного криптатом. Специфический сигнал (т.е. передача энергии) обратно пропорционален концентрации цАМФ либо в стандартном, либо в экспериментальном образце.

Субклонировали последовательность, кодирующую GLP-1R человека (№ последовательности в NCBI NM_002062), в вектор pcDNA3.1+/Hygro (Invitrogen) и трансфицировали родительскую клеточную линию HEK293/CRE/Luc. Выделяли клеточную линию, устойчиво экспрессирующую указанный рецептор. Анализы насыщения связывания (процедура анализа с фильтрованием) с использованием ¹²⁵I-GLP-1₇₋₃₆ (Perkin Elmer) показали, что плазматические мембраны, выделенные из данной клеточной линии, экспрессируют GLP-1R с высокой плотностью (K_d : <1 нМ, B_{max} : >800 фмоль/мг белка).

Разные концентрации каждого исследуемого соединения (в ДМСО) готовили путем разбавления ДМСО с получением сначала 200× рабочего раствора соединения, а затем добавляли 50 нл соединений в белый 384-луночный аналитический планшет (Greiner 784075) с использованием ЕСНО. Конечная концентрация ДМСО составляла 0,5%.

Диапазон концентраций соединения можно регулировать в любое время.

Удаляли клетки из криохранилища, ресуспендировали в 5 мл фосфатного буферного раствора в модификации Дульбекко (DPBS-Sigma, кат.№ D8537) и центрифугировали при 900×g в течение 5 мин при 22°C. Затем осадок клеток ресуспендировали в 1 мл буфера для анализа [DPBS с 500 мкМ IBMX (Sigma, кат. № 15879) и 0,1% БСА (Sigma, кат. № A1933)]. Свежие IBMX и БСА добавляли в день исследования]. Анализировали 10 мкл образец клеточной суспензии на Invitrogen Countess II для определения жизнеспособности клеток и числа клеток на мл. Затем разбавляли оставшуюся клеточную суспензию буфером для анализа для введения 1000 жизнеспособных клеток на лунку с использованием дозатора реагентов Matrix Combi Multidrop. Добавляли 10 мкл клеточной суспензии в каждую лунку аналитического планшета, который уже содержит соединение. Закрывали планшет и инкубировали при 37°C в атмосфере 5% CO₂ в течение 30 мин.

После 30-минутной инкубации в каждую лунку аналитического планшета добавляли по 5 мкл меченного d2 цАМФ и 5 мкл антитела к цАМФ (оба разбавленные 1:20 в буфере для лизиса клеток; как описано в протоколе исследования от производителя). Затем инкубировали планшеты при комнатной температуре и через 60 мин регистрировали изменения сигнала HTRF на многоканальном анализаторе планшетов Envision при длине волны возбуждения 330 нм и длинах волн испускания 615 и 665 нм. Преобразовывали исходные данные в концентрацию цАМФ в нМ путем интерполяции калибровочной кривой цАМФ (как описано в протоколе анализа от производителя) и определяли уровень эффекта в процентах относительно насыщающей концентрации полного агониста GLP-17.37 (10 нМ), который был включен в каждый планшет. EC₅₀ определяли по кривым зависимости доза-ответ, которые анализировали при помощи программы аппроксимации кривой с использованием 4-параметрического логистического уравнения зависимости доза-ответ.

Данное исследование демонстрирует, что соединения по настоящему изобретению активируют сигнальный каскад GLP-1R по пути цАМФ и, таким образом, имеют характеристики агонистов GLP-1R. Типовые коммерческие реагенты/наборы, которые могут применяться (применялись) в указанных исследованиях, описаны ниже.

Подготовка

Реагенты и расходные материалы:

Реагент	Поставщик	Кат.№
Клеточная линия HEK/GLP1R/CRE/Luc	HDB	
DMEM	Gibco	12100
Эксендин (9-39)	MCE	HY-P0264
GLP-1-(7-37)-амид человека	MCE	HY-P0055
384-луночные планшеты, белые	Greiner	784075
Набор cAMP Dynamic 2	Cisbio	62AM4PEC
Эмбриональная бычья сыворотка	Biosera	FB-10581/500
IBMX (3-изобутил-1-метилксантин)	Sigma	I5879
БСА	Sigma	A1933-5G
DPBS (фосфатно-солевой буферный раствор Дульбекко)	Sigma	D8537
Инструменты:		
Инструмент	Поставщик	Внутренний код
EnVision	PerkinElmer	HD-4HYSG2330

Среды и растворы:

1) Буфер для анализа

DPBS с 500 мкМ IBMX и 0,1% БСА.

Свежие IBMX и БСА добавляли в день исследования.

2) Приготовление рабочего раствора цАМФ-d2

Перерастворяли лиофилизат в соответствующем количестве дистиллированной воды согласно инструкциям производителя для получения рабочего маточного раствора, который можно делить на аликвоты и замораживать (-20°C).

Разбавляли рабочий маточный раствор 1:20 в буфере для конъюгата и лизиса перед использованием.

3) Получение рабочего раствора (антитела к цАМФ)-криптата Перерастворяли лиофилизат в соответствующем количестве дистиллированной воды согласно инструкции производителя для получения рабочего маточного раствора, который можно делить на аликвоты и замораживать (-20°C).

Разбавляли рабочий маточный раствор 1:20 в буфере для конъюгата и лизиса перед использованием.

Процедуры

Процедуры приготовления клеточной суспензии

1. Быстро размораживали замороженные клетки на водяной бане при 37°C в стерильных условиях до момента практически полного таяния льда (около 1 мин) при непрерывном перемешивании. Соблю-

дали осторожность, так как более длительная инкубация может приводить к гибели клеток.

2. Удаляли ДМСО из среды, осторожно перенося размороженные клетки в стерильную 15/50 мл пробирку, наполняли пробирку 10-50 мл полной среды, предварительно нагретой до 37°C, и оставляли клетки для оседания на 5 мин, после чего центрифугировали при 900 об./мин в течение 5 мин для сбора клеток.

3. Повторно суспендировали клетки в буфере для исследования.

4. Для анализа стабильного GLP1-R оптимизированная плотность клеток составляла 1000 клеток/лунку. Проводили процедуру с осторожностью, так как оптимизация плотности клеток является критически важной, и необходимо проведение оптимизации в разных лабораториях. Уровень цАМФ, вырабатываемого клетками, должен попадать в линейный участок диапазона калибровочной кривой.

Процедуры подготовки соединения

1) Соединение-агонист сравнения GLP1 (7-37) растворяли в ДМСО с получением 1 мМ маточного раствора, из которого затем отбирали аликвоты и хранили при -80°C.

2) Соединение-антагонист сравнения эксендин (9-39) растворяли в ДМСО с получением 2 мМ маточного раствора, из которого затем отбирали аликвоты и хранили при -80°C.

3) Растворяли исследуемые соединения в ДМСО для получения маточных растворов, отбирали аликвоты и хранили при -80°C. Проводили серийное разбавление растворов соединения в ДМСО с получением сначала 200× рабочего раствора соединения, а затем помещали 50 нл рабочего раствора в 384-луночный планшет с использованием ЕСНО. Конечная концентрация ДМСО составляла 0,5%. Диапазон концентраций соединения можно регулировать в любое время.

4) IBMX (изобутилметилксантин): растворяли 500 мМ маточный раствор в ДМСО, отбирали аликвоты и хранили при -20°C.

Процедуры исследования агонистов

1) Подготовка соединения: планшеты для добавления соединений готовили заранее, перед исследованием. Готовили 200× рабочие растворы соединения согласно процедурам, описанным выше.

2) Подготовка клеток: готовили клеточные суспензии согласно процедурам, описанным выше, перед началом исследования.

3) Добавление соединения: в 384-луночные белые аналитические планшеты с малым объемом лунок добавляли 50 нл/лунку 200× рабочих растворов соединения с использованием Echo.

4) Добавление клеток: добавляли 10 мкл клеточных суспензий во все лунки аналитического планшета, которые уже содержали рабочий раствор соединения. Закрывали планшет и инкубировали при 37°C в атмосфере 5% CO₂ в течение 30 мин.

5) В каждую лунку аналитического планшета добавляли 5 мкл рабочего раствора цАМФ-d2.

6) В каждую лунку аналитического планшета добавляли 5 мкл рабочего раствора (антитела к цАМФ)-криптата. Накрывали планшет крышкой. Инкубировали при комнатной температуре в течение 1 ч.

7) Анализировали флуоресценцию при 665 и 615 нм на анализаторе планшетов EnVision с использованием TRF LASER и указанных настроек и сохраняли данные.

Процедуры исследования блокирования антагонистом

1) Подготовка соединения: планшеты для добавления соединения готовили перед исследованием. Готовили рабочие растворы соединения с концентрацией 200× согласно процедурам, описанным выше.

2) Подготовка клеток: готовили клеточные суспензии согласно процедурам, описанным выше, перед началом исследования.

3) Добавление соединения: в 384-луночный белый аналитический планшет с малым объемом лунок добавляли 50 нл/лунку рабочего раствора соединения с концентрацией 200X.

4) Добавление клеток: во все лунки аналитического планшета, которые уже содержали соединение, добавляли 5 мкл 2X клеточной суспензии.

5) Добавление антагониста эксендина (9-39): Во все лунки аналитического планшета, которые уже содержали соединение и клетки, добавляли 5 мкл 2× эксендина (9-39). Конечная концентрация эксендина (9-39) соответствовала 80%-ной ингибирующей концентрации (IC80). Закрывали планшет и инкубировали при 37°C в атмосфере 5% CO₂ в течение 30 мин.

6) В каждую лунку аналитического планшета добавляли 5 мкл рабочего раствора цАМФ-d2.

7) В каждую лунку аналитического планшета добавляли 5 мкл рабочего раствора (антитела к цАМФ)-криптата. Накрывали планшет крышкой. Инкубировали при комнатной температуре в течение 1-4 ч.

8) Анализировали флуоресценцию при 665 и 615 нм на анализаторе планшетов EnVision с использованием TRF LASER и указанных настроек и сохраняли данные.

Настройки EnVision для измерения уровня цАМФ методом гомогенной флуоресценции с временным разрешением (HTRF) Необходимые фильтры и зеркала

Возбуждение: TRF LASER

Излучение №1: 665 нм (центральная длина волны (CWL) 665 нм, ширина полосы пропускания (BW) 7,5 нм)

Излучение №2: 615 нм (CWL 615 нм, BW 8,5 нм)

Дихроичное зеркало: DELFIA/LANCE Dual Enh D400/D630

Необходимые настройки:

Задержка: 50 мкс

Окно времени: 300 мкс (также называется "временем интегрирования")

Число окон в последовательности: 1

Цикл: по умолчанию 2000 мкс (также называется "временем между импульсами")

Время между импульсами: 2000 мкс

Число импульсов: 20

Число импульсов для 2-го детектора: 10

Высота уровня измерения (мм): 6,5

Высота от дна кюветы до центра светового пучка (Z height): Необходимо оптимизировать (с использованием мастера оптимизации, оптимизация по лунке с максимальным сигналом FRET)

Измерение возбуждения и излучения проводят в верхней части лунки.

Обработка данных исследования цАМФ

Анализ данных: Использовали программное обеспечение GraphPad Prism 5 или IDBS XLfit для построения кривых изменения уровня. Определяли значения EC50 или IC50 при помощи 4-параметрического логистического уравнения зависимости доза-ответ.

С использованием исследования, по существу, как описано выше, получали кривые зависимости доза-ответ для каждого исследуемого соединения и вычисляли соответствующие значения EC50 и занесли в таблицу. В данном случае значение EC50 для каждого соединения определено как концентрация соединения, которая обеспечивала 50% от максимального уровня цАМФ, достигнутого при использовании того же соединения.

Конечная концентрация соединения составляет 10, 100 или 300 нМ в 0,5% ДМСО. Для каждого серийного разведения соединения было получено всего 11 точек данных.

Результаты анализа цАМФ для соединений 75, 84, 93, 94 и GLP-1 (7-37) в качестве контроля показаны на фиг. 5.

Для данного исследования использовали два разных типа клеток. В одном из исследований каждое соединение исследовали на клетках НЕК293Т. Результаты показаны ниже в табл. 1. В другом исследовании также исследовали отдельные соединения на клетках CHO, которые были устойчиво трансфицированы для экспрессирования GLP-1R человека. Результаты показаны ниже в табл. 2.

Таблица 1. Значения EC50 для соединений в клетках НЕК293Т

№ соединения	EC ₅₀		№ соединения	EC ₅₀	
	A= \leq 0,015 мкМ	B= \leq 0,15 мкМ		A= \leq 0,015 мкМ	B= \leq 0,15 мкМ
	C= \leq 1 мкМ	D= $>$ 1 мкМ		C= \leq 1 мкМ	D= $>$ 1 мкМ
74	A		246	B	
75	A		247	A	
76	A		248	D	
77	A		249	B	
78	A		250	B	
79	B		251	B	
80	A		252	B	
81	A		253	B	
82	A		254	B	
83	A		255	B	
84	A		256	B	
85	A		257	A	
86	A		258	A	
87	A		259	A	
88	A		260	A	
89	A		261	A	
90	A		262	A	
91	A		263	A	
92	A		264	A	
93	A		265	A	
94	A		266	A	
95	A		267	A	
96	A		268	A	
97	A		269	A	
98	A		270	A	

047606

99	A	271	A
100	D	272	A
101	D	273	A
102	A	274	A
-	-	275	A
-	-	276	A
-	-	277	A
-	-	278	A
-	-	279	A
-	-	280	A
-	-	281	A
-	-	282	A
-	-	283	A
-	-	284	A
-	-	285	A
-	-	286	A
-	-	287	A
-	-	288	A
-	-	289	A
-	-	290	A
-	-	291	A
-	-	292	A
-	-	293	A
-	-	294	A
-	-	295	A
-	-	296	A
-	-	297	A
-	-	298	A
-	-	299	A
-	-	300	A
-	-	301	A
-	-	302	B
-	-	303	A
-	-	304	A
-	-	305	A
-	-	306	A
-	-	307	A
-	-	308	A
-	-	309	A
-	-	310	A
-	-	311	A
-	-	312	A
-	-	313	A
-	-	314	B
-	-	315	C
-	-	316	B
-	-	317	A
-	-	318	B
-	-	319	B
-	-	320	B
-	-	321	B
-	-	322	A
-	-	323	A
-	-	324	B
-	-	325	B
-	-	326	B
-	-	327	B
-	-	328	B
-	-	329	B
-	-	330	A
-	-	331	A
-	-	332	A
-	-	333	B
-	-	334	A

Таблица 2. Значения EC50 для соединений в клетках CHO, стабильно экспрессирующих hGLP-1R

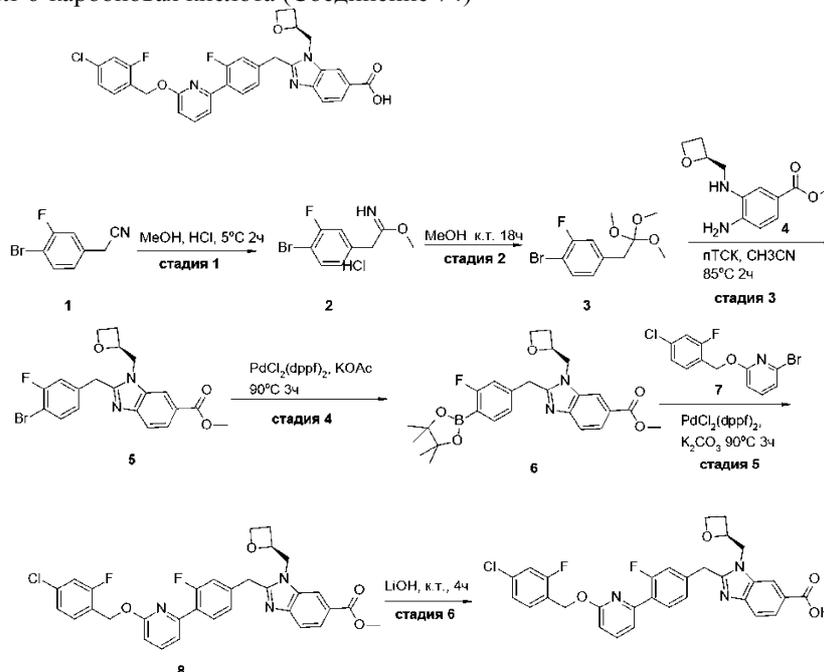
№ соединения	EC ₅₀ в клетках CHO с устойчивым уровнем цАМФ		№ соединения	EC ₅₀ в клетках CHO с устойчивым уровнем цАМФ	
	A ≤ 0,015 мкМ	B ≤ 0,15 мкМ		A ≤ 0,015 мкМ	B ≤ 0,15 мкМ
84	A		93	A	
263	A		266	A	
272	B		276	A	
278	A		279	A	
280	B		287	B	
288	B		292	A	
294	B		296	A	
298	B		300	B	
301	B		303	A	
310	A		311	A	
312	A		322	B	
326	D				

Данные показывают, что, аналогично GLP-1(7-37), многие исследуемые соединения имеют значения EC₅₀ в наномолярном или субнаномолярном диапазоне (< 10 нМ) в исследовании цАМФ. Это, в совокупности с тем фактом, что многие исследуемые соединения также имеют значения V_{max}, находящиеся по существу на таком же уровне, что и для GLP-1(7-37), позволяет предположить, что многие исследуемые соединения по настоящему изобретению являются полными агонистами сигнального каскада GLP-1R, обеспечивающими выработку цАМФ.

Напротив, как показано в примерах 1 и 2 выше, в частности, на основании данных для соединений, перечисленных в таблицах, соединения по настоящему изобретению обычно имеют V_{max}, близкие к 20-40% от такового для GLP-1 (7-37), в тесте рекрутинга β-аррестина и тесте интернализации GLP-1R, хотя существует несколько исключений. Кроме того, профили временных зависимостей NanoBit различаются между соединениями по настоящему изобретению и соединениями GLP-1(7-37).

Пример 4. Синтез соединений

(S)-2-(4-(6-((4-Хлор-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)-3-фторбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 74)



Стадия 1. Синтез метил-2-(4-бром-3-фторфенил)ацетимидата

В смеси 1 2-(4-бром-3-фторфенил)ацетонитрила (4,24 г, 19,8 ммоль), метанола (600 мг, 19,8 ммоль) и 1,4-диоксана (20 мл) в пробирке Шленка барботировали газообразный HCl до завершения реакции. Реакционную смесь фильтровали с получением указанного в заголовке соединения метил-2-(4-бром-3-фторфенил)ацетимидата (2) (4,2 г, 17,1 ммоль, выход 86,2%) в виде белого твердого вещества.

Стадия 2. Синтез 1-бром-2-фтор-4-(2,2,2-триметоксиэтил)бензола

Смесь 2, полученного выше (2,1 г, 8,53 ммоль), в метаноле (20 мл) перемешивали в течение 18 ч в пробирке Шленка в атмосфере N_2 . За реакцией следили с помощью ТСХ и ЖХ-МС. Реакционную смесь концентрировали в вакууме, а затем к реакционной смеси добавляли EtOAc до тех пор, пока не выпадало большое количество осадка твердого вещества. Твердое вещество отфильтровывали, фильтрат концентрировали с получением указанного в заголовке соединения 1-бром-2-фтор-4-(2,2,2-триметоксиэтил)бензола в виде сырого продукта (3) (1,8 г, 6,14 ммоль, выход 72%) в виде бесцветной маслянистой жидкости.

Стадия 3. Синтез метил-(S)-2-(4-бром-3-фторбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоксилата

Смесь 3, полученного выше (297,8 мг, 1,02 ммоль), пТСК (100 мг, 0,63 ммоль) и метил-4-амино-3-[[[(2S)-оксетан-2-ил]метиламино]бензоата 4 (150 мг, 0,63 ммоль) в ацетонитриле (15 мл) перемешивали в течение 2 ч в пробирке Шленка в атмосфере N_2 , а затем перенесли на масляную баню при 85°C и перемешивали в течение 3 ч до завершения реакции по данным ТСХ. Реакционную смесь концентрировали в вакууме, очищали с помощью SGC (гексаны/EtOAc=5:1-1:1) с получением указанного в заголовке соединения метил-(S)-2-(4-бром-3-фторбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоксилата (5) (180 мг, 0,42 ммоль, выход 65,4%) в виде желтого твердого вещества.

Стадия 4. Синтез метил-(S)-2-(3-фтор-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоксилат

Смесь 5 полученного выше (220 мг, 0,51 ммоль) 4,4,5,5-тетраметил-2-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1,3,2-диоксаборолана (154,7 мг, 0,61 ммоль) и KOAc (124,6 мг, 1,27 ммоль) и Pd(dppf)Cl₂ (37,2 мг, 0,051 ммоль) в 1,4-диоксане (5 мл) в пробирке Шленка в атмосфере N_2 . Реакционную пробирку герметично закрывали, переносили на масляную баню при 90°C и перемешивали в течение 3 ч, после чего реакция была завершена, как показали ТСХ и ЖХ-МС. Реакционную смесь фильтровали и раствор неочищенного продукта метил-(S)-2-(3-фтор-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоксилата (6) (280 мг, 0,41 ммоль, выход 80,4%, чистота 70%) использовали на следующей стадии. ЖХ-МС: $[M+H]^+=480,0$.

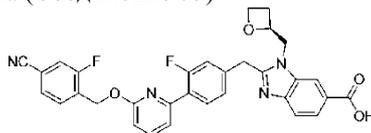
Стадия 5. Синтез метил-(S)-2-(4-(6-((4-хлор-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)-3-фторбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоксилата

Смесь 7 (30 мг, 0,095 ммоль), Pd(dppf)Cl₂ (7,7 мг, 0,0095 ммоль) и K₂CO₃ (39,3 мг, 0,28 ммоль) и неочищенного продукта 6, указанного выше (68,3 мг, 0,14 ммоль), в 1,4-диоксане (3 мл) и воде (1 мл) перемешивали в течение 3 ч в пробирке Шленка в атмосфере N_2 . Реакционную пробирку герметично закрывали, переносили на масляную баню при 100°C и перемешивали в течение 3 ч, после чего реакция была завершена, как показали ТСХ и ЖХ-МС. Реакционную смесь фильтровали и неочищенный продукт очищали с помощью ТСХ с получением указанного в заголовке соединения метил-(S)-2-(4-(6-((4-хлор-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)-3-фторбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоксилата (8) (9 мг, 0,015 ммоль, выход 17,9%). ЖХ-МС: $[M+H]^+=590,1$.

Стадия 6. Синтез (S)-2-(4-(6-((4-хлор-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)-3-фторбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновой кислоты

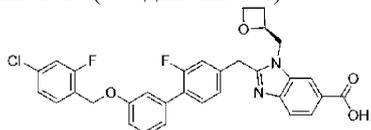
Смесь 8, полученного выше (9 мг, 0,015 ммоль), LiOH (3,7 мг, 0,15 ммоль) в метаноле (3 мл) перемешивали в течение 3 ч в пробирке Шленка в атмосфере N_2 при 25°C, реакция как показали ТСХ и ЖХ-МС. Реакционную смесь доводили до pH 7,0 с помощью AcOH. Затем неочищенный продукт очищали препаративной ВЭЖХ с получением указанного в заголовке соединения (S)-2-(4-(6-((4-хлор-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)-3-фторбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновой кислоты (3,3 мг, 0,006 ммоль, выход 37,6%, чистота 100%) в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+=576,1$.

(S)-2-(4-(6-(4-циано-2-фторбензилокси)пиридин-2-ил)-3-фторбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 75)



Указанное в заголовке соединение получали аналогично соединению 74 в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+=567,3$.

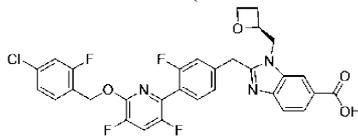
(S)-2-((3'-((4-хлор-2-фторбензил)окси)-2-фтор-[1,1'-бифенил]-4-ил)метил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 76)



Указанное в заголовке соединение получали аналогично соединению 74 в виде белого твердого ве-

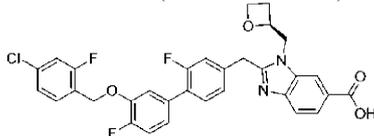
щества. ЖХ-МС $[M+H]^+ = 575,2$.

(S)-2-(4-(6-((4-хлор-2-фторбензил)окси)-3,5-дифторпиридин-2-ил)-3-фторбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1Н-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 77)



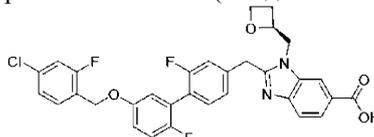
Указанное в заголовке соединение получали аналогично соединению 74 в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 611,8$.

(S)-2-((3'-((4-хлор-2-фторбензил)окси)-2,4'-дифтор-[1,1'-бифенил]-4-ил)метил)-1-(оксетан-2-илметил)-1Н-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 78)



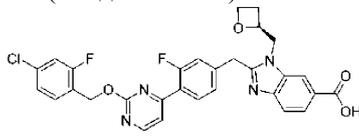
Указанное в заголовке соединение получали аналогично соединению 74 в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 593,1$.

(S)-2-((5'-((4-хлор-2-фторбензил)окси)-2,2'-дифтор-[1,1'-бифенил]-4-ил)метил)-1-(оксетан-2-илметил)-1Н-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 79)



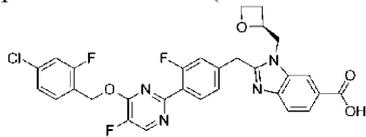
Указанное в заголовке соединение получали аналогично соединению 74 в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 593,0$.

(S)-2-(4-(2-((4-хлор-2-фторбензил)окси)пиримидин-4-ил)-3-фторбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1Н-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 80)



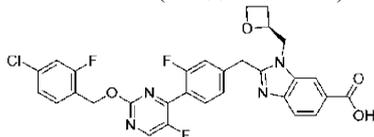
Указанное в заголовке соединение получали аналогично соединению 74 в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС $[M+H]^+ = 576,1$.

(S)-2-(4-(4-(4-хлор-2-фторбензилокси)-5-фторпиримидин-2-ил)-3-фторбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1Н-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 81)



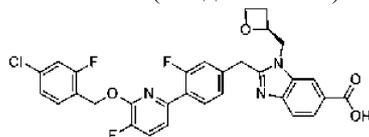
Указанное в заголовке соединение получали аналогично соединению 74 в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 594,9$.

(S)-2-(4-(2-(4-хлор-2-фторбензилокси)-5-фторпиримидин-4-ил)-3-фторбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1Н-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 82)



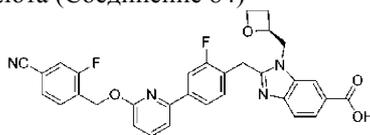
Указанное в заголовке соединение получали аналогично соединению 74 в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС $[M+H]^+ = 595,2$.

(S)-2-(4-(6-((4-Хлор-2-фторбензил)окси)-5-фторпиридин-2-ил)-3-фторбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1Н-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 83)



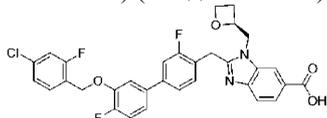
Указанное в заголовке соединение получали аналогично соединению 74 в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 594,0$.

(S)-2-(4-(6-((4-циано-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)-2-фторбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 84)



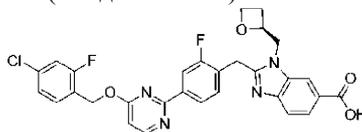
Указанное в заголовке соединение получали аналогично соединению 74 в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 567,0$.

(S)-2-((3'-((4-Хлор-2-фторбензил)окси)-3,4'-дифтор-[1,1'-бифенил]-4-ил)метил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 85)



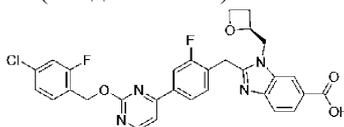
Указанное в заголовке соединение получали аналогично соединению 74 в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 593,0$.

(S)-2-(4-(4-((4-Хлор-2-фторбензил)окси)пиримидин-2-ил)-2-фторбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 86)



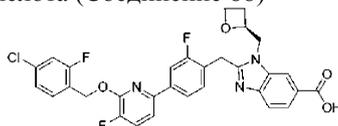
Указанное в заголовке соединение получали аналогично соединению 74 в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС $[M+H]^+ = 576,9$.

(S)-2-(4-(2-((4-Хлор-2-фторбензил)окси)пиримидин-4-ил)-2-фторбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 87)



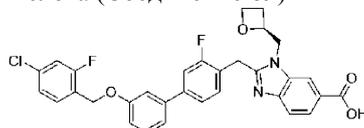
Указанное в заголовке соединение получали аналогично соединению 74 в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС $[M+H]^+ = 576,9$.

(S)-2-(4-(6-(4-Хлор-2-фторбензилокси)-5-фторпиридин-2-ил)-2-фторбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 88)



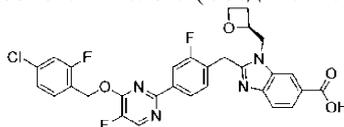
Указанное в заголовке соединение получали аналогично соединению 74 в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС $[M+H]^+ = 594,1$.

(S)-2-((3'-((4-Хлор-2-фторбензил)окси)-3-фтор-[1,1'-бифенил]-4-ил)метил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 89)



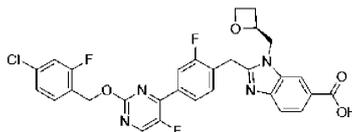
Указанное в заголовке соединение получали аналогично соединению 74 в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 575,0$.

(S)-2-(4-(4-((4-Хлор-2-фторбензил)окси)-5-фторпиримидин-2-ил)-2-фторбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 90)



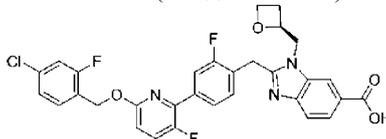
Указанное в заголовке соединение получали аналогично соединению 74 в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС $[M+H]^+ = 594,9$.

(S)-2-(4-(2-(4-Хлор-2-фторбензилокси)-5-фторпиримидин-4-ил)-2-фторбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 91)



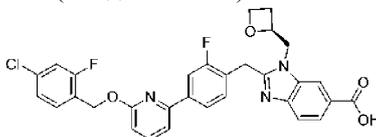
Указанное в заголовке соединение получали аналогично соединению 74 в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+$ =595,0.

(S)-2-(4-(6-((4-Хлор-2-фторбензил)окси)-3-фторпиридин-2-ил)-2-фторбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1Н-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 92)



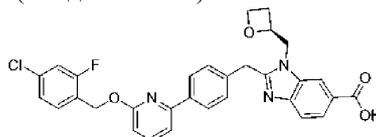
Указанное в заголовке соединение получали аналогично соединению 74 в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+$ =594,8.

(S)-2-(4-(6-((4-Хлор-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)-2-фторбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1Н-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 93)



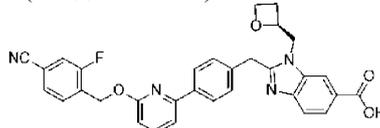
Указанное в заголовке соединение получали аналогично соединению 74 в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+$ =576,2.

(S)-2-(4-(6-((4-Хлор-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)бензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1Н-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 94)



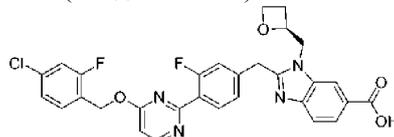
Указанное в заголовке соединение получали аналогично соединению 74 в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+$ =558,0.

(S)-2-(4-(6-((4-Циано-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)бензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1Н-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 95)



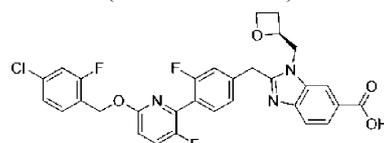
Указанное в заголовке соединение получали аналогично соединению 74 в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+$ =549,2.

(S)-2-(4-(4-(4-Хлор-2-фторбензил)окси)пиримидин-2-ил)-3-фторбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1Н-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 96)



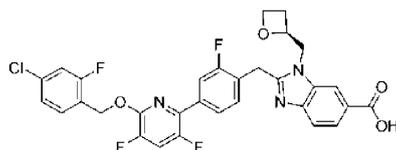
Указанное в заголовке соединение получали аналогично соединению 74 в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС $[M+H]^+$ =577,0.

(S)-2-(4-(6-(4-Хлор-2-фторбензилокси)-3-фторпиридин-2-ил)-3-фторбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1Н-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 97)



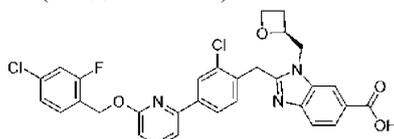
Указанное в заголовке соединение получали аналогично соединению 74 в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС $[M+H]^+$ =594,1.

(S)-2-(4-(6-(4-Хлор-2-фторбензилокси)-3,5-дифторпиридин-2-ил)-2-фторбензил)-3-(оксетан-2-илметил)-3Н-бензо[d]имидазол-5-карбоновая кислота (Соединение 98)



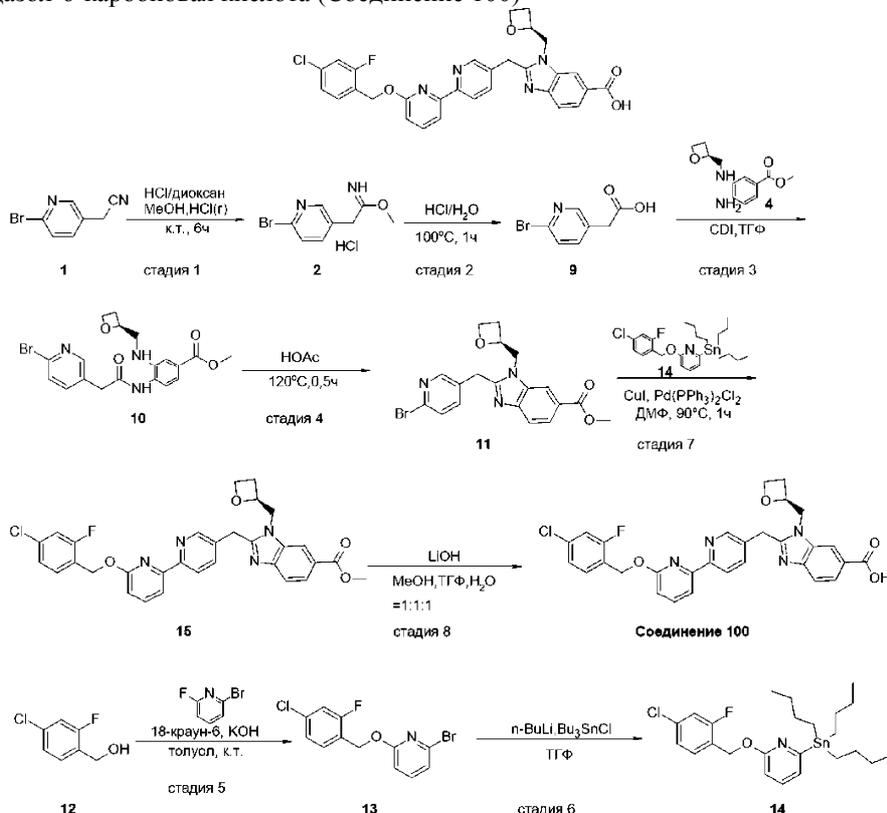
Указанное в заголовке соединение получали аналогично соединению 74 в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 612,0$.

(S)-2-(2-(4-Хлор-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)бензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 99)



Указанное в заголовке соединение получали аналогично соединению 74 в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 593,1$.

(S)-2-((6'-(4-Хлор-2-фторбензилокси)-2,2'-бипиридин-5-ил)метил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 100)



Стадия 1. Синтез метил-2-(6-бром-3-пиридил)этанамидата

В смеси 2-(6-бром-3-пиридил)ацетонитрила 1 (985 мг, 5,0 ммоль), метанола (0,30 мл, 7,5 ммоль) в диоксане (20 мл) барботировали HCl (газ) при перемешивании в течение 6 ч при комнатной температуре в круглодонной колбе до завершения реакции по данным ЖХ-МС, реакционную смесь концентрировали в вакууме с получением желаемого продукта метил-2-(6-бром-3-пиридил)этанамидата (2) (1,4 г, неочищенный) в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: $(M+H)^+ = 230,0$.

Стадия 2. Синтез 2-(6-бром-3-пиридил)уксусной кислоты

Смесь 2, полученного выше (1,2 г, 5,24 ммоль), конц. HCl (10 мл) в воде (10 мл) перемешивали в течение 1 ч при 100°C в круглодонной колбе под N₂ до завершения реакции по данным ЖХ-МС, реакционную смесь концентрировали в вакууме, получая желаемый продукт 2-(6-бром-3-пиридил)уксусную кислоту (9) (0,68 г, неочищенная) в виде бледно-желтого твердого вещества. ЖХ-МС: $(M+H)^+ = 217,9$.

Стадия 3. Синтез метил-(S)-4-(2-(6-бромпиридин-3-ил)ацетида)-3-((оксетан-2-илметил)амино)бензоата

Смесь 9, полученного выше (216 мг, 999,9 мкмоль), ди(имидазол-1-ил)метанола (162,1 мг, 1,0 ммоль) в ТГФ (20 мл) перемешивали в течение 0,5 ч при 50°C, затем добавляли к смеси метил-4-амино-3-[[[(2S)-оксетан-2-ил]метиламино]бензоат (4) (236,2 мг, 1,0 ммоль), перемешивали ее в течение еще 2,5 ч в атмосфере N₂, пока реакция не была завершена по данным ЖХ-МС, реакционную смесь концентрировали в

вакууме, очищали препаративной

ВЭЖХ с получением желаемого продукта метил-(S)-4-(2-(6-бромпиридин-3-ил)ацетиламино)-3-((оксетан-2-илметил)амино)бензоата (10) (180 мг, 0,42 моль, выход 41,5%) в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: (M+H)⁺=435,9.

Стадия 4. Синтез метил-(S)-2-((6-бромпиридин-3-ил)метил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоксилата

Смесь 10, полученного выше (180 мг, 0,41 ммоль), в уксусной кислоте (10 мл) перемешивали в течение 0,5 ч при 120°C в круглодонной колбе под N₂, пока реакция не завершилась, как показывает ЖХ-МС, реакционную смесь концентрировали в вакууме, сушили в вакууме с получением желаемого продукта метил-(S)-2-((6-бромпиридин-3-ил)метил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоксилата (11) (170 мг, неочищенный) в виде бледно-желтого твердого вещества. ЖХ-МС: (M+H)⁺=416,0.

Стадия 5. Синтез 2-бром-6-((4-хлор-2-фторбензил)окси)пиридина

Смесь (4-хлор-2-фторфенил)метанола 12 (8,0 г, 49,8 ммоль), 2-бром-6-фторпиридина (8,77 г, 49,8 ммоль, 5,13 мл), 1,4,7,10,13,16-гексаоксациклооктадекана (658,4 мг, 2,5 ммоль, 0,56 мл), КОН (4,19 г, 74,7 ммоль) в толуоле (100 мл) перемешивали в течение 18 ч при комнатной температуре в круглодонной колбе под N₂ до завершения реакции, как показывает ЖХ-МС, реакционную смесь экстрагировали 50 мл EtOAc 3 раза, объединенные органические слои промывали рассолом, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали в вакууме, очищали хроматографией на силикагеле (гексаны/EtOAc=20:1) с получением желаемого продукта 2-бром-6-((4-хлор-2-фторбензил)окси)пиридина (13) (15 г, 47,4 ммоль, выход 95,1%) в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: (M+H)⁺=316,0.

Стадия 6. Синтез 2-((4-хлор-2-фторбензил)окси)-6-(трибутилстаннил)пиридина

К смеси 13, полученного выше (1,58 г, 4,99 ммоль) в ТГФ (20 мл), добавляли н-бутиллитий (383,7 мг, 5,99 ммоль, 2,4 мл), перемешивали в течение 3 ч при -70°C в круглодонной колбе под N₂, затем добавляли к смеси BU₃SnCl (2,44 г, 7,49 ммоль, 2,03 мл), после добавления смеси давали нагреться до комнатной температуры в течение еще 2 ч, реакция завершалась, как показывает ЖХ-МС, реакционную смесь гасили насыщенным NH₄Cl на ледяной бане, сушили над Na₂SO₄, органические слои концентрировали в вакууме с получением желаемого продукта 2-((4-хлор-2-фторбензил)окси)-6-(трибутилстаннил)пиридина (14) (3,5 г, неочищенный) в виде бледно-желтой жидкости, которую непосредственно использовали на следующей стадии.

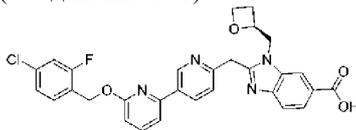
Стадия 7. Синтез метил-(S)-2-((6'-((4-хлор-2-фторбензил)окси)-[2,2'-бипиридин]-5-ил)метил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоксилата

Перемешивали смесь 11 (150 мг, 0,35 ммоль), 14 (189,8 мг, 0,36 ммоль), Pd(PPh₃)₂Cl₂ (34 мг, 0,029 моль), CuI (34 мг, 0,178 моль, 6,05 мкл) в ДМФА (5 мл) в течение 1 ч при 90°C в круглодонной колбе (RBF) в атмосфере N₂ до тех пор, пока анализ ЖХ-МС не указывал на завершение реакции, реакционную смесь фильтровали и очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением желаемого продукта метил-(S)-2-((6'-((4-хлор-2-фторбензил)окси)-[2,2'-бипиридин]-5-ил)метил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоксилата (15) (40,0 мг, 0,070 ммоль, выход 19,4%) в виде бледно-желтого твердого вещества. ЖХ-МС: (M+H)⁺=573,0.

Стадия 8. Синтез (S)-2-((6'-((4-хлор-2-фторбензил)окси)-[2,2'-бипиридин]-5-ил)метил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновой кислоты

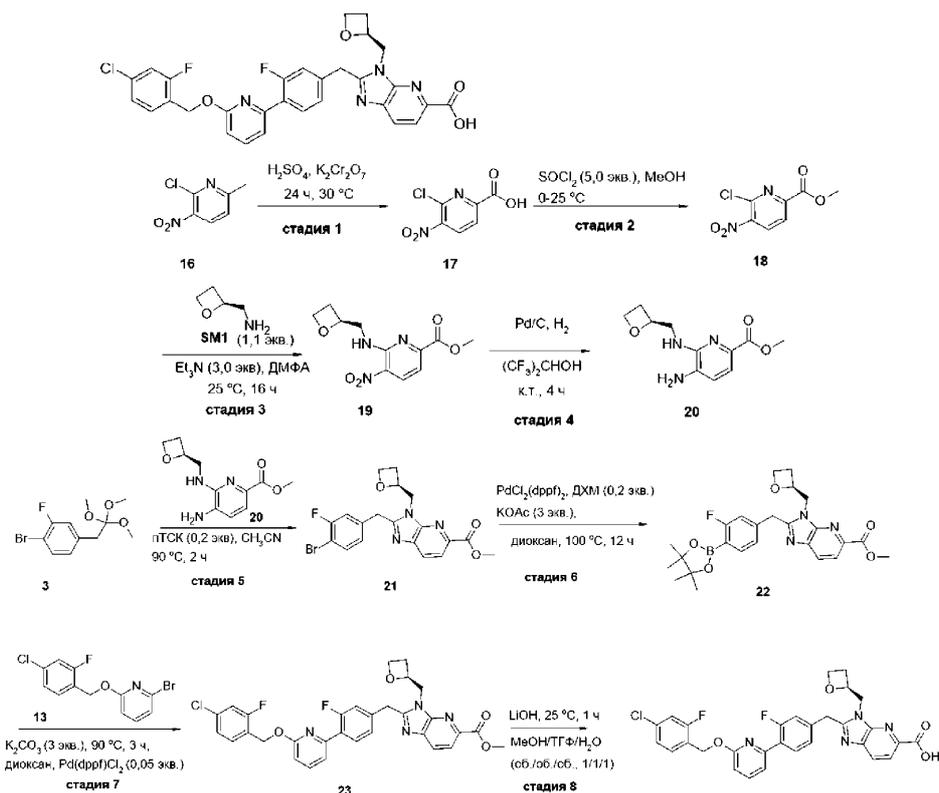
Смесь 15, полученного выше (40,0 мг, 0,070 ммоль), и LiOH (117,2 мг, 2,79 ммоль, 77,6 мкл) в метаноле (1 мл), воде (1 мл), ТГФ (1 мл) перемешивали в течение 1 ч при комнатной температуре в круглодонной колбе под N₂, пока реакция не завершится, как показывает ЖХ-МС, pH реакционной смеси довели до 7 с помощью HOAc, смесь очищали препаративной ВЭЖХ с получением указанного в заголовке соединения (S)-2-((6'-((4-хлор-2-фторбензил)окси)-[2,2'-бипиридин]-5-ил)метил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновой кислоты (6,9 мг, 0,012 ммоль, выход 17,7%) в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: (M+H)⁺=558,9.

(S)-2-((6'-((4-Хлор-2-фторбензил)окси)-[2,3'-бипиридин]-6'-ил)метил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 101)



Указанное в заголовке соединение получали аналогично соединению 100 в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: (M+H)⁺=558,9.

(S)-2-(4-(6-((4-Хлор-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)-3-фторбензил)-3-(оксетан-2-илметил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-5-карбоновая кислота (Соединение 102)



Стадия 1. Синтез 6-хлор-5-нитропиколиновой кислоты

К перемешиваемому раствору 2-хлор-6-метил-3-нитропиридина 16 (4,0 г, 23,2 ммоль) в серной кислоте (16 мл) при комнатной температуре добавляли $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (10,2 г, 34,8 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 30°C в течение 24 ч и по завершении реакции, по данным ЖХ-МС, смесь разбавляли водой (200 мл) на ледяной бане, образовавшиеся осадки фильтровали и промывали водой (20 мл) и сушили при пониженном давлении с получением 6-хлор-5-нитропиколиновой кислоты 17 (3,9 г, 19,3 ммоль, выход 83,3%, чистота 100%) в виде светло-желтого твердого вещества. ЖХ-МС: $[\text{M}+\text{H}]^+=203$.

Стадия 2. Синтез метил-6-хлор-5-нитропиколината

К суспензии 17, полученного выше (3,9 г, 19,3 ммоль), в дихлорметане (40 мл) добавляли оксалилдихлорид (4,9 г, 38,5 ммоль, 3,35 мл) и N, N-диметилформамид (0,23 мл) при 0°C . Перемешивали реакционную смесь при 25°C в течение 1 ч. К реакционной смеси добавляли метанол (2,37 г, 74,1 ммоль, 3 мл) при 25°C . Раствор перемешивали при 25°C еще 60 мин. Смесь концентрировали в вакууме, получая остаток, который очищали флэш-хроматографией (Biotage, колонка с 80 г силикагеля при 100 мл/мин, элюирование 0-60% этилацетатом в петролейном эфире в течение 30 мин) с получением метил-6-хлор-5-нитропиколината 18 (2,63 г, 12,1 ммоль, выход 63,1%, чистота 100%) в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС $[\text{M}+\text{H}]^+=217$.

Стадия 3. Синтез метил-(S)-5-нитро-6-((оксетан-2-илметил)амино)пиколината

К перемешиваемому раствору [(2S)-оксетан-2-ил]метанамина (663,7 мг, 7,6 ммоль) и 18, полученного выше (1,50 г, 6,9 ммоль), в ДМФА (23 мл) при 25°C добавляли N-этил-N-изопропилпропан-2-амин (2,69 г, 20,8 ммоль, 3,62 мл). Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 16 ч и по завершении реакции по данным ЖХ-МС смесь разбавляли EtOAc (100 мл) и нагревали до комнатной температуры. Разделяли слои и водный слой экстрагировали EtOAc (2×100 мл). Промывали объединенную органическую фазу рассолом (100 мл) и сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный продукт очищали флэш-хроматографией на колонке (SiO_2 , петролейный эфир/этилацетат = 0 ~40%) с получением метил-(S)-5-нитро-6-((оксетан-2-илметил)амино)пиколината 19 (1,80 г, 6,5 ммоль, выход 93,3%, чистота 96%) в виде твердого вещества желтого цвета. ЖХ-МС: $[\text{M}+\text{H}]^+=267$.

Стадия 4. Синтез метил-(S)-5-амино-6-((оксетан-2-илметил)амино)пиколината

К перемешиваемому раствору 19, полученного выше (1,8 г, 6,7 ммоль), в гексафторизопропанол (25 мл) при 25°C добавляли 10% Pd/C (304 мг). Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 4 ч в атмосфере водорода и по завершении реакции, по данным ЖХ-МС, смесь разбавляли EtOAc (100 мл), фильтровали и осадок на фильтре промывали EtOAc (2×100 мл). Объединенную органическую фазу концентрировали в вакууме, получая метил-(S)-5-амино-6-((оксетан-2-илметил)амино)пиколинат 20 (1,6 г, 6,1 ммоль, выход 91,1%, чистота 91%) в виде твердого вещества желтого цвета. ЖХ-МС: $[\text{M}+\text{H}]^+=238$.

Стадия 5. Синтез метил-(S)-2-(4-бром-3-фторбензил)-3-(оксетан-2-илметил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-5-карбоксилата.

К перемешиваемому раствору 20 (260 мг, 1,10 ммоль) в CH_3CN (8 мл) при комнатной температуре добавляли 4-метилбензолсульфоновой кислоты (41,9 мг, 0,22 ммоль) и 1-бром-2-фтор-4-(2,2,2-триметоксиэтил)бензол (483,7 мг, 1,7 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 90°C в течение 2 ч и по завершении реакции, по данным ЖХ-МС, смесь разбавляли EtOAc (100 мл) и охлаждали до комнатной температуры. Разделяли слои и водный слой экстрагировали EtOAc (2×150 мл). Промывали объединенную органическую фазу рассолом (100 мл) и сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный продукт очищали флэш-хроматографией на колонке (SiO_2 , петролейный эфир/этилацетат 5:1) с получением метил-(S)-2-(4-бром-3-фторбензил)-3-(оксетан-2-илметил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-5-карбоксилата 21 (180 мг, 0,41 ммоль, выход 37,7%) в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: $[\text{M}+\text{H}]^+=434$.

Стадия 6. Синтез метил-(S)-2-(3-фтор-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бензил)-3-(оксетан-2-илметил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-5-карбоксилата

К перемешиваемому раствору 21, полученного выше (20,0 мг, 0,046 ммоль), и 4,4,5,5-тетраметил-2-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1,3,2-диоксаборолана (14,0 мг, 55,3 ммоль) в 1,4-диоксане (1 мл) при 100°C добавляли $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ (5,1 мг) и ацетат калия (13,6 мг). Реакционную смесь перемешивали при 100°C в течение 12 ч и по завершении реакции по данным ЖХ-МС смесь разбавляли EtOAc (100 мл) и нагревали до комнатной температуры, концентрировали в вакууме с получением неочищенного метил-(S)-2-(3-фтор-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бензил)-3-(оксетан-2-илметил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-5-карбоксилата 22 (22 мг, 0,046 ммоль, выход 99,2%) в виде желтого твердого вещества, которое использовали на следующей стадии без очистки.

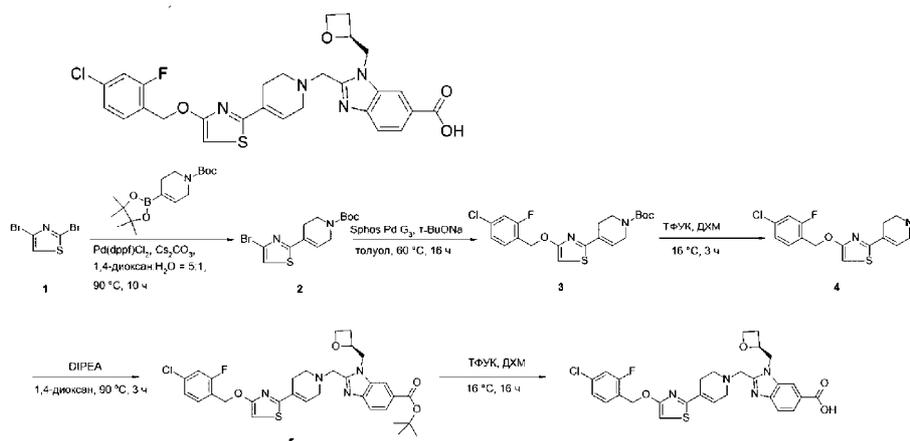
Стадия 7. Синтез метил-(S)-2-(4-(6-((4-хлор-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)-3-фторбензил)-3-(оксетан-2-илметил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-5-карбоксилата

К перемешиваемому раствору 22, полученного выше (22,0 мг, 0,046 ммоль), и 13 (17,4 мг, 0,055 ммоль) в 1,4-диоксане (2 мл) при 25°C добавляли $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ (1,7 мг, 0,002 ммоль) и карбонат калия (19,0 мг, 0,14 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 90°C в течение 3 ч и по завершении реакции по данным ЖХ-МС смесь разбавляли EtOAc (100 мл) и нагревали до комнатной температуры, концентрировали в вакууме, очищали с помощью флэш-хроматографии на колонке (силикагель, петролейный эфир/этилацетат=0~40%) с получением метил-(S)-2-(4-(6-((4-хлор-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)-3-фторбензил)-3-(оксетан-2-илметил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-5-карбоксилата 23 (20,0 мг, 0,034 ммоль, выход 74,0%) в виде желтого твердого вещества. ЖХ-МС: $[\text{M}+\text{H}]^+=591$.

Стадия 8. Синтез (S)-2-(4-(6-((4-хлор-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)-3-фторбензил)-3-(оксетан-2-илметил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-5-карбоновой кислоты

К перемешиваемому раствору 23, полученного выше (20,0 мг, 0,034 ммоль), в воде (1 мл), ТГФ (1 мл) и метаноле (1 мл) при 25°C добавляли моногидрат гидроксида лития (2,8 мг, 0,068 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 1 ч и после завершения реакции, по данным ЖХ-МС, смесь подкисляли AcOH до pH ~6, разбавляли ДМФА (3 мл) и очищали обращенно-фазовой ВЭЖХ (Прибор: Gilson 281 (PHG012); Колонка: Xtimate C18 10 мкм, 21,2×250 мм; Подвижная фаза: А: вода (10 mM NH_4HCO_3 , 0,025% NH_3 H_2O), В: ацетонитрил; градиент: 30% В в течение 1 мин, затем 45% В через 7 мин, остановка через 15 мин; Скорость потока: 30 мл/мин; Длина волны детектирования: 214/254 нм; Время удерживания: 8,0 мин; Число вводов пробы: 3), соответствующие фракции объединяли, концентрировали при пониженном давлении для удаления большей части органического растворителя, и водный остаток лиофилизировали с получением указанного в заголовке соединения (S)-2-(4-(6-((4-хлор-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)-3-фторбензил)-3-(оксетан-2-илметил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-5-карбоновой кислоты в виде белого твердого вещества (7,0 мг, 0,012 ммоль, выход 35,9%). ЖХ-МС: $[\text{M}+\text{H}]^+=577$.

(S)-2-((4-(4-((4-Хлор-2-фторбензил)окси)тиазол-2-ил)-3,6-дигидропиридин-1(2H)-ил)метил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 246)



Стадия 1.

Смесь 2,4-дибромтиазола (2,0 г, 8,23 ммоль), трет-бутил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-3,6-дигидро-2H-пиридин-1-карбоксилата (2,55 г, 8,23 ммоль) и Pd(dppf)Cl₂ (602,42 мг, 823,32 мкмоль), CS₂CO₃ (5,37 г, 16,47 ммоль) в 1,4-диоксане (40 мл) перемешивали в течение 10 ч при 90°C в круглодонной колбе в атмосфере N₂ до завершения реакции по данным ЖХ-МС, реакционную смесь концентрировали в вакууме, очищали хроматографией на силикагеле (гексаны/EtOAc=10:1, R_f=0,4) с получением желаемого продукта трет-бутил-4-(4-бромтиазол-2-ил)-3,6-дигидро-2H-пиридин-1-карбоксилата (2,2 г, 6,37 ммоль, выход 77,4%, чистота 100%) в виде светло-желтого твердого вещества. ЖХ-МС: [M+H]⁺=291,0; время удерживания (10 mM NH₄HCO₃)=1,79 мин.

Стадия 2.

Смесь трет-бутил-4-(4-бромтиазол-2-ил)-3,6-дигидро-2H-пиридин-1-карбоксилата (1,0 г, 2,90 ммоль), (4-хлор-2-фторфенил)метанола (697,6 мг, 4,34 ммоль) и Sphos-Pd G₃ (225,92 мг, 289,64 мкмоль), t-BuONa (835,1 мг, 8,69 ммоль) в толуоле (5 мл) перемешивали в течение 16 ч при 60°C в круглодонной колбе в атмосфере N₂, пока реакция не завершилась, как показывает ЖХ-МС, реакционную смесь фильтровали через слой целита с EtOAc и объединенные органические слои концентрировали в вакууме, очищали с помощью препаративной ВЭЖХ с получением желаемого продукта трет-бутил-4-[4-[(4-хлор-2-фторфенил)метокси]тиазол-2-ил]-3,6-дигидро-2H-пиридин-1-карбоксилата (30 мг, 70,60 мкмоль, выход 2,4%) в виде желтой маслянистой жидкости. ЖХ-МС: [M+H]⁺=425,2; время удерживания (0,01% ТФУК)=2,49 мин.

Стадия 3.

Смесь трет-бутил-4-[4-[(4-хлор-2-фторфенил)метокси]тиазол-2-ил]-3,6-дигидро-2H-пиридин-1-карбоксилата (26 мг, 61,19 мкмоль) и 2,2,2-трифторуксусной кислоты (1,48 г, 12,98 ммоль, 1 мл) в дихлорметане (3 мл) перемешивали в течение 3 ч при 16°C, пока реакция не завершилась, как показывает ЖХ-МС, реакционную смесь концентрировали в вакууме, получая желаемый продукт 4-[4-(4-хлор-2-фторфенил)метокси]-2-(1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)тиазол (20 мг, неочищенный) в виде желтого твердого вещества. ЖХ-МС: [M+H]⁺=325,0; время удерживания (10 mM NH₄HCO₃)=1,58 мин.

Стадия 4.

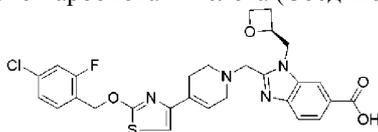
Смесь 4-[4-(4-хлор-2-фторфенил)метокси]-2-(1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)тиазола (15 мг, 46,18 мкмоль), трет-бутил-2-(хлорметил)-3-[[2(S)-оксетан-2-ил]метил]бензимидазол-5-карбоксилата (15,55 мг, 46,18 мкмоль) и N-этил-N-изопропилпропан-2-амин (29,84 мг, 230,91 мкмоль, 40,22 мкл) в N,N-диметилформамиде (3 мл) перемешивали в течение 4 ч при 50°C в круглодонной колбе в атмосфере N₂ до завершения реакции по данным ЖХ-МС, реакционную смесь концентрировали в вакууме, с получением остатка, который очищали препаративной ВЭЖХ с получением желаемого продукта трет-бутил-2-[[4-[4-[(4-хлор-2-фторфенил)метокси]тиазол-2-ил]-3,6-дигидро-2H-пиридин-1-ил]метил]-3-[[2(S)-оксетан-2-ил]метил]бензимидазол-5-карбоксилата (3 мг, 4,80 мкмоль, выход 10,39%, чистота 100%) в виде твердого вещества желтого цвета. ЖХ-МС: [M+H]⁺=625,3; время удерживания (10 mM NH₄HCO₃)=1,84 мин.

Стадия 5.

Смесь трет-бутил-2-[[4-[4-[(4-хлор-2-фторфенил)метокси]тиазол-2-ил]-3,6-дигидро-2H-пиридин-1-ил]метил]-3-[[2(S)-оксетан-2-ил]метил]бензимидазол-5-карбоксилата (3 мг, 4,80 мкмоль) и 2,2,2-трифторуксусной кислоты (1,48 г, 12,98 ммоль, 1 мл) в дихлорметане (4 мл) перемешивали в течение 1 ч при 16°C в круглодонной колбе в атмосфере N₂ до завершения реакции по данным ЖХ-МС, реакционную смесь концентрировали в вакууме, получая остаток, который очищали препаративной ВЭЖХ с получением желаемого продукта 2-[[4-[4-[(4-хлор-2-фторфенил)метокси]тиазол-2-ил]-3,6-дигидро-2H-пиридин-1-ил]метил]-3-[[2(S)-оксетан-2-ил]метил]бензимидазол-5-карбоновой кислоты (0,8 мг, 1,41 мкмоль, выход 29,3%, чистота 100%) в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: [M+H]⁺=569,2; время удерживания (10 mM NH₄HCO₃)=1,46 мин; чистота=100% (254 нм).

^1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD) δ 8,20 (с, 1H), 7,97 (дд, $J=8,5, 1,2$ Гц, 1H), 7,65-7,52 (м, 2H), 7,30-7,22 (м, 2H), 6,61-6,60 (ушир.с, 1H), 6,39-6,38 (ушир.с, 1H), 5,24 (с, 2H), 4,71-4,63 (м, 3H), 4,43 (с, 2H), 4,15 (д, $J=13,6$ Гц, 1H), 4,05 (д, $J=13,6$ Гц, 1H), 3,25-3,24 (м, 2H), 2,86-2,80 (м, 2H), 2,80-2,73 (м, 1H), 2,65-2,63 (ушир.с, 2H), 2,52-2,50 (м, 1H).

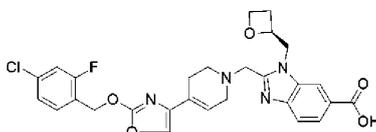
(S)-2-((4-(2-((4-Хлор-2-фторбензил)окси)тиазол-4-ил)-3,6-дигидропиридин-1(2H)-ил)метил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 247)



Получали аналогично соединению 250. ЖХ-МС: $[\text{M}+\text{H}]^+=568,9$; время удерживания (10 мМ NH_4HCO_3)=1,41 мин.

^1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD) δ 8,37 (д, $J=0,9$ Гц, 1H), 8,07 (дд, $J=8,5, 1,5$ Гц, 1H), 7,84 (д, $J=8,5$ Гц, 1H), 7,58 (т, $J=8,0$ Гц, 1H), 7,33-7,23 (м, 2H), 6,93 (с, 1H), 6,60 (с, 1H), 5,54 (с, 2H), 5,28-5,14 (м, 1H), 5,11-4,90 (м, 2H), 4,79 (дд, $J=15,8, 6,9$ Гц, 1H), 4,67 (дт, $J=13,8, 5,4$ Гц, 2H), 4,42 (дт, $J=9,3, 5,9$ Гц, 1H), 4,23 (с, 2H), 3,80 (д, $J=5,4$ Гц, 2H), 3,00-2,72 (м, 3H), 2,51 (дкв, $J=11,3, 7,4$ Гц, 1H).

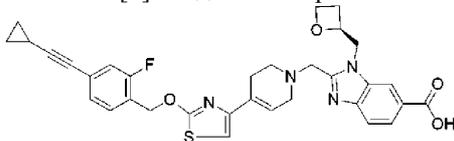
(S)-2-((4-(2-((4-Хлор-2-фторбензил)окси)оксазол-4-ил)-5,6-дигидропиридин-1(2H)-ил)метил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 248)



Получали аналогично соединению 250. ЖХ-МС: $[\text{M}+\text{H}]^+=553,2$; время удерживания (0,01% ТФУК)=1,50 мин.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,73 (ушир.с, 3H), 7,46 (т, $J=8,0$ Гц, 1H), 7,16 (т, $J=9,3$ Гц, 3H), 6,39 (с, 1H), 5,44 (с, 2H), 5,15 (с, 1H), 4,59 (д, $J=5,6$ Гц, 3H), 4,34 (с, 2H), 2,70 (с, 3H), 2,41 (с, 3H), 2,06 (д, $J=14,3$ Гц, 5H).

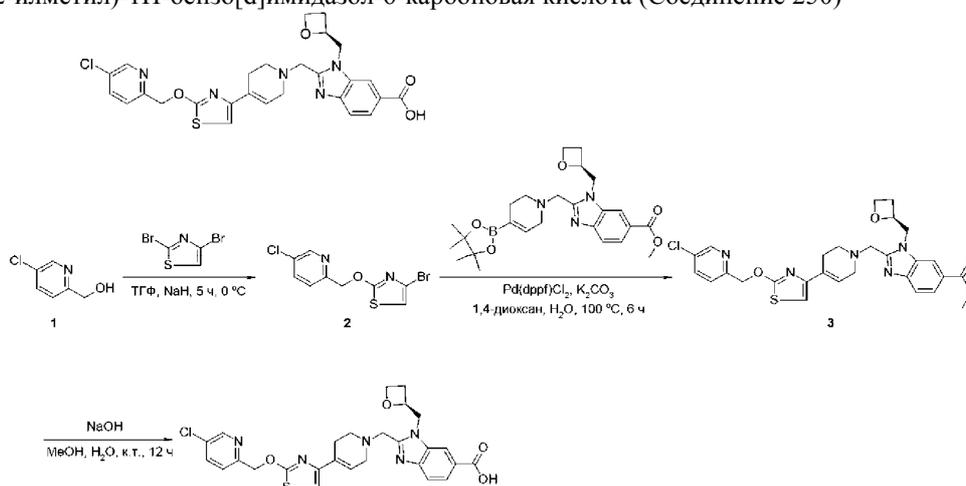
(S)-2-((4-(2-((4-(Циклопропилэтинил)-2-фторбензил)окси)тиазол-4-ил)-3,6-дигидропиридин-1(2H)-ил)метил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 249)



Получали аналогично соединению 250. ЖХ-МС: $[\text{M}+\text{H}]^+=599,0$; время удерживания (10 мМ NH_4HCO_3)=1,68 мин.

^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8,23-8,18 (ушир.с, 1H), 7,80 (дд, $J=8,4, 1,4$ Гц, 1H), 7,60 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 7,53 (т, $J=7,9$ Гц, 1H), 7,26 (дд, $J=10,8, 1,2$ Гц, 1H), 7,22 (дд, $J=7,9, 1,4$ Гц, 1H), 6,87-6,82 (ушир.с, 1H), 6,47-6,42 (м, 1H), 5,46 (с, 2H), 5,09-5,02 (м, 1H), 4,78 (дд, $J=15,2, 7,2$ Гц, 1H), 4,62 (дд, $J=15,1, 2,6$ Гц, 1H), 4,47 (дд, $J=13,7, 7,6$ Гц, 1H), 4,36 (дт, $J=9,0, 5,9$ Гц, 1H), 4,04 (д, $J=13,4$ Гц, 1H), 3,89 (д, $J=13,4$ Гц, 1H), 3,21-3,11 (м, 2H), 2,73-2,62 (м, 3H), 2,42-3,32 (м, 3H), 1,60-1,50 (м, 1H), 0,94-0,87 (м, 2H), 0,77-0,72 (м, 2H).

(S)-2-((4-(2-((5-Хлорпиридин-2-ил)метокси)тиазол-4-ил)-3,6-дигидропиридин-1(2H)-ил)метил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 250)



Стадия 1.

К суспензии (5-хлор-2-пиридил)метанола (100 мг, 696,5 мкмоль) в ТГФ (4 мл) добавляли гидрид натрия (33,4 мг, 1,39 ммоль) при 0°C и перемешивали в течение 30 мин. Затем добавляли 2,4-дибромтиазол (169,2 мг, 696,5 мкмоль) и перемешивали в течение 5 ч при 0°C. После завершения реакции, о чем судили по данным ЖХ-МС, гасили реакцию ледяной водой (20 мл) и экстрагировали смесь EtOAc (3×20 мл). Промывали органическую фазу солевым раствором (50 мл) и сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный продукт очищали флэш-хроматографией (SiO₂, гексан/этилацетат 20:1) с получением 4-бром-2-[(5-хлор-2-пиридил)метокси]тиазола (78 мг, 232,4 мкмоль, выход 33,4%) в виде бесцветной маслянистой жидкости. ЖХ-МС: [M+H]⁺=304,9; время удерживания (0,01% ТФУК)=2,02 мин.

Стадия 2.

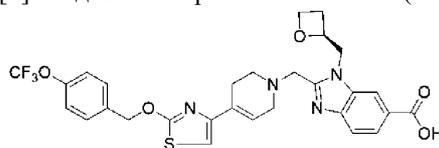
К суспензии 4-бром-2-[(5-хлор-2-пиридил)метокси]тиазола (78 мг, 255,25 мкмоль) в 1,4-диоксане (3 мл) добавляли метил-3-[[[(2S)-оксетан-2-ил]метил]-2-[[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-3,6-дигидро-2Н-пиридин-1-ил]метил]бензимидазол-5-карбоксилат (119,3 мг, 255,3 мкмоль), Pd(dppf)Cl₂ (37,35 мг, 51,1 мкмоль), K₂CO₃ (105,8 мг, 765,8 мкмоль, 46,22 мкл) и воду (0,3 мл) при 100°C и перемешивали в течение 6 ч в атмосфере N₂. После завершения реакции, о чем судили по данным ЖХ-МС, гасили реакцию ледяной водой (20 мл) и экстрагировали смесь EtOAc (3×20 мл). Промывали органическую фазу солевым раствором (50 мл) и сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный продукт очищали препаративной ТСХ (дихлорметан/метанол 25:1) с получением метил-(S)-2-((4-(2-((5-хлорпиридин-2-ил)метокси)тиазол-4-ил)-3,6-дигидропиридин-1(2Н)-ил)метил)-1-(оксетан-2-илметил)-1Н-бензо[d]имидазол-6-карбоксилата (100 мг, 139,3 мкмоль, выход 54,6%, чистота 78,9%) в виде желтой маслянистой жидкости. ЖХ-МС: [M+H]⁺=566,1; время удерживания (0,01% ТФУК)=1,48 мин.

Стадия 3.

К суспензии метилметил-(S)-2-((4-(2-((5-хлорпиридин-2-ил)метокси)тиазол-4-ил)-3,6-дигидропиридин-1(2Н)-ил)метил)-1-(оксетан-2-илметил)-1Н-бензо[d]имидазол-6-карбоксилата (100 мг, 176,7 мкмоль) в MeOH (3 мл) добавляли гидроксид натрия (80 мг, 2,00 ммоль, 37,6 мкл) в воде (1 мл) при комнатной температуре и перемешивали в течение 12 ч. После завершения реакции, по оценке ЖХ-МС, реакционную смесь гасили ледяной водой (10 мл) и экстрагировали EtOAc (3×10 мл). Промывали органическую фазу рассолом (20 мл) и сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме. Очищали неочищенный продукт путем препаративной ВЭЖХ с получением (S)-2-((4-(2-((5-хлорпиридин-2-ил)метокси)тиазол-4-ил)-3,6-дигидропиридин-1(2Н)-ил)метил)-1-(оксетан-2-илметил)-1Н-бензо[d]имидазол-6-карбоновой кислоты (39,1 мг, 70,8 мкмоль, выход 40,1%) в виде желтого твердого вещества. ЖХ-МС: [M+H]⁺=552,0; время удерживания (0,01% ТФУК)=1,45 мин.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-D₆) δ 8,64 (д, J=2,1 Гц, 1H), 8,25 (т, J=3,2 Гц, 1H), 7,99 (дд, J=8,4, 2,5 Гц, 1H), 7,81 (дд, J=8,4, 1,5 Гц, 1H), 7,65 (д, J=8,4 Гц, 1H), 7,59 (т, J=8,4 Гц, 1H), 6,86-6,85 (ушир.с, 1H), 6,39 (с, 1H), 5,51 (с, 2H), 5,05 (квд, J=7,4, 2,8 Гц, 1H), 4,79 (дд, J=15,2, 7,4 Гц, 1H), 4,64 (дд, J=15,2, 2,6 Гц, 1H), 4,47 (дд, J=14,2, 7,0 Гц, 1H), 4,36 (дт, J=9,0, 5,9 Гц, 1H), 4,05 (д, J=13,5 Гц, 1H), 3,89 (д, J=13,5 Гц, 1H), 3,21-3,11 (м, 2H), 2,66 (дд, J=16,2, 11,1, 7,2 Гц, 3H), 2,46-2,31 (м, 3H).

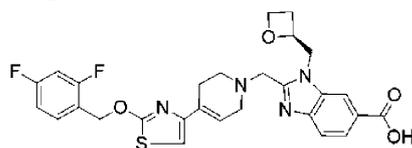
(S)-1-(Оксетан-2-илметил)-2-((4-(2-((4-(трифторметокси)бензил)окси)тиазол-4-ил)-3,6-дигидропиридин-1(2Н)-ил)метил)-1Н-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 251)



Получали аналогично соединению 250. ЖХ-МС: [M+H]⁺=601,0; время удерживания (10 mM NH₄HCO₃)=1,63 мин.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-D₆) δ 8,24 (с, 1H), 7,83-7,79 (м, 1H), 7,66-7,61 (м, 3H), 7,43-7,38 (м, 2H), 6,85 (с, 1H), 6,48-6,44 (м, 1H), 5,48 (с, 2H), 5,10-5,02 (м, 1H), 4,84-4,75 (м, 1H), 4,68-4,61 (м, 1H), 4,51-4,44 (м, 1H), 4,40-4,33 (м, 1H), 4,09-3,87 (дд, J=63,2, 13,4 Гц, 2H), 3,22-3,15 (м, 2H), 2,75-2,64 (м, 3H), 2,42-2,35 (м, 3H).

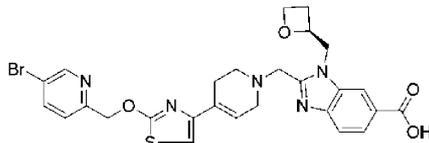
(S)-2-((4-(2-((2,4-Дифторбензил)окси)тиазол-4-ил)-3,6-дигидропиридин-1(2Н)-ил)метил)-1-(оксетан-2-илметил)-1Н-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 252)



Получали аналогично Соединению 250. ЖХ-МС: [M+H]⁺=553,0; время удерживания (10 mM NH₄HCO₃)=1,54 мин.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- D_6) δ 8,24 (с, 1H), 7,80 (дд, $J=1,2$ Гц, $J=8,4$ Гц, 1H), 7,70-7,62 (м, 2H), 7,35-7,29 (м, 1H), 7,16-7,11 (м, 1H), 6,84 (с, 1H), 6,46 (с, 1H), 5,45 (с, 2H), 5,06-5,04 (м, 1H), 4,81-4,76 (м, 1H), 4,66-4,61 (дд, $J=2,4$ Гц, $J=15,2$ Гц, 1H), 4,46 (т, $J=6$ Гц, 1H), 4,39-4,35 (м, 1H), 4,05 (д, $J=13,6$ Гц, 1H), 3,89 (д, $J=13,6$ Гц, 1H), 3,18 (д, $J=9,6$ Гц, 2H), 2,72-2,63 (м, 3H), 2,46-2,32 (м, 3H).

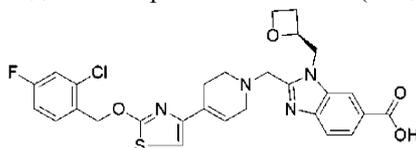
(S)-2-((4-(2-((5-бромпиридин-2-ил)метокси)тиазол-4-ил)-3,6-дигидропиридин-1(2H)-ил)метил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 253)



Получали аналогично Соединению 250.ЖХ-МС: $[\text{M}+\text{H}]^+=596,0$; время удерживания (10 мМ NH_4HCO_3)=1,47 мин.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- D_6) δ 8,72 (д, $J=1,9$ Гц, 1H), 8,25 (д, $J=1,0$ Гц, 1H), 8,11 (дд, $J=8,3$, 2,4 Гц, 1H), 7,81 (дд, $J=8,4$, 1,5 Гц, 1H), 7,64 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 7,51 (д, $J=8,3$ Гц, 1H), 6,86 (с, 1H), 6,39 (с, 1H), 5,48 (с, 2H), 5,13-4,99 (м, 1H), 4,79 (дд, $J=15,2$, 7,3 Гц, 1H), 4,64 (дд, $J=15,2$, 2,6 Гц, 1H), 4,46 (дд, $J=14,2$, 7,1 Гц, 1H), 4,36 (дт, $J=8,9$, 5,9 Гц, 1H), 4,05 (д, $J=13,5$ Гц, 1H), 3,89 (д, $J=13,5$ Гц, 1H), 3,24-3,09 (м, 2H), 2,77-2,59 (м, 3H), 2,40 (дд, $J=18,2$, 9,4 Гц, 3H).

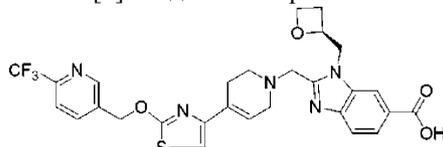
(S)-2-((4-(2-((2-Хлор-4-фторбензил)окси)тиазол-4-ил)-3,6-дигидропиридин-1(2H)-ил)метил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 254)



Получали аналогично Соединению 250.ЖХ-МС: $[\text{M}+\text{H}]^+=569,0$; время удерживания (10 мМ NH_4HCO_3)=1,59 мин.

^1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD) δ 8,31 (с, 1H), 8,00-7,97 (м, 1H), 7,69-7,67 (м, 1H), 7,64-7,62 (м, 1H), 7,31-7,29 (м, 1H), 7,15-7,10 (м, 1H), 6,67 (с, 1H), 6,55-6,52 (м, 1H), 5,54 (с, 2H), 5,28-5,22 (м, 1H), 4,88-4,86 (м, 1H), 4,74-4,70 (м, 1H), 4,66-4,60 (м, 1H), 4,50-4,45 (м, 1H), 4,12 (дд, $J=13,6$ Гц, 2H), 3,28-3,22 (м, 2H), 2,84-2,79 (м, 2H), 2,77-2,73 (м, 1H), 2,56-2,48 (м, 3H).

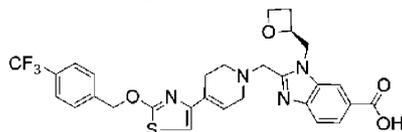
(S)-1-(Оксетан-2-илметил)-2-((4-(2-((6-(трифторметил)пиридин-3-ил)метокси)тиазол-4-ил)-3,6-дигидропиридин-1(2H)-ил)метил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 255)



Получали аналогично соединению 250. ЖХ-МС: $[\text{M}+\text{H}]^+=586,3$, время удерживания (10 мМ NH_4HCO_3)=1,50 мин, чистота: 100% (254 нм).

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- D_6) δ 8,90 (с, 1H), 8,27-8,18 (м, 2H), 7,96 (д, $J=8,1$ Гц, 1H), 7,80 (дд, $J=8,4$, 1,5 Гц, 1H), 7,63 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 6,87 (с, 1H), 6,45 (с, 1H), 5,61 (ушир.с, 2H), 5,09-5,01 (м, 1H), 4,79 (дд, $J=15,1$, 7,2 Гц, 1H), 4,63 (дд, $J=15,2$, 2,6 Гц, 1H), 4,47 (дд, $J=13,6$, 7,7 Гц, 1H), 4,36 (дт, $J=8,9$, 5,9 Гц, 1H), 4,05 (д, $J=13,5$ Гц, 1H), 3,89 (д, $J=13,5$ Гц, 1H), 3,18 (д, $J=9,3$ Гц, 2H), 2,75-2,60 (м, 3H), 2,43-2,32 (м, 3H).

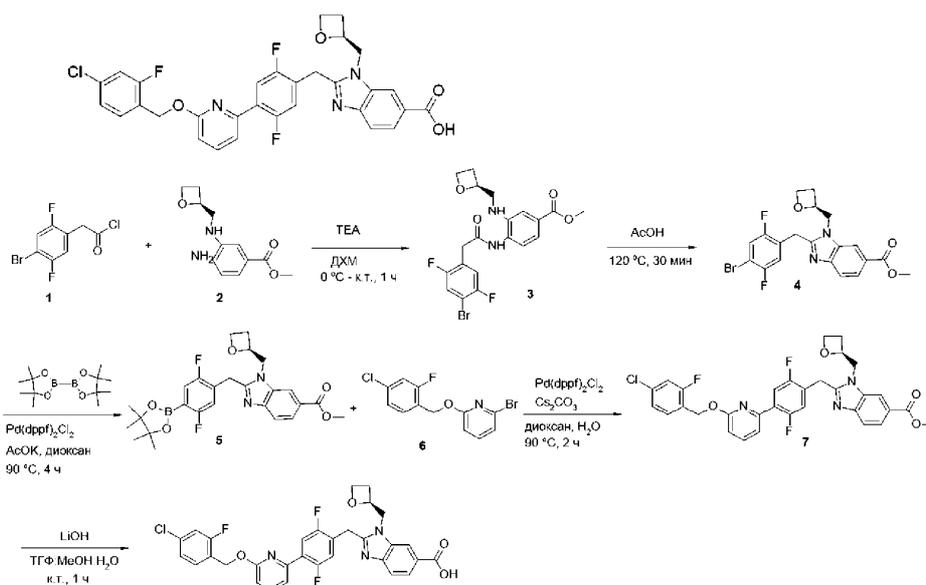
(S)-1-(Оксетан-2-илметил)-2-((4-(2-((4-(трифторметил)бензил)окси)тиазол-4-ил)-3,6-дигидропиридин-1(2H)-ил)метил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 256)



Получали аналогично Соединению 250.ЖХ-МС: $[\text{M}+\text{H}]^+=585,0$, время удерживания (10 мМ NH_4HCO_3)=1,61 мин.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- D_6) δ 8,23 (с, 1H), 7,81-7,76 (м, 3H), 7,70 (д, $J=8$ Гц, 2H), 7,62 (д, $J=8,8$ Гц, 1H), 6,85 (с, 1H), 6,43 (с, 1H), 5,55 (с, 2H), 5,05 (т, $J=4,4$ Гц, 1H), 4,81-4,75 (м, 1H), 4,63 (дд, $J=3,2$ Гц, $J=15,6$ Гц, 1H), 4,45 (т, $J=5,6$ Гц, 1H), 4,38-4,33 (м, 1H), 4,05 (д, $J=13,6$ Гц, 1H), 3,88 (д, $J=13,6$ Гц, 1H), 3,19-3,12 (м, 2H), 2,70-2,63 (м, 3H), 2,43-2,32 (м, 3H).

(S)-2-(4-(6-((4-Хлор-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)-2,5-дифторбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 257)



Стадия 1.

К смеси метил-4-амино-3-[[2(S)-оксетан-2-ил]метиламино]бензоата (100 мг, 423 мкмоль) в ДХМ (20 мл) медленно добавляли 2-(4-бром-2,5-дифторфенил)ацетилхлорид (228 мг, 847 мкмоль) в ДХМ (20 мл) на ледяной бане и перемешивали в течение 1 ч при комнатной температуре до завершения реакции по данным ЖХ-МС, реакцию смесь концентрировали в вакууме, очищали препаративной ТСХ (гексаны/ЕтОАс=1:2) с получением желаемого продукта метил-4-[[2-(4-бром-2,5-дифторфенил)ацетил]амино]-3-[[2(S)-оксетан-2-ил]метиламино]бензоата (71 мг, 151 мкмоль, выход 35,9%) в виде бледно-желтого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+$ =469,0, время удерживания=1,57 мин.

Стадия 2.

Смесь метил-4-[[2-(4-бром-2,5-дифторфенил)ацетил]амино]-3-[[2(S)-оксетан-2-ил]метиламино]бензоата (71 мг, 151 мкмоль) в АсОН (5 мл) перемешивали в течение 30 мин при 120 °С, пока реакция не завершится, как показывает ЖХ-МС, реакцию смесь концентрировали в вакууме, очищали хроматографией на силикагеле (гексаны/ЕтОАс=20:1) с получением желаемого продукта метил-(S)-2-(4-бром-2,5-дифторбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоксилата (40 мг, 89 мкмоль, выход 58,6%) в виде бледно-желтого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+$ =451,1; время удерживания (0,01% ТФУК) =1,49 мин.

Стадия 3.

Смесь (S)-2-(4-бром-2,5-дифторбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоксилата (40 мг, 89 мкмоль), 4,4,5,5-тетраметил-2-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1,3,2-диоксаборолана (29 мг, 115 мкмоль), Pd(dppf)Cl₂ (8 мг, 11 мкмоль) и КОАс (13 мг, 133 мкмоль) в диоксане (10 мл) перемешивали в течение 2 ч при 90 °С в атмосфере аргона до завершения реакции по данным ЖХ-МС, реакцию смесь фильтровали через слой целита с ЕтОАс и объединенные органические вещества концентрировали в вакууме с получением желаемого продукта метил-(S)-2-(2,5-дифтор-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоксилата (42 мг, выход 33,0%) в виде бледно-желтого твердого вещества. Неочищенный продукт использовали непосредственно на следующей стадии без дополнительной очистки.

ЖХ-МС: $[M+H]^+$ =452,9, время удерживания=1,83 мин.

Стадия 4.

Смесь метил-(S)-2-(2,5-дифтор-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоксилата (42 мг, 84 мкмоль), 2-бром-6-[(4-хлор-2-фторфенил)метокси]пиридина (32 мг, 101 мкмоль), Pd(dppf)Cl₂ (6 мг, 8 мкмоль) и К₂СО₃ (15 мг, 110 мкмоль) в диоксане (5 мл) и Н₂О (1 мл) перемешивали в течение 1 ч при 90 °С в атмосфере аргона до завершения реакции по данным ЖХ-МС, реакцию смесь фильтровали через слой целита с ЕтОАс и объединенные органические вещества концентрировали в вакууме, очищали хроматографией на силикагеле (гексаны/ЕтОАс=20:1) с получением желаемого продукта метил-(S)-2-(4-(6-((4-хлор-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)-2,5-дифторбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоксилата (12 мг, 20 мкмоль, выход 24,0%) в виде бледно-желтого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+$ =608,0, время удерживания=2,28 мин.

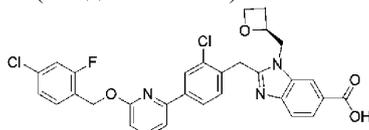
Стадия 5.

К смеси метил-(S)-2-(4-(6-((4-хлор-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)-2,5-дифторбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоксилата (13 мг, 21 мкмоль) в ТГФ:МеОН:Н₂О (3 мл:3 мл:1 мл) добавляли LiOH (5 мг, 107 мкмоль) и перемешивали в течение 1 ч при комнатной температуре,

до завершения реакции по данным ЖХ-МС, реакционную смесь концентрировали в вакууме, доводили рН до 7 с помощью водной уксусной кислоты (50%), очищали препаративной ВЭЖХ с получением желаемого продукта (S)-2-(4-(6-((4-хлор-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)-2,5-дифторбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновой кислоты (10,1 мг, 17 мкмоль, выход 79,5%) в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+$ =594,1, время удерживания=1,44 мин.

1H ЯМР (400 МГц, ДМСО-D6) δ 8,24 (ушир.с, 1H), 7,89 (т, J=7,6, 8 Гц, 1H), 7,83 (т, J=6,4, 4,4 Гц, 1H), 7,79 (т, J=7,2, 1,2 Гц, 1H), 7,62-7,58 (м, 2H), 7,52-7,48 (м, 2H), 7,41 (дд, J=6,4, 5,2 Гц, 1H), 7,34 (дд, J=6,4, 1,6 Гц, 1H), 6,95 (д, J=8,4 Гц, 1H), 5,50 (с, 2H), 5,08-5,04 (м, 1H), 4,78 (дд, J=7,2, 8 Гц, 1H), 4,64 (дд, J=2, 13,2 Гц, 1H), 4,54-4,49 (м, 2H), 4,47-4,42 (м, 1H), 4,38-4,33 (м, 1H), 2,74-2,67 (м, 1H), 2,45-2,33 (м, 1H).

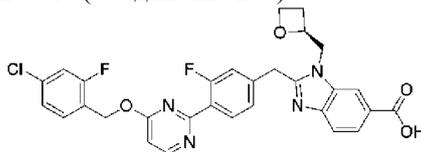
(S)-2-(2-Хлор-4-(6-((4-хлор-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)бензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 258)



Получали аналогично соединению 257. ЖХ-МС: $[M+H]^+$ =593,1, время удерживания=1,55 мин.

1H ЯМР (400 МГц, ДМСО-D6) δ 8,25 (с, 1H), 8,15-8,14 (м, 1H), 8,03-8,00 (дд, J=8,1, 1,8 Гц, 1H), 7,88-7,82 (м, 1H), 7,80-7,77 (м, 1H), 7,68-7,55 (м, 3H), 7,52-7,48 (дд, J=10,0, 2,0 Гц, 1H), 7,46-7,43 (м, 1H), 7,34-7,31 (дд, J=8,2, 1,9 Гц, 1H), 6,91-6,88 (м, 1H), 5,52 (с, 2H), 5,10-5,04 (м, 1H), 4,75-4,69 (м, 1H), 4,63-4,56 (м, 2H), 4,52-4,47 (м, 2H), 4,40-4,35 (м, 1H), 2,74-2,67 (м, 1H), 2,43-2,39 (м, 1H).

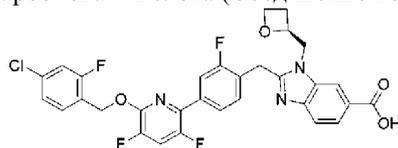
(S)-2-(4-(4-((4-Хлор-2-фторбензил)окси)пиримидин-2-ил)-3-фторбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 259)



Получали аналогично соединению 257. ЖХ-МС: $[M+H]^+$ =577,0, время удерживания=1,54 мин.

1H ЯМР (400 МГц, MeOD) δ 8,61 (дд, J=23,8, 5,1 Гц, 1H), 8,30 (с, 1H), 8,17-7,99 (м, 2H), 7,70 (дд, J=8,5, 4,7 Гц, 1H), 7,62-7,57 (м, 1H), 7,34-7,20 (м, 4H), 6,88 (д, J=5,9 Гц, 1H), 5,59 (с, 2H), 5,16-5,11 (м, 1H), 4,71-4,62 (м, 2H), 4,60 (д, J=5,2 Гц, 2H), 4,52 (д, J=15,6 Гц, 1H), 4,47-4,41 (м, 1H), 2,76 (д, J=8,3 Гц, 1H), 2,49-2,44 (м, 1H).

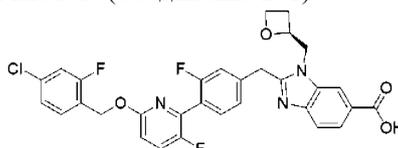
(S)-2-(4-(6-(4-Хлор-2-фторбензилокси)-3,5-дифторпиридин-2-ил)-2-фторбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 260)



Получали аналогично соединению 257. ЖХ-МС: $[M+H]^+$ =612,0, время удерживания=1,65 мин.

1H ЯМР (400 МГц, ДМСО-D6) δ 8,22 (д, J=0,9 Гц, 1H), 8,14 (т, J=9,9 Гц, 1H), 7,78 (дд, J=8,4, 1,5 Гц, 1H), 7,72 (т, J=8,7 Гц, 2H), 7,62 (т, J=8,2 Гц, 1H), 7,58-7,44 (м, 3H), 7,35 (дд, J=8,2, 1,8 Гц, 1H), 5,57 (с, 2H), 5,10-4,98 (м, 1H), 4,72 (дд, J=15,6, 7,1 Гц, 1H), 4,63-4,29 (м, 5H), 2,75-2,64 (м, 1H), 2,38 (дт, J=1,1, 7,1 Гц, 1H).

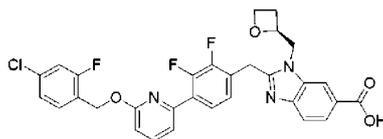
(S)-2-(4-(6-(4-Хлор-2-фторбензилокси)-3-фторпиридин-2-ил)-3-фторбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 261)



Получали аналогично соединению 257. ЖХ-МС: $[M+H]^+$ =594,1; время удерживания (10 мМ NH_4HCO_3)=1,53 мин.

1H ЯМР (400 МГц, ДМСО-D6) δ 8,20 (с, 1H), 7,80-7,86 (м, 2H), 7,55-7,61 (м, 3H), 7,48 (дд, J=2,0 Гц, 10,0 Гц, 1H), 7,32-7,36 (м, 3H), 7,02 (дд, J=3,2 Гц, 9,2 Гц, 1H), 5,38 (с, 2H), 4,97-5,03 (м, 1H), 4,68-4,72 (м, 1H), 4,44-4,58 (м, 4H), 4,34-4,39 (м, 1H), 2,66-2,70 (м, 1H), 2,33-2,42 (м, 1H).

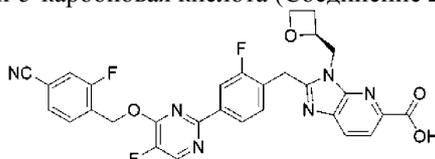
(S)-2-(4-(6-(4-Хлор-2-фторбензилокси)пиридин-2-ил)-2,3-дифторбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 262)



Получали аналогично соединению 257. ЖХ-МС: $[M+H]^+=594,0$; время удерживания (0,01% ТФУК)=1,67 мин.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- D_6) δ 8,20 (с, 1H), 7,92-7,86 (м, 1H), 7,82-7,73 (м, 2H), 7,61 (т, $J=8,2$ Гц, 1H), 7,56-7,47 (м, 3H), 7,36-7,26 (м, 2H), 6,95 (д, $J=8,2$ Гц, 1H), 5,48 (с, 2H), 5,12-5,04 (м, 1H), 4,77-4,68 (м, 1H), 4,64-4,55 (м, 2H), 4,54-4,46 (м, 2H), 4,40-4,32 (м, 1H), 2,77-2,66 (м, 1H), 2,45-2,32 (м, 1H).

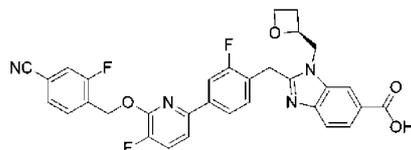
(S)-2-(4-(4-(4-Циано-2-фторбензилокси)-5-фторпиримидин-2-ил)-2-фторбензил)-3-(оксетан-2-илметил)-3H-имидазо[4,5-b]пиримидин-5-карбоновая кислота (Соединение 263)



Получали аналогично соединению 257. ЖХ-МС: $[M+H]^+=587,0$, время удерживания=1,50 мин.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- D_6) δ 8,79 (д, $J=2,8$ Гц, 1H), 8,12 (дд, $J=8,0$ Гц, 1,6 Гц, 1H), 8,08-8,02 (м, 2H), 7,99-7,93 (м, 2H), 7,84 (т, $J=7,5$ Гц, 1H), 7,82 (дд, $J=8,0$ Гц, 1,6 Гц, 1H), 7,51 (т, $J=7,8$ Гц, 1H), 5,81 (с, 2H), 5,18-5,10 (м, 1H), 4,72 (дд, $J=15,1$, 6,4 Гц, 1H), 4,68-4,54 (м, 3H), 4,53-4,49 (м, 1H), 4,38-4,32 (м, 1H), 2,69-2,65 (м, 1H), 2,39-2,31 (м, 1H).

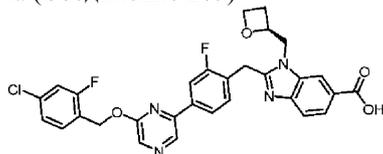
(S)-2-(4-(6-((4-Циано-2-фторбензил)окси)-5-фторпиримидин-2-ил)-2-фторбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 264)



Получали аналогично соединению 257. ЖХ-МС: $[M+H]^+=585,1$, время удерживания=1,43 мин.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- D_6) δ 8,24 (с, 1H), 7,94 (д, $J=8,7$ Гц, 1H), 7,87-7,79 (м, 4H), 7,76 (дд, $J=13,3$, 8,0 Гц, 3H), 7,69 (д, $J=8,3$, 2,7 Гц, 1H), 7,58 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 5,71 (с, 2H), 5,05-4,98 (м, 1H), 4,72 (дд, $J=15,6$, 7,2 Гц, 1H), 4,62-4,47 (м, 3H), 4,44-4,31 (м, 2H), 2,74-2,66 (м, 1H), 2,42-2,36 (м, 1H).

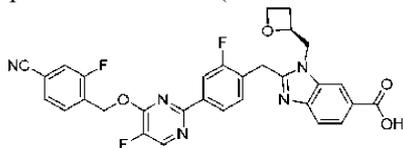
(S)-2-(4-(6-((4-Хлор-2-фторбензил)окси)пиримидин-2-ил)-2-фторбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 265)



Получали аналогично соединению 257. ЖХ-МС: $[M+H]^+=577,7$; время удерживания (10 мМ NH_4HCO_3)=1,55 мин.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- D_6) δ 8,92(с, 1H), 8,36 (с, 1H), 8,25 (с, 1H), 7,98 (дд, $J=16,0$, 8,0 Гц, 2H), 7,78 (дд, $J=8,0$, 4,0 Гц, 1H), 7,66 (т, $J=8,2$ Гц, 1H), 7,58 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 7,55-7,46 (м, 2H), 7,35 (дд, $J=8,2$, 1,8 Гц, 1H), 5,57 (с, 2H), 5,11-4,99 (м, 1H), 4,72 (д, $J=7,0$ Гц, 1H), 4,65-4,54 (м, 1H), 4,54-4,41 (м, 3H), 4,36 (дд, $J=5,9$, 3,1 Гц, 1H), 2,77-2,63 (м, 1H), 2,44-2,31 (м, 1H).

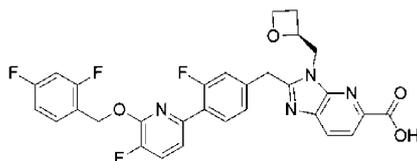
(S)-2-(4-(4-((4-Циано-2-фторбензил)окси)-5-фторпиримидин-2-ил)-2-фторбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 266)



Получали аналогично соединению 257. ЖХ-МС: $[M+H]^+=586,3$, время удерживания=1,51 мин.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- D_6) δ 8,78 (д, $J=3,2$ Гц, 1H), 8,24 (с, 1H), 8,11 (дд, $J=1,6$, 8,4 Гц, 1H), 8,04 (дд, $J=1,6$, 11,6 Гц, 1H), 7,97 (дд, $J=1,2$, 10 Гц, 1H), 8,45 (т, $J=7,6$ Гц, 1H), 7,79-7,76 (м, 2H), 7,57 (т, $J=8,8$ Гц, 1H), 7,48 (т, $J=7,6$ Гц, 1H), 5,80 (с, 2H), 5,05-5,03 (м, 1H), 4,75-4,69 (м, 1H), 4,59 (дд, $J=2$, 15,2 Гц, 1H), 4,52-4,43 (м, 3H), 4,37-4,32 (м, 1H), 2,71-2,67 (м, 1H), 2,39-2,32 (м, 1H).

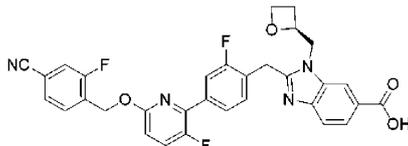
(S)-2-(4-(6-(2,4-Дифторбензилокси)-5-фторпиримидин-2-ил)-3-фторбензил)-3-(оксетан-2-илметил)-3H-имидазо[4,5-b]пиримидин-5-карбоновая кислота (Соединение 267)



Получали аналогично соединению 257. ЖХ-МС: $[M+H]^+=579,1$; время удерживания (10 мМ NH_4HCO_3)=1,45 мин.

1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- D_6) δ 8,05 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 7,97-7,93 (м, 2H), 7,81 (дд, $J=8,4$ Гц, 10,4 Гц, 1H), 7,70-7,64 (м, 1H), 7,48-7,46 (м, 1H), 7,36-7,31 (м, 3H), 7,17-7,12 (м, 1H), 5,55 (с, 2H), 5,15-5,09 (м, 1H), 4,73-4,67 (м, 1H), 4,60-4,47 (м, 4H), 4,40-4,35 (м, 1H), 2,72-2,68 (м, 1H), 2,47-2,42 (м, 1H).

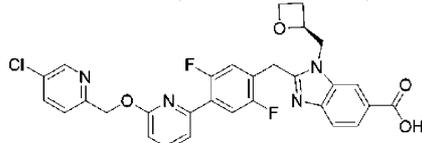
(S)-2-(4-(6-((4-Циано-2-фторбензил)окси)-3-фторпиридин-2-ил)-2-фторбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 268)



Получали аналогично соединению 257. ЖХ-МС: $[M+H]^+=585,0$, время удерживания=1,55 мин.

1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- D_6) δ 8,20 (с, 1H), 7,93 (д, $J=10,2$ Гц, 1H), 7,86 (дд, $J=10,4$, 9,0 Гц, 1H), 7,74 (дт, $J=15,8$, 10,3 Гц, 5H), 7,54 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 7,47 (т, $J=7,9$ Гц, 1H), 7,02 (дд, $J=8,9$, 2,6 Гц, 1H), 5,57 (с, 2H), 5,05 (д, $J=4,6$ Гц, 1H), 4,71 (дд, $J=15,5$, 7,0 Гц, 1H), 4,61-4,55 (м, 1H), 4,54-4,30 (м, 4H), 2,75-2,65 (м, 1H), 2,42-2,34 (м, 1H).

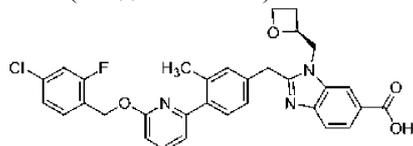
(S)-2-(4-(6-((5-Хлорпиридин-2-ил)метокси)пиридин-2-ил)-2,5-дифторбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 269)



Получали аналогично соединению 257. ЖХ-МС: $[M+H]^+=576,9$, время удерживания=1,52 мин.

1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- D_6) δ 8,63-8,62 (м, 1H), 8,24 (с, 1H), 7,97-7,87 (м, 2H), 7,79-7,77 (м, 1H), 7,66-7,62 (м, 1H), 7,59-7,51 (м, 3H), 7,38-7,34 (м, 1H), 7,02 (д, $J=8,2$ Гц, 1H), 5,54 (с, 2H), 5,09-5,06 (м, 1H), 4,77-4,71 (м, 1H), 4,63-4,58 (м, 1H), 4,53-4,44 (м, 3H), 4,40-4,33 (м, 1H), 2,73-2,67 (м, 1H), 2,42-2,34 (м, 1H).

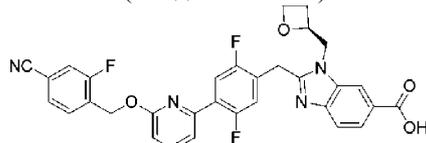
(S)-2-(4-(6-((5-Хлор-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)-3-метилбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 270)



Получали аналогично соединению 257. ЖХ-МС: $[M+H]^+=572,0$, время удерживания=1,65 мин.

1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- D_6) δ 8,22 (ушир.с, 1H), 7,83-7,82 (м, 2H), 7,62 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 7,55 (т, $J=8,4$ Гц, 1H), 7,47 (дд, $J=2$ Гц, $J=8$ Гц, 1H), 7,36 (д, $J=8$ Гц, 1H), 7,31 (дд, $J=8$ Гц, $J=6,4$ Гц, 1H), 7,24-7,20 (м, 2H), 7,14 (д, $J=8$ Гц, 1H), 6,85 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 5,39 (с, 2H), 4,966-4,93 (м, 1H), 4,69-4,63 (м, 1H), 4,55-4,44 (м, 2H), 4,40-4,33 (м, 3H), 2,67-2,63 (м, 1H), 2,39-2,29 (м, 4H).

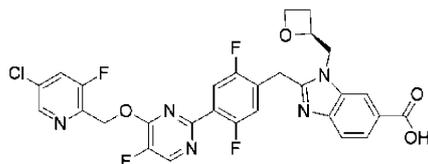
(S)-2-(4-(6-((4-Циано-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)-2,5-дифторбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 271)



Получали аналогично соединению 257. ЖХ-МС: $[M+H]^+=585,1$, время удерживания=1,36 мин.

1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- D_6 - d_6) δ 8,24 (ушир.с, 1H), 7,93-7,87 (м, 2H), 7,79-7,71 (м, 4H), 7,59 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 7,53 (дд, $J=1,2$, 6,4 Гц, 1H), 7,40 (дд, $J=6,4$, 5,2 Гц, 1H), 7,00 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 5,59 (с, 2H), 5,08 (квд, $J=2,8$, 7,8 Гц, 1H), 4,77 (дд, $J=7,2$, 8,4 Гц, 1H), 4,63 (дд, $J=2,4$, 13,2 Гц, 1H), 4,54-4,49 (м, 2H), 4,46 (д, $J=6$ Гц, 1H), 4,36-4,33 (м, 1H), 2,70-2,67 (м, 1H), 2,37-2,32 (м, 1H).

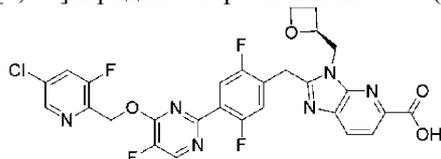
(S)-2-(4-(4-((5-Хлор-3-фторпиридин-2-ил)метокси)-5-фторпиримидин-2-ил)-2,5-дифторбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 272)



Получали аналогично соединению 257. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 614,0$, время удерживания=1,48 мин.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- D_6) δ 8,83 (д, $J=2,9$ Гц, 1H), 8,54 (д, $J=1,4$ Гц, 1H), 8,27-8,15 (м, 2H), 7,78 (тд, $J=8,8, 3,9$ Гц, 2H), 7,59 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 7,37 (дд, $J=1,1, 6,0$ Гц, 1H), 5,78 (д, $J=1,6$ Гц, 2H), 5,13-5,02 (м, 1H), 4,74 (дд, $J=15,5, 7,0$ Гц, 1H), 4,64-4,58 (м, 1H), 4,56-4,41 (м, 3H), 4,35 (дт, $J=9,0, 5,9$ Гц, 1H), 2,75-2,65 (м, 1H), 2,38 (дт, $J=1,3, 7,1$ Гц, 1H).

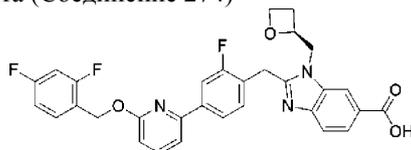
(S)-2-(4-(4-((5-Хлор-3-фторпиридин-2-ил)метокси)-5-фторпиримидин-2-ил)-2,5-дифторбензил)-3-(оксетан-2-илметил)-3Н-имидазо[4,5-б]пиридин-5-карбоновая кислота (Соединение 273)



Получали аналогично соединению 257. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 615,0$, время удерживания=1,37 мин.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- D_6) δ 8,83 (д, $J=2,9$ Гц, 1H), 8,54 (д, $J=1,3$ Гц, 1H), 8,20 (дд, $J=9,7, 2,0$ Гц, 1H), 8,04 (д, $J=8,2$ Гц, 1H), 7,94 (д, $J=8,2$ Гц, 1H), 7,78 (дд, $J=10,2, 6,3$ Гц, 1H), 7,40 (дд, $J=11,0, 6,0$ Гц, 1H), 5,77 (д, $J=1,6$ Гц, 2H), 5,18-5,12 (м, 1H), 4,74 (дд, $J=15,2, 6,2$ Гц, 1H), 4,63 (дд, $J=10,3, 6,8$ Гц, 2H), 4,56-4,48 (м, 2H), 4,37-4,31 (м, 1H), 2,74-2,68 (м, 1H), 2,45-2,40 (м, 1H).

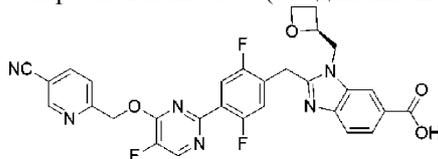
(S)-2-(4-(6-((2,4-Дифторбензил)окси)пиридин-2-ил)-2-фторбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1Н-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 274)



Получали аналогично соединению 257. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 560,0$, время удерживания=1,59 мин.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- D_6-d_6) δ 8,23 (ушир.с, 1H), 7,94 (т, $J=10, 6,4$ Гц, 2H), 7,85 (т, $J=8,8$ Гц, 1H), 7,79 (дд, $J=1,2, 7,2$ Гц, 1H), 7,68 (кв, $J=8,8, 8$ Гц, 2H), 7,58 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 7,45 (т, $J=7,6, 8,4$ Гц, 1H), 7,33 (дт, $J=2,4, 8$ Гц, 1H), 7,14 (дт, $J=2,4, 6,4$ Гц, 1H), 6,87 (д, $J=8$ Гц, 1H), 5,50 (с, 2H), 5,06-5,02 (м, 1H), 4,75 (дд, $J=7,2, 8,4$ Гц, 1H), 4,60 (дд, $J=2,4, 13,6$ Гц, 1H), 4,54-4,48 (м, 2H), 4,46-4,40 (м, 1H), 4,38-4,32 (м, 1H), 2,74-2,67 (м, 1H), 2,42-2,33 (м, 1H).

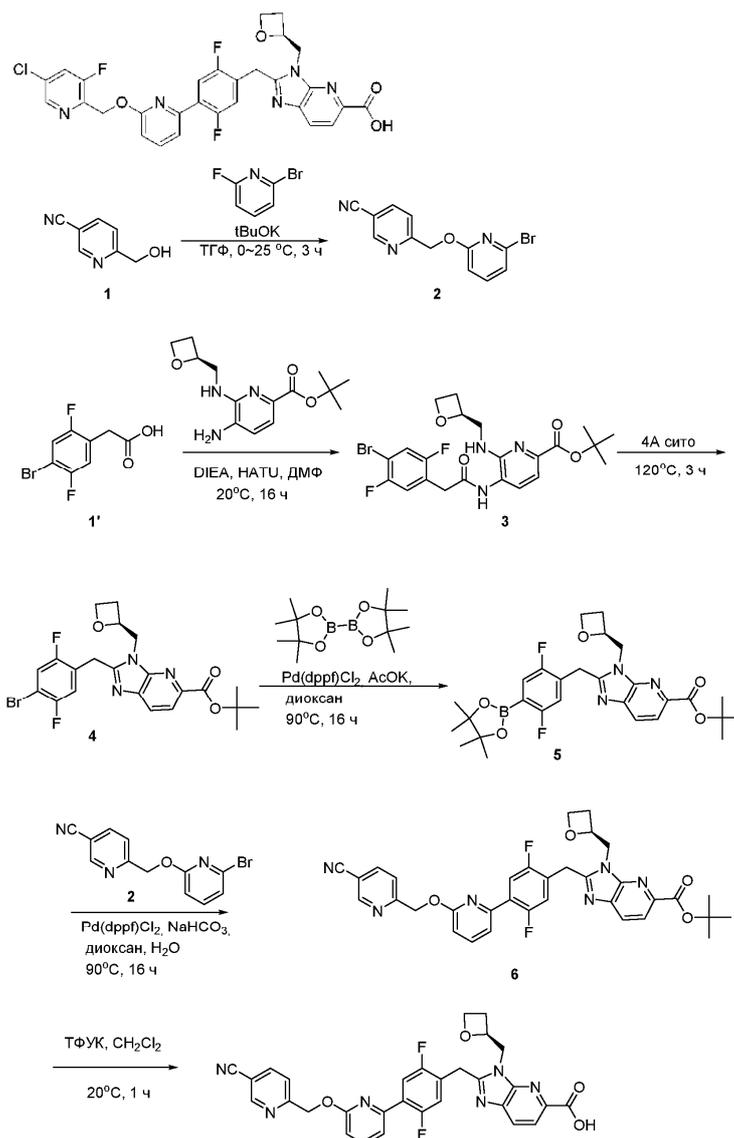
(S)-2-(4-(4-((5-Цианопиридин-2-ил)метокси)-5-фторпиримидин-2-ил)-2,5-дифторбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1Н-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 275)



Получали аналогично соединению 257. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 587,2$, время удерживания=1,41 мин.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- D_6) δ 9,03 (д, $J=1,4$ Гц, 1H), 8,85 (д, $J=2,8$ Гц, 1H), 8,36 (дд, $J=8,2, 2,1$ Гц, 1H), 8,24 (с, 1H), 7,83-7,65 (м, 3H), 7,58 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 7,36 (дд, $J=1,1, 6,1$ Гц, 1H), 5,79 (с, 2H), 5,06 (д, $J=7,0$ Гц, 1H), 4,81-4,68 (м, 1H), 4,51 (ддд, $J=34,3, 30,6, 14,9$ Гц, 4H), 4,34 (дд, $J=6,0, 3,0$ Гц, 1H), 2,69 (д, $J=8,3$ Гц, 1H), 2,38 (с, 1H).

(S)-2-(4-(6-((5-Хлор-3-фторпиридин-2-ил)метокси)пиридин-2-ил)-2,5-дифторбензил)-3-(оксетан-2-илметил)-3Н-имидазо[4,5-б]пиридин-5-карбоновая кислота (Соединение 276)



Стадия 1.

К суспензии (5-хлор-3-фтор-2-пиридил)метанола (100 мг, 619 мкмоль) и 2-бром-6-фторпиридина (114,4 мг, 650 мкмоль) в ТГФ (5 мл) добавляли медленно $t\text{-BuOK}$ (76,4 мг, 681 мкмоль) при 0 °C и перемешивали в течение 2 ч в атмосфере N_2 . После завершения реакции, о чем судили по данным ЖХ-МС, реакционную смесь гасили ледяной водой (20 мл) и экстрагировали смесь EtOAc (3×40 мл). Промывали органическую фазу солевым раствором (50 мл) и сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный продукт очищали флэш-хроматографией (SiO_2 , гексан/этилацетат 10:1) с получением 2-[(6-бром-2-пиридил)оксиметил]-5-хлор-3-фторпиридина (115 мг, 362 мкмоль) в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: $[\text{M}+\text{H}]^+=317,0$; время удерживания (0,01% ТФУК) = 2,12 мин.

Стадия 2.

Смесь метил-2-(4-бром-2,5-дифторфенил)ацетата (400 мг, 1,51 ммоль), 4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1,3,2-диоксаборолана (459,9 мг, 1,81 ммоль), KOAc (296,22 мг, 3,02 ммоль) и Pd(dppf)Cl_2 (110,4 мг, 151 мкмоль) в диоксане (8 мл) перемешивали в течение 2 ч при 95 °C в атмосфере N_2 до завершения реакции по данным ЖХ-МС, реакционную смесь использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

ЖХ-МС: $[\text{M}+\text{H}]^+=231,1$; время удерживания (0,01% ТФУК) = 1,53 мин.

Стадия 3.

Смесь 2-[(6-бром-2-пиридил)оксиметил]-5-хлор-3-фторпиридина (110 мг, 346 мкмоль), метил-2-[2,5-дифтор-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)фенил]ацетата (129,7 мг, 416 мкмоль), Pd(dppf)Cl_2 (50,7 мг, 69 мкмоль) и CS_2CO_3 (225,74 мг, 693 мкмоль) в диоксане (8 мл) и воде (1,5 мл) перемешивали в течение 2 ч при 100 °C в атмосфере N_2 до завершения реакции по данным ЖХ-МС, реакционную смесь фильтровали через слой целита с EtOAc и объединенные органические слои концентрировали в вакууме, очищали хроматографией на силикагеле (гексаны/ EtOAc =10:1) с получением желаемого продукта метил-2-[4-[6-[(5-хлор-3-фтор-2-пиридил)метокси]-2-пиридил]-2,5-дифторфенил]ацетата (110

мг, 260 мкмоль) в виде белого твердого вещества.

ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 423,0$; время удерживания (0,01% ТФУК)=2,22 мин.

Стадия 4.

Смесь метил-2-[4-[6-[(5-хлор-3-фтор-2-пиридил)метокси]-2-пиридил]-2,5-дифторфенил]ацетата (100 мг, 237 мкмоль), LiOH (16,99 мг, 710 мкмоль) и воды (0,5 мл) в метаноле (3 мл) перемешивали в течение 12 ч при 20°C в атмосфере N₂ до завершения реакции по данным ЖХ-МС, добавляли HOAc для гашения реакции и объединенные органические слои концентрировали в вакууме, очищали с помощью ВЭЖХ с получением желаемого продукта 2-[4-[6-[(5-хлор-3-фтор-2-пиридил)метокси]-2-пиридил]-2,5-дифторфенил]уксусной кислоты (90 мг, 220 мкмоль, выход 93,1%) в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 409,1$; время удерживания (0,01% ТФУК)=1,99 мин.

Стадия 5.

Смесь 2-[4-[6-[(5-хлор-3-фтор-2-пиридил)метокси]-2-пиридил]-2,5-дифторфенил]уксусной кислоты (90 мг, 220 мкмоль), метил-5-амино-6-[[[(2S)-оксетан-2-ил]метиламино]пиридин-2-карбоксилата (94,03 мг, 396 мкмоль), NATU (125,6 мг, 330 мкмоль) и DIEA (85,4 мг, 661 мкмоль) в ДХМ (8 мл) перемешивали в течение 2 ч при 20°C в атмосфере N₂ до завершения реакции по данным ЖХ-МС, добавляли воду для гашения реакции и объединенные органические слои концентрировали в вакууме, очищали хроматографией на силикагеле (гексаны/EtOAc=1:1) с получением желаемого продукта метил-5-[[2-[4-[6-[(5-хлор-3-фтор-2-пиридил)метокси]-2-пиридил]-2,5-дифторфенил]ацетил]амино]-6-[[[(2S)-оксетан-2-ил]метиламино]пиридин-2-карбоксилата (120 мг, 191 мкмоль, выход 86,8%) в виде бледно-желтого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 628,1$; время удерживания (0,01% ТФУК)=1,77 мин.

Стадия 6.

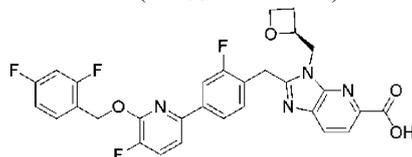
Смесь метил-5-[[2-[4-[6-[(5-хлор-3-фтор-2-пиридил)метокси]-2-пиридил]-2,5-дифторфенил]ацетил]амино]-6-[[[(2S)-оксетан-2-ил]метиламино]пиридин-2-карбоксилата (90 мг, 143 мкмоль) и HOAc (20 капель) в толуоле (10 мл) перемешивали в течение 2 ч при 60°C под N₂. Добавляли воду для гашения реакции. Реакционную смесь экстрагировали EtOAc (3×20 мл). Промывали органическую фазу рассолом (50 мл) и сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный продукт очищали флэш-хроматографией (SiO₂, дихлорметан/метанол 15:1) с получением метил-2-[[4-[6-[(5-хлор-3-фтор-2-пиридил)метокси]-2-пиридил]-2,5-дифторфенил]метил]-3-[[[(2S)-оксетан-2-ил]метил]имидазо[4,5-b]пиридин-5-карбоксилата (74 мг, 121 мкмоль, выход 84,7%) в виде желтой маслянистой жидкости. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 610,2$; время удерживания (0,01% ТФУК)=2,07 мин.

Стадия 7.

Смесь метил-2-[[4-[6-[(5-хлор-3-фтор-2-пиридил)метокси]-2-пиридил]-2,5-дифторфенил]метил]-3-[[[(2S)-оксетан-2-ил]метил]имидазо[4,5-b]пиридин-5-карбоксилата (40 мг, 66 мкмоль), LiOH (4,7 мг, 197 мкмоль) и воды (0,5 мл) в метаноле (3 мл) перемешивали в течение 3 ч при 20°C в атмосфере N₂ до завершения реакции по данным ЖХ-МС, добавляли HOAc, чтобы погасить реакцию, и объединенные органические слои концентрировали в вакууме, очищали с помощью ВЭЖХ с получением желаемого продукта 2-[[4-[6-[(5-хлор-3-фтор-2-пиридил)метокси]-2-пиридил]-2,5-дифторфенил]метил]-3-[[[(2S)-оксетан-2-ил]метил]имидазо[4,5-b]пиридин-5-карбоновой кислоты (22 мг, 37 мкмоль, выход 56,3%) в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 596,0$; время удерживания (0,01% ТФУК)=1,90 мин.

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-D₆) δ 8,53 (д, J=1,2 Гц, 1H), 8,18-8,15 (м, 1H), 8,08 (д, J=8,4 Гц, 1H), 7,97 (дд, J=8,0 Гц, 1H), 7,90-7,86 (м, 1H), 7,72 (дд, J=6,4 Гц, 10,4 Гц, 1H), 7,52 (д, J=6,0 Гц, 1H), 7,41 (дд, J=6,0 Гц, 11,6 Гц, 1H), 6,96 (д, J=8,4 Гц, 1H), 5,59 (д, J=1,6 Гц, 2H), 5,17-5,15 (м, 1H), 4,79-4,73 (м, 1H), 4,65-4,61 (м, 2H), 4,55-4,49 (м, 2H), 4,39-4,33 (м, 1H), 2,76-2,71 (м, 1H), 2,47-2,42 (м, 1H).

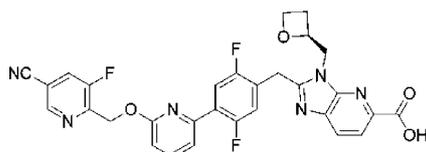
(S)-2-(4-(6-(2,4-дифторбензилокси)-5-фторпиридин-2-ил)-2-фторбензил)-3-(оксетан-2-илметил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-5-карбоновая кислота (Соединение 277)



Получали аналогично соединению 276. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 579,1$; время удерживания (10 mM NH₄HCO₃)=1,46 мин.

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-D₆) δ 8,02-7,80 (м, 5H), 7,71-7,65 (м, 2H), 7,48-7,44 (м, 1H), 7,36-7,31 (м, 1H), 7,17-7,12 (м, 1H), 5,60 (с, 2H), 5,17-5,11 (м, 1H), 4,75-4,69 (м, 1H), 4,64-4,59 (м, 2H), 4,53-4,49 (м, 2H), 4,38-4,33 (м, 1H), 2,75-2,67 (м, 1H), 2,48-2,41 (м, 1H).

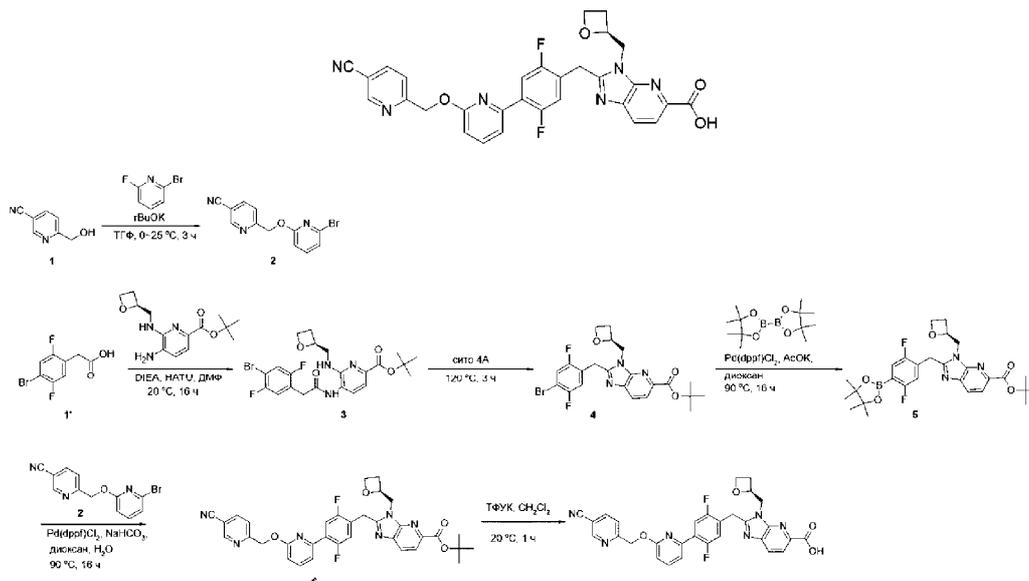
(S)-2-(4-(6-((S)-циано-3-фторпиридин-2-ил)метокси)пиридин-2-ил)-2,5-дифторбензил)-3-(оксетан-2-илметил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-5-карбоновая кислота (Соединение 278)



Получали аналогично соединению 276. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 587,1$; время удерживания (10 мМ NH_4HCO_3)=1,35 мин.

1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-D_6$) δ 8,89 (с, 1H), 8,48 (дд, $J=1,6$ Гц, 9,6 Гц, 1H), 8,07 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 7,96 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 7,90-7,87 (м, 1H), 7,61-7,57 (м, 1H), 7,51 (д, $J=6,0$ Гц, 1H), 7,39 (дд, $J=6,4$ Гц, 11,2 Гц, 1H), 6,99 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 5,69 (д, $J=1,2$ Гц, 2H), 5,19-5,13 (м, 1H), 4,78-4,73 (м, 1H), 4,65-4,60 (м, 2H), 4,54-4,48 (м, 2H), 4,38-4,33 (м, 1H), 2,75-2,69 (м, 1H), 2,47-2,40 (м, 1H).

(S)-2-(4-(6-((5-Цианопиридин-2-ил)метокси)пиридин-2-ил)-2,5-дифторбензил)-3-(оксетан-2-илметил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-5-карбоновая кислота (Соединение 279)



Стадия 1.

Перемешивали смесь 6-(гидроксиетил)пиридин-3-карбонитрила (33 мг, 246 мкмоль), 2-бром-6-фторпиридина (43,3 мг, 246 мкмоль) и гидроксида натрия (5,7 мг, 246 мкмоль) в ТГФ (3 мл) в течение 2 ч при 20°C в атмосфере N_2 до тех пор, пока анализ ЖХ-МС не указывал на завершение реакции, фильтровали реакционную смесь через слой целита с использованием EtOAc и концентрировали объединенные органические слои в вакууме, очищали путем хроматографии на силикагеле (гексаны:EtOAc=20:1) с получением целевого продукта 6-[(6-бром-2-пиридил)оксиметил]пиридин-3-карбонитрила (30 мг, 103 мкмоль, выход 42,0%) в виде бледно-желтого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 290$; время удерживания (0,01% ТФУК)=1,86 мин.

Стадия 2.

Смесь трет-бутил-5-амино-6-[[2(S)-оксетан-2-ил]метиламино]пиридин-2-карбоксилата (1,39 г, 4,98 ммоль), 2-(4-бром-2,5-дифторфенил)уксусной кислоты (1,25 г, 4,98 ммоль), N-этил-N-изопропилпропан-2-амин (643,6 мг, 4,98 ммоль) и [диметиламино(триазоло[4,5-b]пиридин-3-илокси)метил]диметиламмония гексафторфосфата (1,89 г, 4,98 ммоль) в ДМФА (20 мл) перемешивали в течение 1 ч при 20°C в атмосфере N_2 до завершения реакции по данным ЖХ-МС, реакционную смесь выливали в воду и экстрагировали EtOAc и объединенные органические слои концентрировали в вакууме, очищали хроматографией на силикагеле (гексаны/EtOAc=2:1) с получением желаемого продукта трет-бутил-5-[[2-(4-бром-2,5-дифторфенил)ацетил]амино]-6-[[2(S)-оксетан-2-ил]метиламино]пиридин-2-карбоксилата (1,0 г, 1,95 ммоль, выход 39,2%) в виде бледно-желтого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 512$, время удерживания=1,92 мин.

Стадия 3.

Перемешивали смесь трет-бутил-5-[[2-(4-бром-2,5-дифторфенил)ацетил]амино]-6-[[2(S)-оксетан-2-ил]метиламино]пиридин-2-карбоксилата (1,0 г, 1,95 ммоль) в толуоле (10 мл) в течение 2 ч при 120°C в атмосфере N_2 до тех пор, пока анализ ЖХ-МС не указывал на завершение реакции, фильтровали реакционную смесь через слой целита с использованием EtOAc и концентрировали объединенные органические слои в вакууме, очищали путем хроматографии на силикагеле (гексаны/EtOAc=2:1) с получением целевого продукта трет-бутил-2-[[4-бром-2,5-дифторфенил]метил]-3-[[2(S)-оксетан-2-ил]метил]имидазо[4,5-b]пиридин-5-карбоксилата (430 мг, 870 ммоль, выход 44,6%) в виде бледно-желтого твердого вещества.

ЖХ-МС: $[M+H]^+=494$; время удерживания (0,01% ТФУК)=2,02 мин.

Стадия 4.

Смесь трет-бутил-2-[(4-бром-2,5-дифторфенил)метил]-3-[[2(S)-оксетан-2-ил]метил]имидазо[4,5-b]пиридин-5-карбоксилата (180 мг, 364 мкмоль), 4,4,5,5-тетраметил-2-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1,3,2-диоксаборолана (184,93 мг, 728 мкмоль) и ацетата калия (143,0 мг, 1,46 ммоль) в диоксане (20 мл) перемешивали в течение 16 ч при 90°C в атмосфере N₂ до завершения реакции, по данным ЖХ-МС, реакционную смесь фильтровали через слой целита с EtOAc и использовали непосредственно на следующей стадии.

Стадия 5.

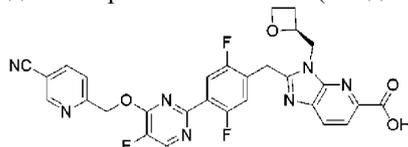
Смесь 6-[(6-бром-2-пиридил)оксиметил]пиридин-3-карбонитрила (60 мг, 207 мкмоль), трет-бутил-2-[[2,5-дифтор-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)фенил]метил]-3-[[2(S)-оксетан-2-ил]метил]имидазо[4,5-b]пиридин-5-карбоксилата (112,0 мг, 207 мкмоль) и гидрокарбоната натрия (86,87 мг, 1,03 ммоль) перемешивали в течение 16 ч при 110°C в атмосфере N₂, пока реакция не завершилась, как показывает ЖХ-МС, реакционную смесь выливали в воду и экстрагировали EtOAc и объединенные органические слои концентрировали в вакууме, очищали хроматографией на силикагеле (гексан/EtOAc=5:1) с получением желаемого продукта трет-бутил-2-[[4-[6-[(5-циано-2-пиридил)метокси]-2-пиридил]-2,5-дифторфенил]метил]-3-[[2(S)-оксетан-2-ил]метил]имидазо[4,5-b]пиридин-5-карбоксилата (80 мг, выход 61,9%) в виде бледно-желтой маслянистой жидкости. ЖХ-МС: $[M+H]^+=625$, время удерживания=1,77 мин.

Стадия 6.

Смесь трет-бутил-2-[[4-[6-[(5-циано-2-пиридил)метокси]-2-пиридил]-2,5-дифторфенил]метил]-3-[[2(S)-оксетан-2-ил]метил]имидазо[4,5-b]пиридин-5-карбоксилата (80 мг, 128 мкмоль), 2,2,2-трифторуксусной кислоты (23,68 г, 207,68 ммоль, 16,00 мл) в CH₂Cl₂ (2 мл) перемешивали в течение 1 ч при 30°C в атмосфере N₂ до завершения реакции по данным ЖХ-МС, реакционную смесь концентрировали в вакууме и дополнительно очищали препаративной ВЭЖХ с получением желаемого продукта 2-[[4-[6-[(5-циано-2-пиридил)метокси]-2-пиридил]-2,5-дифторфенил]метил]-3-[[2(S)-оксетан-2-ил]метил]имидазо[4,5-b]пиридин-5-карбоновой кислоты (38,3 мг, выход 51,0%) в виде бледно-желтого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+=569,2$, время удерживания=1,42 мин.

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-D₆) δ 9,03 (д, J=1,4 Гц, 1H), 8,33 (дд, J=8,2, 2,1 Гц, 1H), 8,08 (д, J=8,2 Гц, 1H), 8,02-7,85 (м, 2H), 7,68 (д, J=8,2 Гц, 1H), 7,54 (дд, J=10,9, 6,7 Гц, 2H), 7,39 (дд, J=1,5, 6,0 Гц, 1H), 7,06 (д, J=8,3 Гц, 1H), 5,64 (с, 2H), 5,15 (дд, J=7,1, 3,3 Гц, 1H), 4,75 (дд, J=15,1, 6,4 Гц, 1H), 4,68-4,56 (м, 2H), 4,50 (дд, J=15,5, 5,9 Гц, 2H), 4,35 (дд, J=6,0, 2,9 Гц, 1H), 2,73 (д, J=3,3 Гц, 1H), 2,45 (д, J=9,0 Гц, 1H).

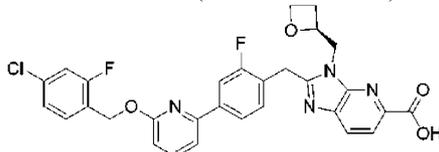
(S)-2-(4-(4-((5-Циано-2-пиридил)метокси)-5-фторпиримидин-2-ил)-2,5-дифторбензил)-3-(оксетан-2-илметил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-5-карбоновая кислота (Соединение 280)



Получали аналогично соединению 279. ЖХ-МС: $[M+H]^+=588,0$, время удерживания=1,17 мин.

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-D₆) δ 9,04 (д, J=1,4 Гц, 1H), 8,86 (д, J=2,8 Гц, 1H), 8,37 (дд, J=8,2, 2,1 Гц, 1H), 8,03 (д, J=8,2 Гц, 1H), 7,94 (д, J=8,2 Гц, 1H), 7,84-7,63 (м, 2H), 7,39 (дд, J=1,1, 6,1 Гц, 1H), 5,80 (с, 2H), 5,15 (с, 1H), 4,81-4,41 (м, 6H), 4,41-4,23 (м, 1H), 2,70 (дд, J=16,4, 8,3 Гц, 2H).

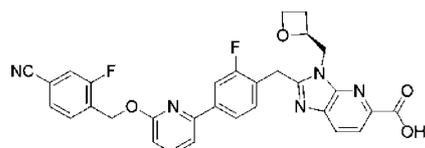
2-[[4-[6-[(4-Хлор-2-фторфенил)метокси]-2-пиридил]-2-фторфенил]метил]-3-[[2(S)-оксетан-2-ил]метил]имидазо[4,5-b]пиридин-5-карбоновая кислота (Соединение 281)



Получали аналогично соединению 279. ЖХ-МС: $[M+H]^+=577,9$; время удерживания (10 mM NH₄HCO₃)=2,94 мин.

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-D₆) δ 8,06 (д, J=8,2 Гц, 1H), 7,97 (д, J=8,2 Гц, 1H), 7,91 (дд, J=9,1, 5,2 Гц, 2H), 7,84 (т, J=7,8 Гц, 1H), 7,66 (д, J=7,4 Гц, 1H), 7,62 (т, J=8,2 Гц, 1H), 7,54-7,42 (м, 2H), 7,33 (д, J=8,2 Гц, 1H), 6,89 (д, J=8,2 Гц, 1H), 5,52 (с, 2H), 5,15 (с, 1H), 4,73 (дд, J=15,1, 6,2 Гц, 1H), 4,63 (дд, J=10,3, 6,8 Гц, 2H), 4,51 (дд, J=15,3, 9,1 Гц, 2H), 4,36 (дт, J=12,0, 5,9 Гц, 1H), 2,71 (дд, J=17,0, 9,0 Гц, 1H), 2,42 (д, J=18,0 Гц, 1H).

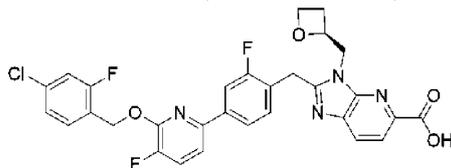
(S)-2-(4-(6-((4-Циано-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)-2-фторбензил)-3-(оксетан-2-илметил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-5-карбоновая кислота (Соединение 282)



Получали аналогично соединению 279. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 568,2$, время удерживания=1,32 мин.

1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- D_6) δ 7,99 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 7,96-7,90 (м, 4,0 Гц, 2H), 7,90-7,84 (м, $J=7,8$ Гц, 3H), 7,79-7,71 (м, 2H), 7,67 (д, $J=7,4$ Гц, 1H), 7,44 (т, $J=8,1$ Гц, 1H), 6,93 (д, $J=8,1$ Гц, 1H), 5,62 (с, 2H), 5,14 (с, 1H), 4,71 (дд, $J=15,3, 6,5$ Гц, 1H), 4,60 (д, $J=17,0$ Гц, 2H), 4,54-4,45 (м, 2H), 4,40-4,31 (м, 1H), 2,76-2,68 (м, 1H), 2,43-2,34 (м, 1H).

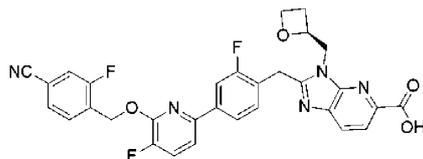
(S)-2-(4-(6-(4-Хлор-2-фторбензилокси)-5-фторпиридин-2-ил)-2-фторбензил)-3-(оксетан-2-илметил)-3Н-имидазо[4,5-б]пиридин-5-карбоновая кислота (Соединение 283)



Получали аналогично соединению 279. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 595,2$, время удерживания=1,42 мин.

1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- D_6) δ 8,02 (д, $J=8,0$ Гц, 1H), 7,94 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 7,91-7,79 (м, 3H), 7,69 (дд, $J=8,4, 2,8$ Гц, 1H), 7,64 (т, $J=8,2$ Гц, 1H), 7,52 (дд, $J=10,0, 2,0$ Гц, 1H), 7,45 (т, $J=8,1$ Гц, 1H), 7,36-7,34 (м, 1H), 5,61 (с, 2H), 5,18-5,10 (м, 1H), 4,72 (дд, $J=15,0, 6,4$ Гц, 1H), 4,65-4,61 (м, 1H), 4,60-4,57 (м, 1H), 4,54-4,47 (м, 2H), 4,39-4,32 (м, 1H), 2,69-2,66 (м, 1H), 2,34-2,32 (м, 1H).

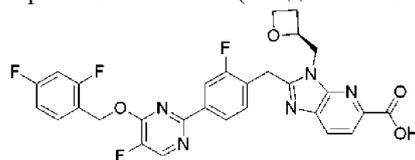
(S)-2-(4-(6-(4-Циано-2-фторбензилокси)-5-фторпиридин-2-ил)-2-фторбензил)-3-(оксетан-2-илметил)-3Н-имидазо[4,5-б]пиридин-5-карбоновая кислота (Соединение 284)



Получали аналогично соединению 279. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 586,0$, время удерживания=1,51 мин.

1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- D_6) δ 8,04 (д, $J=8,0$ Гц, 1H), 7,97-7,92 (м, 2H), 7,87-7,82 (м, 3H), 7,80-7,73 (м, 2H), 7,70 (дд, $J=8,4, 2,8$ Гц, 1H), 7,45 (т, $J=8,0$ Гц, 1H), 5,71 (с, 2H), 5,18-5,11 (м, 1H), 4,73 (дд, $J=15,2, 6,4$ Гц, 1H), 4,65-4,61 (м, 1H), 4,60-4,57 (м, 1H), 4,54-4,46 (м, 2H), 4,36 (дт, $J=9,0, 6,0$ Гц, 1H), 2,72-2,66 (м, 1H), 2,40-2,30 (м, 1H).

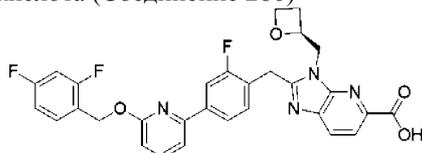
(S)-2-(4-(4-((2,4-Дифторбензил)окси)-5-фторпиридин-2-ил)-2-фторбензил)-3-(оксетан-2-илметил)-3Н-имидазо[4,5-б]пиридин-5-карбоновая кислота (Соединение 285)



Получали аналогично соединению 279. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 580,0$, время удерживания=1,53 мин.

1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- D_6) δ 8,82-8,76 (м, 1H), 8,19-8,15 (м, 1H), 8,13-8,03 (м, 2H), 7,99-7,94 (м, 1H), 7,78-7,70 (м, 1H), 7,56-7,50 (м, 1H), 7,41-7,32 (м, 1H), 7,22-7,14 (м, 1H), 5,72 (с, 2H), 5,19-5,11 (м, 1H), 4,77-4,49 (м, 5H), 4,39-4,33 (м, 1H), 2,75-2,67 (м, 1H), 2,47-2,40 (м, 1H).

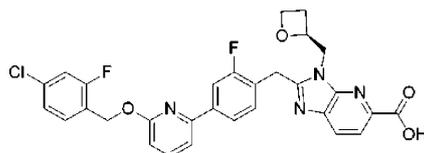
(S)-2-(4-(6-((2,4-Дифторбензил)окси)пиридин-2-ил)-2-фторбензил)-3-(оксетан-2-илметил)-3Н-имидазо[4,5-б]пиридин-5-карбоновая кислота (Соединение 286)



Получали аналогично соединению 279. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 561,0$, время удерживания=1,57 мин.

1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- D_6) δ 7,96-7,89 (м, 4H), 7,88-7,82 (м, 1H), 7,70-7,62 (м, 2H), 7,48-7,42 (м, 1H), 7,35-7,28 (м, 1H), 7,17-7,08 (м, 1H), 6,90-6,85 (м, 1H), 5,51 (с, 2H), 5,18-5,10 (м, 1H), 4,74-4,67 (м, 1H), 4,62-4,47 (м, 4H), 4,39-4,33 (м, 1H), 2,76-2,65 (м, 1H), 2,45-2,40 (м, 1H).

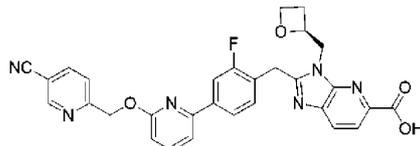
(S)-2-(4-(6-((4-Хлор-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)-2-фторбензил)-3-(оксетан-2-илметил)-3Н-имидазо[4,5-б]пиридин-5-карбоновая кислота (Соединение 287)



Получали аналогично соединению 279. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 576,3$, время удерживания=2,13 мин.

1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- D_6) δ 7,95-7,89 (м, 2H), 7,65-7,61 (м, 2H), 7,56-7,54 (м, 2H), 7,42-7,31 (м, 5H), 7,06 (д, 1H), 5,23 (с, 2H), 5,00 (м, 1H), 4,67-4,66 (м, 1H), 4,57-4,55 (м, 2H), 4,47-4,43 (м, 2H), 4,34 (м, 1H), 2,51 (м, 1H), 2,32 (м, 1H).

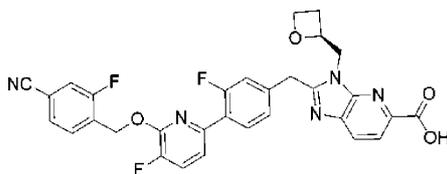
(S)-2-(4-(6-((5-Циано-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)-2-фторбензил)-3-(оксетан-2-илметил)-3Н-имидазо[4,5-б]пиридин-5-карбоновая кислота (Соединение 288)



Получали аналогично соединению 279. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 550,7$, время удерживания=1,98 мин.

1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- D_6) δ 9,03 (с, 1H), 8,32 (д, 1H), 7,78 (д, 1H), 7,77 (д, 1H), 7,76 (д, 1H), 7,64-7,63 (м, 4H), 7,39 (т, 1H), 7,00 (д, 1H), 5,64 (с, 2H), 4,51 (м, 1H), 4,46-4,341 (м, 4H), 4,31 (м, 1H), 2,71-2,67 (м, 1H), 2,45-2,43 (м, 1H).

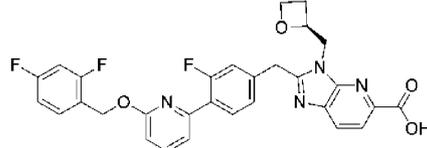
(S)-2-(4-(6-((4-Циано-2-фторбензил)окси)-5-фторпиридин-2-ил)-3-фторбензил)-3-(оксетан-2-илметил)-3Н-имидазо[4,5-б]пиридин-5-карбоновая кислота (Соединение 289)



Получали аналогично соединению 279. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 586,2$; время удерживания (0,01% ТФУК) =1,85 мин.

1H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ 8,25-8,22 (м, 2H), 7,93-7,87 (м, 1H), 7,73-7,67 (м, 1H), 7,50-7,37 (м, 4H), 7,21-7,16 (м, 1H), 7,12-7,08 (м, 1H), 5,64 (с, 2H), 5,25-5,19 (м, 1H), 4,71-4,60 (м, 3H), 4,57-4,49 (м, 1H), 4,48-4,37 (м, 2H), 2,82-2,75 (м, 1H), 2,46-2,37 (м, 1H).

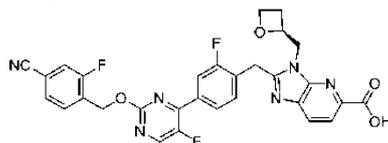
(S)-2-(4-(6-((2,4-Дифторбензил)окси)пиридин-2-ил)-3-фторбензил)-3-(оксетан-2-илметил)-3Н-имидазо[4,5-б]пиридин-5-карбоновая кислота (Соединение 290)



Получали аналогично соединению 279. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 561,0$, время удерживания=1,57 мин.

1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- D_6) δ 8,15-8,09 (д, $J=8,2$ Гц, 1H), 8,02-7,95 (м, 2H), 7,87-7,81 (м, 1H), 7,69-7,60 (дд, $J=15,3, 8,5$ Гц, 1H), 7,47-7,43 (м, 1H), 7,37-7,27 (м, 3H), 7,15-7,09 (м, 1H), 6,91-6,87 (д, $J=8,2$ Гц, 1H), 5,46 (с, 2H), 5,17-5,09 (м, 1H), 4,76-4,68 (м, 1H), 4,65-4,46 (м, 4H), 4,42-4,35 (м, 1H), 2,76-2,64 (м, 1H), 2,47-2,41 (м, 1H).

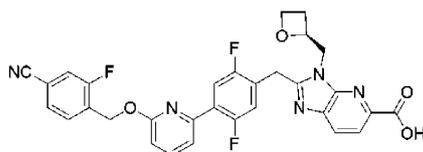
(S)-2-(4-(2-((4-Циано-2-фторбензил)окси)-5-фторпиримидин-4-ил)-2-фторбензил)-3-(оксетан-2-илметил)-3Н-имидазо[4,5-б]пиридин-5-карбоновая кислота (Соединение 291)



Получали аналогично соединению 279. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 587,0$, время удерживания=1,43 мин.

1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- D_6) δ 8,84 (д, $J=3,2$ Гц, 1H), 8,04 (д, $J=4$ Гц, 1H), 7,94 (д, $J=8,4$ Гц, 2H), 7,87 (т, $J=8$ Гц, 2H), 7,80-7,74 (м, 2H), 7,58 (т, $J=8$ Гц, 1H), 5,60 (с, 2H), 5,16-5,14 (м, 1H), 4,76-4,69 (м, 1H), 4,64 (т, $J=4$ Гц, 2H, 1H), 4,60 (д, $J=6,4$ Гц, 1H), 4,54-4,47 (м, 1H), 4,37-4,32 (м, 1H), 2,74-2,67 (м, 1H), 2,46-2,41 (м, 2H).

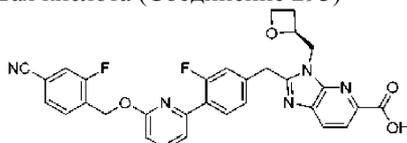
(S)-2-(4-(6-((4-Циано-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)-2,5-дифторбензил)-3-(оксетан-2-илметил)-3Н-имидазо[4,5-б]пиридин-5-карбоновая кислота (Соединение 292)



Получали аналогично соединению 279. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 586,2$, время удерживания=1,57 мин.

1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD) δ 8,20-8,16 (м, 1H), 8,12-8,08 (м, 1H), 7,90-7,87 (м, 1H), 7,86-7,77 (м, 2H), 7,70-7,66 (м, 1H), 7,65-7,60 (м, 2H), 7,30-7,24 (м, 1H), 7,00-6,96 (м, 1H), 5,70 (с, 2H), 5,36-5,34 (м, 1H), 4,90-4,86 (м, 1H), 4,82-4,79 (м, 1H), 4,73-4,65 (м, 3H), 4,53-4,48 (м, 1H), 2,93-2,93 (м, 1H), 2,61-2,56 (м, 1H).

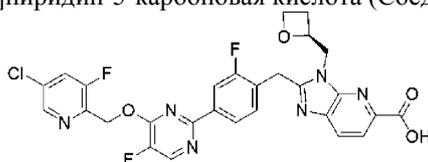
(S)-2-(4-(6-((4-Циано-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)-3-фторбензил)-3-(оксетан-2-илметил)-3Н-имидазо[4,5-б]пиридин-5-карбоновая кислота (Соединение 293)



Получали аналогично соединению 279. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 568,0$, время удерживания=1,50 мин.

1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-D_6$) δ 8,76 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 7,95-7,84 (м, 4H), 7,77-7,71 (м, 2H), 7,46 (дд, $J=1,6$ Гц, $J=7,6$ Гц, 1H), 7,30 (т, $J=1,2$ Гц, 2H), 6,94 (д, $J=8$ Гц, 1H), 5,56 (с, 2H), 5,12-5,09 (м, 1H), 4,70-4,65 (м, 1H), 4,58-4,46 (м, 4H), 4,38-4,33 (м, 1H), 2,70-2,66 (м, 1H), 2,47-2,40 (м, 1H).

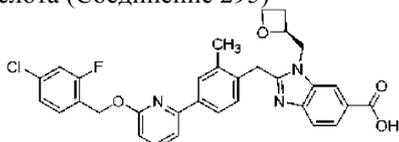
(S)-2-(4-(4-((5-Хлор-3-фторпиридин-2-ил)метокси)-5-фторпиримидин-2-ил)-2-фторбензил)-3-(оксетан-2-илметил)-3Н-имидазо[4,5-б]пиридин-5-карбоновая кислота (Соединение 294)



Получали аналогично соединению 279. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 597,1$, время удерживания=1,28 мин.

1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-D_6$) δ 8,77 (д, $J=2,8$ Гц, 1H), 8,56 (д, $J=1,4$ Гц, 1H), 8,22 (дд, $J=9,7$, 1,9 Гц, 1H), 8,10-7,90 (м, 4H), 7,49 (т, $J=7,9$ Гц, 1H), 5,82 (д, $J=1,4$ Гц, 2H), 5,14 (д, $J=7,1$ Гц, 1H), 4,78-4,45 (м, 5H), 4,35 (дт, $J=9,0$, 6,0 Гц, 1H), 2,70 (дд, $J=17,0$, 8,8 Гц, 1H), 2,44 (д, $J=8,8$ Гц, 1H).

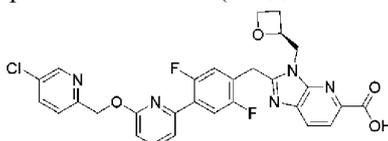
(S)-2-(4-(6-((4-Хлор-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)-2-метилбензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1Н-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 295)



Получали аналогично соединению 279. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 572,1$, время удерживания=1,52 мин.

1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-D_6$) δ 8,22 (ушир.с, 1H), 7,90 (ушир.с, 1H), 7,84-7,76 (м, 3H), 7,62-7,56 (м, 3H), 7,50 (дд, $J=2$ Гц, $J=10$ Гц, 1H), 7,32 (дд, $J=1,6$ Гц, $J=8,4$ Гц, 1H), 7,16 (д, $J=8$ Гц, 1H), 6,82 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 5,51 (с, 2H), 5,03-5,00 (м, 1H), 4,69-4,63 (м, 1H), 4,56-4,46 (м, 2H), 4,43-4,38 (м, 2H), 4,37-4,35 (м, 1H), 2,69-2,65 (м, 1H), 2,42-2,34 (м, 4H).

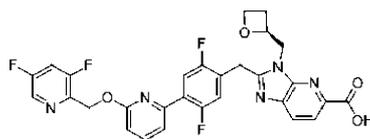
(S)-2-(4-(6-((5-Хлорпиридин-2-ил)метокси)пиридин-2-ил)-2,5-дифторбензил)-3-(оксетан-2-илметил)-3Н-имидазо[4,5-б]пиридин-5-карбоновая кислота (Соединение 296)



Получали аналогично соединению 279. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 578,2$, время удерживания=1,32 мин.

1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-D_6$) δ 8,63 (д, $J=2,4$ Гц, 1H), 8,09 (д, $J=8,2$ Гц, 1H), 7,98-7,94 (м, 2H), 7,91-7,87 (м, 1H), 7,67-7,62 (м, 1H), 7,55-7,51 (м, 2H), 7,42-7,37 (м, 1H), 7,02 (д, $J=8,3$ Гц, 1H), 5,54 (с, 2H), 5,18-5,14 (м, 1H), 4,78-4,72 (м, 1H), 4,65-4,60 (м, 2H), 4,53-4,48 (м, 2H), 4,38-4,32 (м, 1H), 2,76-2,70 (м, 1H), 2,46-2,43 (м, 1H).

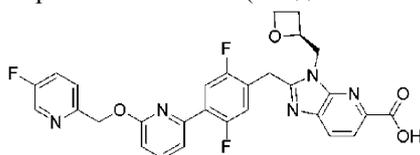
(S)-2-(4-(6-((3,5-Дифторпиридин-2-ил)метокси)пиридин-2-ил)-2,5-дифторбензил)-3-(оксетан-2-илметил)-3Н-имидазо[4,5-б]пиридин-5-карбоновая кислота (Соединение 297)



Получали аналогично соединению 279. ЖХ-МС: $[M+H]^+=580,0$, время удерживания=1,48 мин.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- D_6) δ 8,52 (д, $J=2,4$ Гц, 1H), 8,08-7,84 (м, 4H), 7,79-7,75 (м, 1H), 7,52-7,49 (м, 1H), 7,42-7,38 (м, 1H), 6,95-6,92 (м, 1H), 5,58 (д, $J=1,6$ Гц, 2H), 5,18-4,90 (м, 1H), 4,78-4,32 (м, 5H), 2,74-2,66 (м, 1H), 2,46-2,39 (м, 2H).

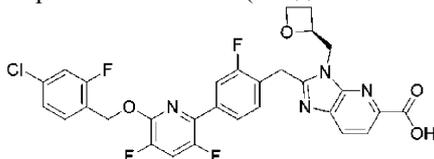
(S)-2-(2,5-Дифтор-4-(6-((5-фторпиридин-2-ил)метокси)пиридин-2-ил)бензил)-3-(оксетан-2-илметил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-5-карбоновая кислота (Соединение 298)



Получали аналогично соединению 279. ЖХ-МС: $[M+H]^+=562,0$, время удерживания=1,40 мин.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- D_6) δ 8,58 (д, $J=2,9$ Гц, 1H), 8,06 (д, $J=8,2$ Гц, 1H), 7,96 (д, $J=8,2$ Гц, 1H), 7,92-7,86 (м, 1H), 7,76 (тд, $J=8,8$, 3,0 Гц, 1H), 7,69 (дд, $J=10,5$, 6,5 Гц, 1H), 7,59 (дд, $J=8,7$, 4,5 Гц, 1H), 7,51 (д, $J=6,2$ Гц, 1H), 7,40 (дд, $J=11,5$, 6,1 Гц, 1H), 7,00 (д, $J=8,2$ Гц, 1H), 5,53 (с, 2H), 5,19-5,11 (м, 1H), 4,75 (дд, $J=15,1$, 6,3 Гц, 1H), 4,66-4,58 (м, 2H), 4,50 (дд, $J=15,4$, 6,9 Гц, 2H), 4,35 (дт, $J=9,0$, 6,0 Гц, 1H), 2,77-2,67 (м, 1H), 2,47-2,42 (м, 1H).

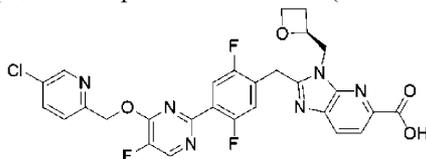
(S)-2-(4-(6-(4-Хлор-2-фторбензилокси)-3,5-дифторпиридин-2-ил)-2-фторбензил)-3-(оксетан-2-илметил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-5-карбоновая кислота (Соединение 299)



Получали аналогично соединению 279. ЖХ-МС: $[M+H]^+=612,9$, время удерживания=1,66 мин.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- D_6) δ 8,15 (т, $J=10$ Гц, 1H), 8,00 (д, $J=8$ Гц, 1H), 7,93 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 7,74 (т, $J=6,8$ Гц, 1H), 7,64 (т, $J=8$ Гц, 1H), 7,53-7,48 (м, 2H), 7,36 (дд, $J=1,6$, 6,4 Гц, 1H), 5,57 (с, 2H), 5,15-5,13 (м, 1H), 4,74 (дд, $J=6,4$, 8,8 Гц, 1H), 4,65-4,58 (м, 2H), 4,54-4,47 (м, 2H), 4,37-4,32 (м, 1H), 2,73-2,67 (м, 1H), 2,46-2,39 (м, 1H).

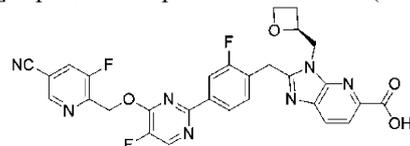
(S)-2-(4-(4-((5-Хлорпиридин-2-ил)метокси)-5-фторпиримидин-2-ил)-2,5-дифторбензил)-3-(оксетан-2-илметил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-5-карбоновая кислота (Соединение 300)



Получали аналогично соединению 279. ЖХ-МС: $[M+H]^+=597,1$, время удерживания=1,24 мин.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- D_6) δ 8,84 (д, $J=2,9$ Гц, 1H), 8,65 (д, $J=2,1$ Гц, 1H), 8,05 (д, $J=8,2$ Гц, 1H), 8,00 (дд, $J=8,4$, 2,5 Гц, 1H), 7,95 (д, $J=8,2$ Гц, 1H), 7,76 (дд, $J=10,0$, 6,4 Гц, 1H), 7,61 (д, $J=8,5$ Гц, 1H), 7,41 (дд, $J=11,1$, 6,1 Гц, 1H), 5,70 (с, 2H), 5,18-5,10 (м, 1H), 4,74 (дд, $J=15,4$, 6,8 Гц, 1H), 4,63 (д, $J=16,8$ Гц, 2H), 4,52 (дд, $J=15,1$, 6,2 Гц, 2H), 4,37-4,31 (дд, $J=14,9$, 5,9 Гц, 1H), 2,75-2,67 (м, 1H), 2,43-2,34 (м, 1H).

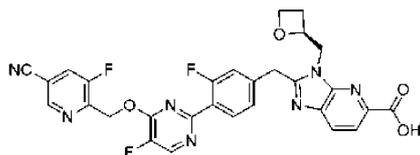
(S)-2-(4-(4-((5-Циано-3-фторпиридин-2-ил)метокси)-5-фторпиримидин-2-ил)-2-фторбензил)-3-(оксетан-2-илметил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-5-карбоновая кислота (Соединение 301)



Получали аналогично соединению 279. ЖХ-МС: $[M+H]^+=588,0$, время удерживания=1,41 мин.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8,70 (с, 1H), 8,45 (т, $J=1,9$ Гц, 1H), 8,18 (дт, $J=21,0$, 10,4 Гц, 2H), 8,07-7,94 (м, 2H), 7,75 (дд, $J=8,7$, 1,4 Гц, 1H), 7,39 (т, $J=7,7$ Гц, 1H), 5,84 (т, $J=7,0$ Гц, 2H), 5,21 (с, 1H), 4,60 (дд, $J=29,6$, 16,5, 8,5 Гц, 4H), 4,39 (дд, $J=34,6$, 28,6 Гц, 2H), 2,79 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 2,44 (с, 1H).

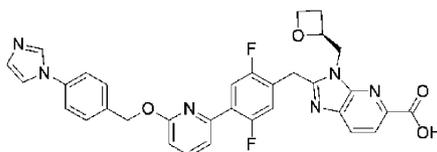
(S)-2-(4-(4-((5-Циано-3-фторпиридин-2-ил)метокси)-5-фторпиримидин-2-ил)-3-фторбензил)-3-(оксетан-2-илметил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-5-карбоновая кислота (Соединение 302)



Получали аналогично соединению 279. ЖХ-МС: $[M+H]^+=587,9$, время удерживания=1,36 мин.

^1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD): δ 8,61 (ушир.с, 1H), 8,46 (д, $J=2,8$ Гц, 1H), 8,05-8,00 (м, 2H), 7,95 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 7,84 (т, $J=8$ Гц, 1H), 7,12-7,05 (м, 2H), 5,75 (д, $J=1,6$ Гц, 2H), 5,16-5,12 (м, 1H), 4,65-4,56(м, 2H), 4,54-4,46 (м, 3H), 4,34-4,29 (м, 1H), 2,68-2,64 (м, 1H), 2,41-2,38 (м, 1H).

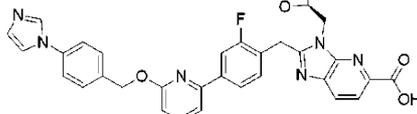
(S)-2-(4-(6-(4-(1H-Имидазол-1-ил)бензилокси)пиридин-2-ил)-2,5-дифторбензил)-3-(оксетан-2-илметил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-5-карбоновая кислота (Соединение 303)



Получали аналогично соединению 279. ЖХ-МС: $[M+H]^+=609,0$, время удерживания=1,69 мин.

^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO-}D_6$) δ 8,28-8,26 (ушир.с, 1H), 8,08 (д, $J=8,2$ Гц, 1H), 7,97 (д, $J=8,2$ Гц, 1H), 7,90-7,86 (м, 1H), 7,85-7,81 (м, 1H), 7,76-7,74 (м, 1H), 7,69-7,62 (м, 4H), 7,51 (д, $J=6,0$ Гц, 1H), 7,42 (дд, $J=11,4, 6,1$ Гц, 1H), 7,11-7,09 (м, 1H), 6,96 (д, $J=8,2$ Гц, 1H), 5,52 (с, 2H), 5,18-5,13 (м, 1H), 4,76 (дд, $J=15,1, 6,4$ Гц, 1H), 4,67-4,61 (м, 2H), 4,56-4,49 (м, 2H), 4,35 (дт, $J=9,0, 6,1$ Гц, 1H), 2,75-2,68 (м, 1H), 2,43-2,40 (м, 1H).

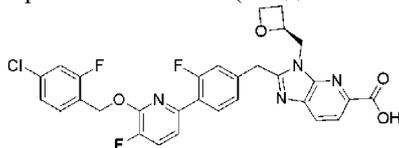
(S)-2-(4-(6-((4-(1H-Имидазол-1-ил)бензил)окси)пиридин-2-ил)-2-фторбензил)-3-(оксетан-2-илметил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-5-карбоновая кислота (Соединение 304)



Получали аналогично соединению 279. ЖХ-МС: $[M+H]^+=591,1$, время удерживания=1,36 мин.

^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO-}D_6$) δ 8,25-8,24 (ушир.с, 1H), 8,06 (д, $J=8,2$ Гц, 1H), 7,99-7,89 (м, 3H), 7,88-7,80 (м, 1H), 7,74 (т, $J=1,3$ Гц, 1H), 7,70-7,61 (м, 5H), 7,46 (т, $J=8,1$ Гц, 1H), 7,10-7,09 (ушир.с, 1H), 6,90 (д, $J=8,2$ Гц, 1H), 5,54 (с, 2H), 5,14 (д, $J=7,1$ Гц, 1H), 4,73 (дд, $J=15,1, 6,4$ Гц, 1H), 4,68-4,58 (м, 2H), 4,51 (дд, $J=14,9, 10,2$ Гц, 2H), 4,36 (дт, $J=8,8, 5,9$ Гц, 1H), 2,78-2,65 (м, 1H), 2,41-2,35 (м, 1H).

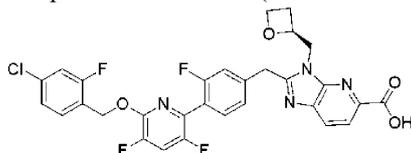
(S)-2-(4-(6-((4-Хлор-2-фторбензил)окси)-5-фторпиридин-2-ил)-3-фторбензил)-3-(оксетан-2-илметил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-5-карбоновая кислота (Соединение 305)



Получали аналогично соединению 279. ЖХ-МС: $[M+H]^+=595,1$, время удерживания=1,93 мин.

^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO-}D_6$) δ 8,07 (д, $J=8,2$ Гц, 1H), 8,02-7,87 (м, 2H), 7,81 (дд, $J=10,3, 8,3$ Гц, 1H), 7,62 (т, $J=8,2$ Гц, 1H), 7,55-7,42 (м, 2H), 7,39-7,26 (м, 3H), 5,55 (с, 2H), 5,11 (д, $J=6,7$ Гц, 1H), 4,69 (дд, $J=15,0, 6,3$ Гц, 1H), 4,53 (ддд, $J=21,4, 18,2, 7,7$ Гц, 4H), 4,35 (дд, $J=14,9, 6,0$ Гц, 1H), 2,67 (с, 1H), 2,44 (д, $J=8,6$ Гц, 1H).

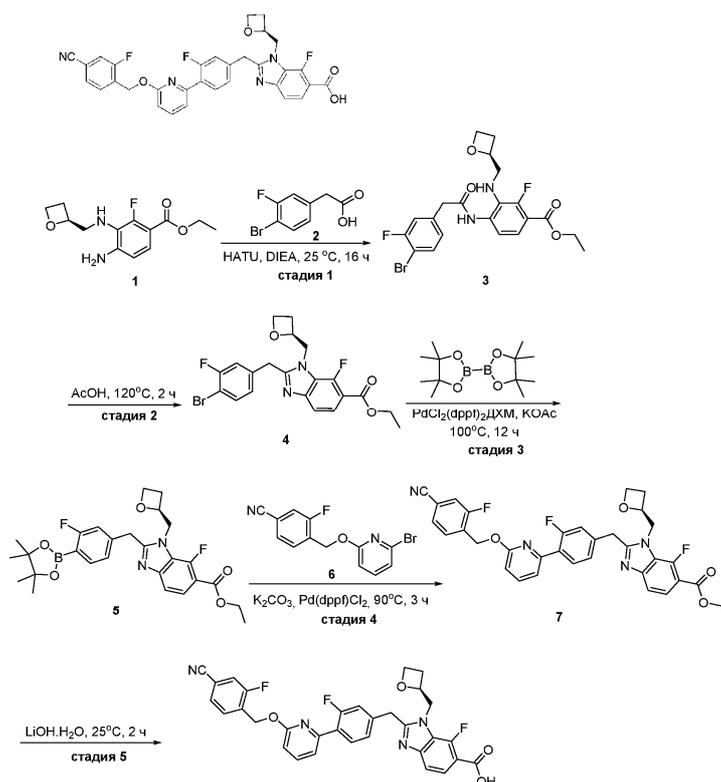
(S)-2-(4-(6-((4-Хлор-2-фторбензил)окси)-3,5-дифторпиридин-2-ил)-3-фторбензил)-3-(оксетан-2-илметил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-5-карбоновая кислота (Соединение 306)



Получали аналогично соединению 279. ЖХ-МС: $[M+H]^+=613,0$, время удерживания=1,93 мин.

^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO-}D_6$) δ 8,20-8,06 (м, 2H), 7,97 (д, $J=8,2$ Гц, 1H), 7,65-7,48 (м, 3H), 7,36 (т, $J=9,5$ Гц, 3H), 5,47 (с, 2H), 5,14 (с, 1H), 4,72 (дд, $J=15,0, 6,5$ Гц, 1H), 4,55 (м, $J=21,6, 15,3, 5,2$ Гц, 4H), 4,37 (дд, $J=14,9, 6,0$ Гц, 1H), 2,69 (д, $J=7,7$ Гц, 1H), 2,45 (с, 1H).

(S)-2-(4-(6-((4-Циано-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)-3-фторбензил)-7-фтор-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 307)



Стадия 1.

Раствор 2-(4-бром-3-фторфенил)уксусной кислоты (220,7 мг, 947 мкмоль), этил-4-амино-2-фтор-3-[[[(2S)-оксетан-2-ил]метиламино]бензоата (231 мг, 861 мкмоль), EDCI (494,3 мг, 2,58 ммоль), DIEA (669,90 мг, 5,18 ммоль) перемешивали при 25°C в течение 16 ч. Выливали полученную смесь в воду и экстрагировали этилацетатом (3×20 мл). Промывали объединенные органические слои рассолом (2×30 мл), сушили над безводным сульфатом натрия, концентрировали и очищали путем хроматографии на силикагеле (элюировали смесью этилацетат/петролейный эфир, об./об., 1/1) с получением 4-[[2-(4-бром-3-фторфенил)ацетил]амино]-2-фтор-3-[[[(2S)-оксетан-2-ил]метиламино]бензоата (82 мг, выход 15,2%) в виде желтого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 483,0$, время удерживания=2,27 мин.

Стадия 2.

Раствор этил-4-[[2-(4-бром-3-фторфенил)ацетил]амино]-2-фтор-3-[[[(2S)-оксетан-2-ил]метиламино]бензоата (82 мг, 170 мкмоль) в AcOH (1 мл) перемешивали при 120°C в течение 2 ч. Полученную смесь концентрировали для удаления большей части растворителей и доводили pH раствора до 7-8 насыщенным бикарбонатом натрия, экстрагировали этилацетатом (3×10 мл), концентрировали и очищали хроматографией на силикагеле (элюируя этилацетатом/петролейным эфиром, об./об., 1/1) с получением этил-(S)-2-(4-бром-3-фторбензил)-7-фтор-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоксилата (60 мг, выход 68,4%) в виде желтого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 465,1$; время удерживания (0,01% ТФУК)=2,07 мин.

Стадия 3.

Смесь этил-(S)-2-(4-бром-3-фторбензил)-7-фтор-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоксилата (105 мг, 226 мкмоль), 4,4,5,5-тетраметил-2-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1,3,2-диоксаборолана (63,0 мг, 248 мкмоль), PdCl₂(dppf)₂ (36,9 мг, 45 мкмоль) и KOAc (66,4 мг, 677 мкмоль) в диоксане (2 мл) перемешивали при 100°C в течение 16 ч в атмосфере азота. Полученную смесь фильтровали и промывали этилацетатом, концентрировали с получением этил-(S)-7-фтор-2-(3-фтор-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоксилата (227 мг, 204 мкмоль, выход 90,31%) в виде коричневого твердого вещества и использовали непосредственно на следующей стадии. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 513,3$; время удерживания (0,01% ТФУК)=2,10 мин.

Стадия 4.

Смесь этил-(S)-7-фтор-2-(3-фтор-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бензил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоксилата (110 мг, 215 мкмоль), 4-[(6-бром-2-пиридил)оксиметил]-3-фторбензонитрила (65,9 мг, 215 мкмоль), K₂CO₃ (88,9 мг, 644 мкмоль) и Pd(dppf)Cl₂ (17,5 мг, 21 мкмоль) в диоксане (2 мл) перемешивали при 90°C в течение 3 ч в атмосфере азота. Полученную смесь концентрировали и очищали путем хроматографии на силикагеле (элюировали смесью этилацетат/петролейный эфир, об./об., 1/1) с получением (S)-2-(4-(6-((4-циано-2-

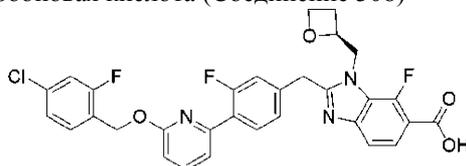
фторбензил)окси)пиридин-2-ил)-3-фторбензил)-7-фтор-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоксилата (30 мг, выход 22,8%) в виде желтого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+$ =613,0, время удерживания=2,33 мин.

Стадия 5.

Раствор этил-(S)-2-(4-(6-((4-циано-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)-3-фторбензил)-7-фтор-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоксилата (90 мг, 147 мкмоль), 0,5 N LiOH (2 мл) в ТГФ (7 мл) перемешивали при 25°C в течение 16 ч, смесь нейтрализовали, уксусной кислотой до pH=5. Полученную смесь экстрагировали ДХМ/MeOH (об./об.=10/1, 3×10 мл). Объединенные органические слои концентрировали и очищали препаративной ВЭЖХ (колонка: Xtimate C18 21,2×250 мм, 10 мкм; Подвижная фаза: А: вода (10 mM NH₄HCO₃ и 0,025% NH₃·H₂O), В: ацетонитрил (ACN); Градиент: 5% В в течение 3 мин, затем 50-50% за 10 мин, остановка через 18 мин; Скорость потока (мл/мин): 30,00; Длина волны детектирования (нм): 214 нм) с получением (S)-2-(4-(6-((4-циано-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)-3-фторбензил)-7-фтор-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновой кислоты (17,3 мг, выход 20,14%) в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+$ =585,1, время удерживания=1,82 мин.

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-D₆) δ 7,97-7,82 (м, 3H), 7,80-7,67 (м, 2H), 7,62-7,50 (м, 1H), 7,46 (д, J=5,9 Гц, 1H), 7,30 (дд, J=17,4, 7,5 Гц, 3H), 6,94 (д, J=8,2 Гц, 1H), 5,57 (с, 2H), 5,04 (д, J=4,9 Гц, 1H), 4,71 (дд, J=15,6, 7,2 Гц, 1H), 4,61-4,31 (м, 5H), 2,72 (дт, J=16,4, 8,3 Гц, 1H), 2,42 (дд, J=21,2, 12,5 Гц, 1H).

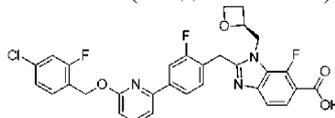
(S)-2-(4-(6-((4-Хлор-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)-3-фторбензил)-7-фтор-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 308)



Получали аналогично соединению 307. ЖХ-МС: $[M+H]^+$ =594,0, время удерживания=1,93 мин.

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-D₆) δ 7,95 (т, J=8,4 Гц, 1H), 7,84 (т, J=7,9 Гц, 1H), 7,61 (дд, J=16,3, 8,2 Гц, 2H), 7,46 (ддд, J=22,7, 13,4, 5,1 Гц, 3H), 7,31 (дд, J=10,0, 5,9 Гц, 3H), 6,89 (д, J=8,2 Гц, 1H), 5,47 (с, 2H), 5,04 (д, J=6,6 Гц, 1H), 4,75 (дд, J=15,5, 7,4 Гц, 1H), 4,65-4,32 (м, 5H), 2,78-2,67 (м, 1H), 2,43 (д, J=8,4 Гц, 1H).

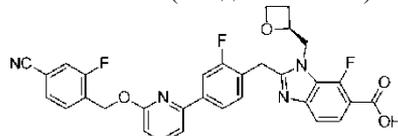
(S)-2-(4-(6-((4-Хлор-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)-2-фторбензил)-7-фтор-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 309)



Получали аналогично соединению 307. ЖХ-МС: $[M+H]^+$ =594,0, время удерживания=1,96 мин.

¹H ЯМР (400 МГц, MeOD) δ 7,74 (дд, J=11,5, 9,2 Гц, 2H), 7,69-7,57 (м, 2H), 7,48-7,36 (м, 2H), 7,35-7,18 (м, 2H), 7,10 (дд, J=14,0, 4,9 Гц, 2H), 6,70 (д, J=8,2 Гц, 1H), 5,43 (с, 2H), 5,12 (д, J=5,5 Гц, 1H), 4,66 (дд, J=15,4, 7,2 Гц, 1H), 4,61-4,54 (м, 1H), 4,54-4,44 (м, 2H), 4,42-4,25 (м, 2H), 3,55 (д, J=3,1 Гц, 2H), 2,80-2,64 (м, 1H), 2,49-2,36 (м, 1H).

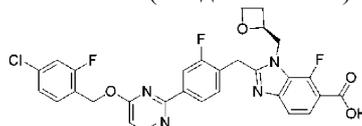
(S)-2-(4-(6-((4-Циано-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)-2-фторбензил)-7-фтор-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 310)



Получали аналогично соединению 307. ЖХ-МС: $[M+H]^+$ =585,1, время удерживания=1,85 мин.

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-D₆) δ 7,89 (дд, J=22,8, 9,2 Гц, 4H), 7,75 (д, J=11,0 Гц, 2H), 7,64 (дд, J=16,6, 7,0 Гц, 2H), 7,50-7,26 (м, 2H), 6,93 (д, J=8,2 Гц, 1H), 5,62 (с, 2H), 5,10 (с, 1H), 4,76 (с, 1H), 4,66-4,29 (м, 5H), 2,75 (с, 1H), 2,43 (с, 1H).

(S)-2-(4-(4-((4-Хлор-2-фторбензил)окси)пиримидин-2-ил)-2-фторбензил)-7-фтор-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 311)

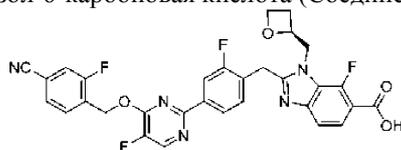


Получали аналогично соединению 307. ЖХ-МС: $[M+H]^+$ =595,2; время удерживания (0,01% ТФУК)=1,64 мин.

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-D₆) δ 8,73 (д, J=5,2 Гц, 1H), 8,09-7,98 (м, 2H), 7,82 (д, J=5,2 Гц, 1H), 7,63

(дд, J=16,6, 8,4 Гц, 2H), 7,56-7,46 (м, 2H), 7,43-7,28 (м, 2H), 5,53 (с, 2H), 5,09 (д, J=7,0 Гц, 1H), 4,78 (дд, J=15,6, 7,2 Гц, 1H), 4,67-4,28 (м, 5H), 2,80-2,70 (м, 1H), 2,44 (д, J=8,9 Гц, 1H).

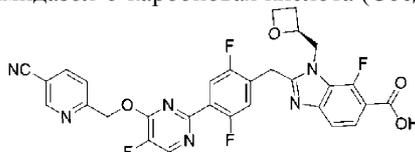
(S)-2-(4-(4-((4-Циано-2-фторбензил)окси)-5-фторпиримидин-2-ил)-2-фторбензил)-7-фтор-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 312)



Получали аналогично соединению 307. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 603,9$, время удерживания=1,53 мин.

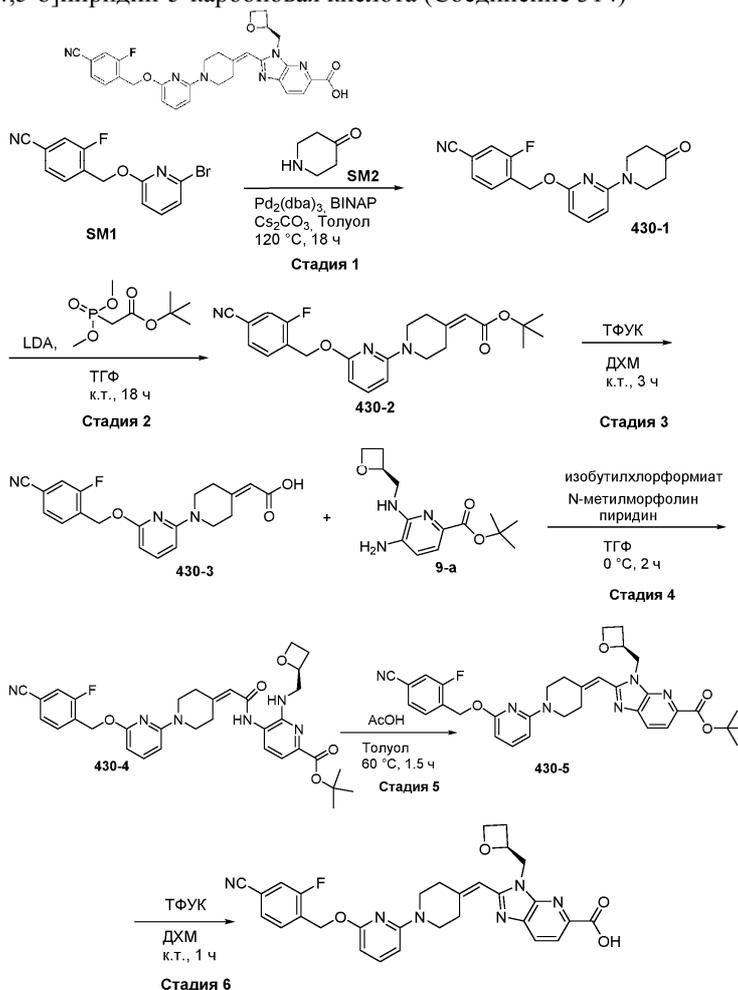
^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8,44-8,43 (д, J=2,4 Гц, 1H), 8,11-8,05 (м, 2H), 7,93-7,89 (т, J=8,0 Гц, 1H), 7,70-7,66 (т, J=7,6 Гц, 1H), 7,63-7,61 (д, J=8,0 Гц, 1H), 7,51-7,47 (т, J=8,0 Гц, 2H), 7,45-7,42 (д, J=9,2 Гц, 1H), 5,71 (с, 2H), 5,22-5,20 (д, J=6,8 Гц, 1H), 4,71-4,47 (м, 6H), 2,82 (с, 1H), 2,47 (с, 1H).

(S)-2-(4-(4-((5-Циано-2-фторбензил)метокси)-5-фторпиримидин-2-ил)-2,5-дифторбензил)-7-фтор-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 313)



Получали аналогично соединению 307. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 605,2$; время удерживания (10 мМ NH_4HCO_3)=1,18 мин.

(S)-2-(((1-(6-(4-Циано-2-фторбензилокси)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-илиден)метил)-3-(оксетан-2-илметил)-3H-имидазо[4,5-b]пиримидин-5-карбоновая кислота (Соединение 314)



Стадия 1.

Смесь 4-[(6-бром-2-пиримидил)оксиметил]-3-фторбензонитрила (10 г, 30,93 ммоль), пиперидин-4-она (3,99 г, 40,21 ммоль), $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (1,13 г, 1,55 ммоль), BINAP (1,93 г, 3,09 ммоль) и CS_2CO_3 (15,08 г, 46,40 ммоль) в толуоле (80 мл) перемешивали в течение 18 ч при 110 °C в атмосфере аргона до завершения реакции, как определяли с помощью ЖХ-МС, реакционную смесь фильтровали через слой целита с EtOAc ,

и объединенные органические слои концентрировали в вакууме, очищали хроматографией на силикагеле (гексаны/EtOAc=77:23) с получением желаемого продукта 3-фтор-4-[[6-(4-оксо-1-пиперидил)-2-пиридил]оксиметил]бензонитрила (5,25 г, выход 52,2%) в виде бледно-желтого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 326,2$, время удерживания=1,63 мин.

1H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ 7,62 (т, J=7,6 Гц, 1H), 7,50-7,42 (м, 2H), 7,37 (дд, J=1,2, 8 Гц, 1H), 6,32 (д, J=8 Гц, 1H), 6,23 (д, J=7,6 Гц, 1H), 5,44 (с, 2H), 3,85 (т, J=6 Гц, 4H), 2,46 (т, J=6 Гц, 4H).

Стадия 2.

К суспензии трет-бутил-2-диметоксифосфорилацетата (7,13 г, 31,81 ммоль) в ТГФ (60 мл) медленно добавляли диизопропиламид лития (LDA) (3,98 г, 37,12 ммоль, 19 мл) при комнатной температуре и перемешивали в течение 10 минут в атмосфере Ar. По каплям добавляли раствор 3-фтор-4-[[6-(4-оксо-1-пиперидил)-2-пиридил]оксиметил]бензонитрила (3,45 г, 10,60 ммоль) в ТГФ (15 мл) при комнатной температуре. После завершения реакции, о чем судили по данным ЖХ-МС, реакционную смесь гасили водой (10 мл) и экстрагировали EtOAc (3×20 мл). Промывали органическую фазу рассолом (50 мл) и сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный продукт очищали флэш-хроматографией (SiO_2 , гексан/этилацетат 10:1) с получением трет-бутил-2-[1-[6-[(4-циано-2-фторфенил)метокси]-2-пиридил]-4-пиперидилиден]ацетат (2,2 г, выход 36,1%) в виде бесцветной жидкости. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 424,2$, время удерживания=1,98 мин.

Стадия 3.

Смесь трет-бутил-2-[1-[6-[(4-циано-2-фторфенил)метокси]-2-пиридил]-4-пиперидилиден]ацетата (2,2 г, 5,20 ммоль) в ДХМ (21 мл) добавляли ТФУК (10,36 г, 90,86 ммоль, 7 мл) и перемешивали в течение 1 ч при комнатной температуре до завершения реакции по данным ЖХ-МС, в реакционную смесь добавляли ДХМ (160 мл), промывали водным насыщенным $NaHCO_3$ (2×30 мл), сушили и упаривали, очищали флэш-хроматографией на силикагеле (ПЭ:ЭА/0%-66%) с получением желаемого продукта 2-[1-[6-[(4-циано-2-фторфенил)метокси]-2-пиридил]-4-пиперидилиден]уксусной кислоты (1,78 г, 4,44 ммоль, выход 85,5%) в виде беловатого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 368,1$, время удерживания= 1,25 мин.

Стадия 4.

Смесь 2-[1-[6-[(4-циано-2-фторфенил)метокси]-2-пиридил]-4-пиперидилиден]уксусной кислоты (723 мг, 1,97 ммоль) в ТГФ (30 мл) перемешивали и охлаждали на бане со льдом и солью. Затем добавляли изобутилхлорформиат (525,00 мг, 3,84 ммоль) и N-метилморфолин (598 мг, 5,91 ммоль, 0,65 мл), и реакционную смесь перемешивали на бане со льдом и солью в течение 20 мин. Трет-бутил-5-амино-6-[[2(S)-оксетан-2-ил]метиламино]пиридин-2-карбоксилат (500 мг, 1,79 ммоль) растворяли в пиридине (6,85 г, 86,55 ммоль, 7 мл) и N-метилморфолин (598 мг, 5,91 ммоль, 0,65 мл) добавляли к реакционной смеси на ледяной бане при перемешивании в течение 1 ч при 0°C. После завершения реакции растворитель выпаривали в вакууме, а оставшийся остаток разделяли между ДХМ (50 мл) и водой (20 мл). Слой ДХМ один раз промывали рассолом, сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и упаривали в вакууме, получая сырой продукт. Неочищенный продукт очищали хроматографией на силикагеле (гексаны/EtOAc=20:1) с получением желаемого продукта трет-бутил-5-[[2-[1-[6-[(4-циано-2-фторфенил)метокси]-2-пиридил]-4-пиперидилиден]ацетил]амино]-6-[[2(S)-оксетан-2-ил]метиламино]пиридин-2-карбоксилата (168 мг, выход 13,35%) в виде бледно-желтого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 629,1$, время удерживания=2,12 мин.

Стадия 5.

Смесь трет-бутил-5-[[2-[1-[6-[(4-циано-2-фторфенил)метокси]-2-пиридил]-4-пиперидилиден]ацетил]амино]-6-[[2(S)-оксетан-2-ил]метиламино]пиридин-2-карбоксилата (64 мг, 102 мкмоль) и AcOH (102 мкмоль) в толуоле (4 мл) перемешивали в течение 1,5 ч при 60°C до завершения реакции, как определяли с помощью ЖХ-МС, реакционную смесь концентрировали в вакууме, очищали препаративной ТСХ (ПЭ:ЭА/1:1,5) с получением желаемого продукта трет-бутил-2-[[1-[6-[(4-циано-2-фторфенил)метокси]-2-пиридил]-4-пиперидилиден]метил]-3-[[2(S)-оксетан-2-ил]метил]имидазо[4,5-b]пиридин-5-карбоксилата (5 мг, выход 8,0%) в виде бледно-желтой маслянистой жидкости. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 612,3$; время удерживания (0,01% ТФУК)=2,04 мин.

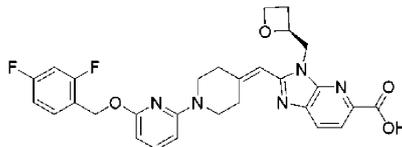
Стадия 6.

К смеси трет-бутил-2-[[1-[6-[(4-циано-2-фторфенил)метокси]-2-пиридил]-4-пиперидилиден]метил]-3-[[2(S)-оксетан-2-ил]метил]имидазо[4,5-b]пиридин-5-карбоксилата (5 мг, 8 мкмоль) в ДХМ (4 мл) добавляли ТФУК (1,48 г, 13,0 ммоль, 1 мл) и перемешивали в течение 1 ч при комнатной температуре, пока реакция не завершилась, как показывает ЖХ-МС, реакционную смесь концентрировали в вакууме, растворяли в ТГФ (1,5 мл), очищали препаративной ВЭЖХ с получением желаемого продукта 2-[[1-[6-[(4-циано-2-фторфенил)метокси]-2-пиридил]-4-пиперидилиден]метил]-3-[[2(S)-оксетан-2-ил]метил]имидазо[4,5-b]пиридин-5-карбоновой кислоты (1,1 мг, выход 23,3%) в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 555,0$, время удерживания= 1,51 мин.

1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-D_6-d_6$) δ 8,16-8,09 (м, 1H), 7,68 (т, J=8 Гц, 1H), 7,62-7,55 (м, 2H), 7,52 (т, J=8 Гц, 1H), 6,70 (с, 1H), 6,41 (д, J=8,4 Гц, 1H), 6,18 (д, J=8 Гц, 1H), 5,49 (с, 2H), 5,28 (дд, J=2,8, 2,4 Гц,

¹H), 4,82-4,80 (м, 1H), 4,74-4,68 (м, 1H), 4,63-4,60 (м, 1H), 4,46-4,41 (м, 1H), 3,74 (дд, J=4,4, 2 Гц, 2H), 3,68 (т, J=5,6 Гц, 2H), 2,95 (т, J=5,6 Гц, 2H), 2,81-2,76 (м, 1H), 2,56-2,54 (м, 1H), 2,50 (т, J=5,2 Гц, 2H).

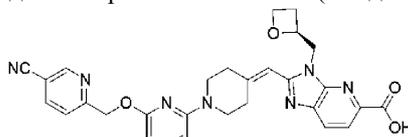
(S)-2-((1-(6-(2,4-Дифторбензилокси)пиридин-2-ил)пиперидин-4-илиден)метил)-3-(оксетан-2-илметил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-5-карбоновая кислота (Соединение 315)



Получали аналогично соединению 314. ЖХ-МС: [M+H]⁺=548,0; время удерживания (0,01% ТФУК)=1,97 мин.

¹H ЯМР (400 МГц, MeOD) δ 8,15 (д, J=16,0 Гц, 2H), 7,48-7,47 (ушир.с, 2H), 6,97 (д, J=8,2 Гц, 2H), 6,70-6,69 (ушир.с, 1H), 6,41-6,40 (ушир.с, 1H), 6,13-6,12 (ушир.с, 1H), 5,38 (с, 2H), 5,33-5,28 (м, 1H), 4,77-4,76 (ушир.с, 1H), 4,64-4,63 (ушир.с, 1H), 3,79-3,78 (ушир.с, 1H), 3,73-3,72 (ушир.с, 1H), 3,02-3,01 (ушир.с, 2H), 2,78-2,77 (ушир.с, 1H), 2,56-2,55 (ушир.с, 3H), 2,06-2,05 (ушир.с, 2H), 0,92-0,91 (ушир.с, 2H).

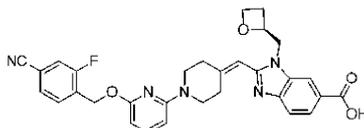
(S)-2-((1-(6-((5-Цианопиридин-2-ил)метокси)пиридин-2-ил)пиперидин-4-илиден)метил)-3-(оксетан-2-илметил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-5-карбоновая кислота (Соединение 316)



Получали аналогично соединению 314. ЖХ-МС: [M+H]⁺=538,2; время удерживания (0,01% ТФУК)=1,74 мин.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8,85-8,83 (м, 1H), 8,26-8,18 (м, 2H), 7,95-7,91 (м, 1H), 7,60-7,54 (м, 1H), 7,48-7,44 (м, 1H), 6,22-6,20 (м, 1H), 6,17-6,14 (м, 1H), 5,57-5,54 (м, 1H), 5,52 (с, 2H), 5,20-5,18 (м, 1H), 4,67-4,58 (м, 3H), 4,41-4,35 (м, 1H), 3,95-3,83 (м, 4H), 3,69-3,58 (м, 2H), 2,81-2,79 (м, 1H), 2,47-2,42 (м, 1H), 2,21-2,20 (м, 2H).

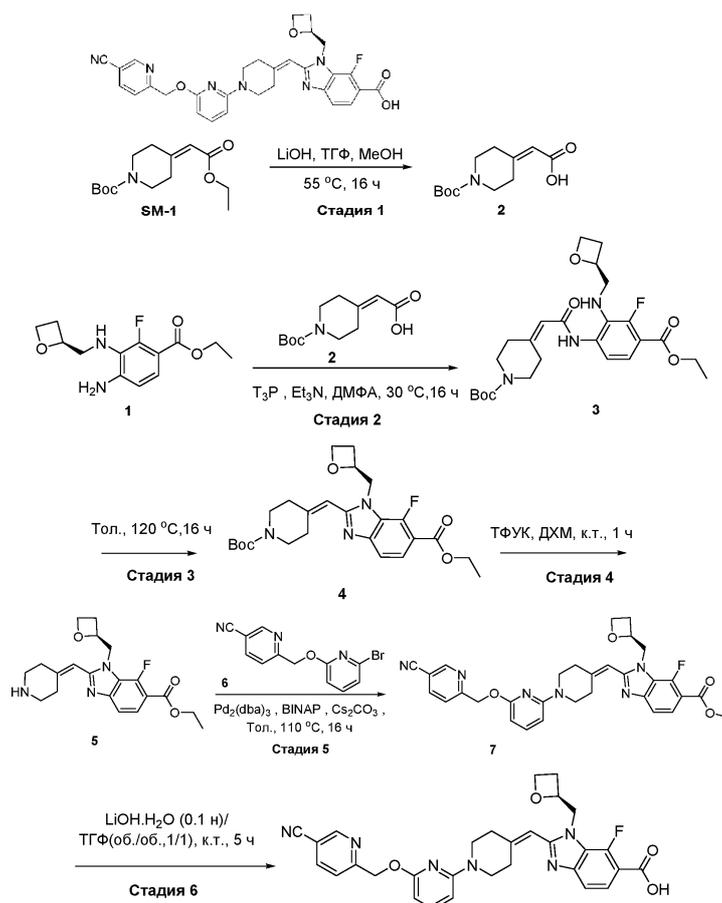
(S)-2-((1-(6-((4-Циано-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)пиперидин-4-илиден)метил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 317)



Получали аналогично соединению 314. ЖХ-МС: [M+H]⁺=554,0, время удерживания=1,31 мин.

¹H ЯМР δ 8,18 (с, 1H), 7,88 (д, J=9,8 Гц, 1H), 7,79 (д, J=8,4 Гц, 1H), 7,70-7,66 (м, 2H), 7,58 (д, J=8,4 Гц, 1H), 7,50-7,45 (м, 1H), 6,29 (д, J=8,2 Гц, 1H), 6,10 (д, J=7,8 Гц, 1H), 5,57-5,53 (ушир.с, 1H), 5,42 (с, 2H), 5,02-4,96 (м, 1H), 4,62-4,57 (м, 1H), 4,51-4,43 (м, 2H), 4,35-4,30 (м, 1H), 3,91-3,84 (м, 2H), 3,82-3,71 (м, 2H), 3,65-3,58 (м, 3H), 2,68-2,64 (м, 1H), 2,19-2,12 (м, 2H).

(S)-2-((1-(6-((5-Цианопиридин-2-ил)метокси)пиридин-2-ил)пиперидин-4-илиден)метил)-7-фтор-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 318)



Стадия 1.

Раствор трет-бутил-4-(2-этокси-2-оксоэтилиден)пиперидин-1-карбоксилата (1,0 г, 3,71 ммоль) в ТГФ (10 мл) и этаноле (8 мл). Добавляли гидрат гидроксида лития (779 мг, 18,56 ммоль) в воде (7 мл). Смесь перемешивали при 50°C в течение 16 ч, смесь нейтрализовали уксусной кислотой до pH=5 и полученную смесь экстрагировали EtOAc (2×50 мл). Объединенные органические слои концентрировали с получением 2-(1-трет-бутоксикарбонил-4-пиперидилиден)уксусной кислоты (0,9 г, 3,54 ммоль, выход 95,4%). ЖХ-МС: $[M+Na]^+=264,1$; время удерживания (0,01% ТФУК)=1,75 мин.

Стадия 2.

Раствор этил-4-амино-2-фтор-3-[[2(S)-оксетан-2-ил]метиламино]бензоата (207 мг, 772 мкмоль), 2-(1-трет-бутоксикарбонил-4-пиперидилиден)уксусной кислоты (204,79 мг, 889 мкмоль), T₃P (736,08 мг, 2,31 ммоль) и Et₃N (311,72 мг, 3,09 ммоль) в ДМФА (5 мл), смесь перемешивали при 30° С в течение 16 ч. Выливали полученную смесь в воду и экстрагировали этилацетатом (3×20 мл). Промывали объединенные органические слои рассолом (2×50 мл), сушили над безводным сульфатом натрия, концентрировали и очищали путем хроматографии на силикагеле (элюировали смесью этилацетат/петролейный эфир, об./об., 3/2) с получением трет-бутил-(S)-4-(2-((4-этоксикарбонил)-3-фтор-2-((оксетан-2-илметил)амино)фенил)амино)-2-оксоэтилиден)пиперидин-1-карбоксилата (135 мг, выход 27,4%) в виде желтой маслянистой жидкости. ЖХ-МС: $[M+H]^+=492,3$; время удерживания (0,01% ТФУК)=2,07 мин.

Стадия 3.

Раствор трет-бутил-4-[2-[4-этоксикарбонил-3-фтор-2-[[2(S)-оксетан-2-ил]метиламино]анилино]-2-оксоэтилиден]пиперидин-1-карбоксилата (64 мг, 130 мкмоль) в толуоле (2 мл) перемешивали при 120°C в течение 16 ч. Концентрировали полученную смесь и очищали путем хроматографии на силикагеле (элюировали смесью этилацетат/петролейный эфир, об./об., 4/1) с получением этил-(S)-2-((1-(трет-бутоксикарбонил)пиперидин-4-илиден)метил)-7-фтор-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоксилата (46 мг, выход 74,6%) в виде желтой маслянистой жидкости.

ЖХ-МС: $[M+H]^+=474,3$; время удерживания (0,01% ТФУК)=1,97 мин.

Стадия 4.

К раствору этил-(S)-2-((1-(трет-бутоксикарбонил)пиперидин-4-илиден)метил)-7-фтор-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоксилата (20 мг, 41 мкмоль) в ДХМ (5 мл) добавляли ТФУК (8,5 мг, 75 мкмоль). Перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 2 ч. Полученную смесь концентрировали и доводили до pH ~8 с помощью насыщ. бикарбоната натрия, экстрагировали дихлорметаном, сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали с получением этил-(S)-7-фтор-1-(оксетан-2-илметил)-2-(пиперидин-4-илиденметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоксилата (10 мг, 27

мкмоль, выход 65,8%) в виде желтой маслянистой жидкости. ЖХ-МС: $[M+H]^+$ =374,2; время удерживания (0,1% ТФУК)=0,89 мин.

Стадия 5.

Раствор этил-(S)-7-фтор-1-(оксетан-2-илметил)-2-(пиперидин-4-илиденметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоксилата (40 мг, 107 мкмоль), 6-[(6-бром-2-пиридил)оксиметил]пиридин-3-карбонитрила (31,08 мг, 107 мкмоль), $Pd_2(dba)_3$ (9,8 мг, 11 мкмоль), BINAP (13,3 мг, 21 мкмоль) и CS_2CO_3 (104,8 мг, 321 мкмоль) в толуоле (2 мл) в защитной камере с перчатками перемешивали при 110°C в течение 16 ч. Полученный раствор фильтровали и очищали хроматографией на силикагеле (элюируя смесью этилацетат/петролейный эфир, об./об., 4/1) с получением этил-(S)-2-((1-(6-((5-цианопиридин-2-ил)метокси)пиридин-2-ил)пиперидин-4-илиден)метил)-7-фтор-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоксилат (63 мг, выход 66,6%) в виде желтой маслянистой жидкости.

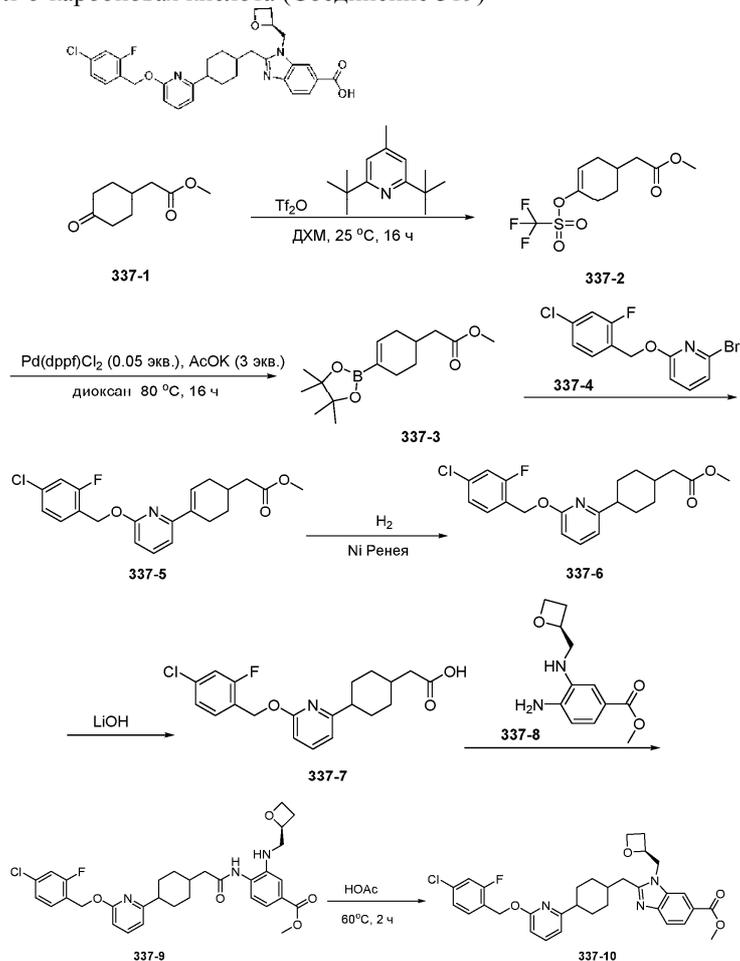
ЖХ-МС: $[M+H]^+$ =583,3; время удерживания (0,1% ТФУК)=1,36 мин.

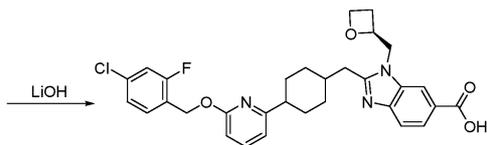
Стадия 6.

Раствор этил-(S)-2-((1-(6-((5-цианопиридин-2-ил)метокси)пиридин-2-ил)пиперидин-4-илиден)метил)-7-фтор-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоксилата (60 мг, 103 мкмоль) и LiOH (0,1 н.) (86,5 мг, 2,06 ммоль) в ТГФ (10 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 6 ч. Полученную смесь нейтрализовали уксусной кислотой до pH=5 и экстрагировали ДХМ/MeOH (об./об.=10/1, 3×10 мл). Объединенные органические слои концентрировали и очищали препаративной ВЭЖХ с получением (S)-2-((1-(6-((5-цианопиридин-2-ил)метокси)пиридин-2-ил)пиперидин-4-илиден)метил)-7-фтор-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновой кислоты (3,7 мг, выход 6,5%) в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+$ =555,2; время удерживания (0,1% ТФУК) = 1,88 мин.

1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-D_6$) δ 8,98 (д, J=1,3 Гц, 1H), 8,26 (дд, J=8,2, 2,1 Гц, 1H), 7,90-7,71 (м, 1H), 7,57 (т, J=7,9 Гц, 2H), 7,48 (т, J=8,0 Гц, 1H), 7,35 (д, J=8,4 Гц, 1H), 6,27 (д, J=8,2 Гц, 1H), 6,16 (д, J=7,7 Гц, 1H), 5,51 (с, 1H), 5,43 (с, 2H), 5,00 (с, 1H), 4,62 (дд, J=15,5, 7,4 Гц, 1H), 4,54-4,39 (м, 2H), 4,34 (дт, J=8,8, 6,0 Гц, 1H), 3,73 (дд, J=25,8, 15,9 Гц, 3H), 2,68 (д, J=6,8 Гц, 2H), 2,39 (дд, J=22,8, 14,1 Гц, 2H), 2,10 (с, 2H).

(S)-2-((4-(6-((4-Хлор-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)циклогексил)метил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 319)





Стадия 1.

Трифторметилсульфонилтрифторметансульфонат (2,39 г, 8,46 ммоль, 1,42 мл) добавляли по каплям к раствору 2,6-дитрет-бутил-4-метилпиридина (2,17 г, 10,58 ммоль) в дихлорметане (16 мл) с последующим добавлением по каплям раствора метил-2-(4-оксоциклогексил)ацетата (1,2 г, 7,05 ммоль) в дихлорметане (16 мл). Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 16 ч, а затем концентрировали с получением метил-2-[4-(трифторметилсульфонилокси)циклогекс-3-ен-1-ил]ацетата (1,48 г, выход 66,1%) в виде бесцветной маслянистой жидкости.

ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 591$, время удерживания (10 мМ NH_4HCO_3)=2,35 мин.

Стадия 2.

Смесь метил-2-[4-(трифторметилсульфонилокси)циклогекс-3-ен-1-ил]ацетата (700 мг, 2,32 ммоль), 4,4,5,5-тетраметил-2-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1,3,2-диоксаборолана (646,9 мг, 2,55 ммоль), $Pd(dppf)Cl_2$ (94,6 мг, 116 мкмоль), ацетат калия (681,84 мг, 6,95 ммоль), $Pd(dppf)Cl_2$ (64,2 мг, 116 мкмоль) в диоксане (1 мл) заменяли в защитной камере с перчатками. Перемешивали реакционную смесь при 80°C в течение 17 ч. Анализ ЖХ-МС указывал на завершение реакции. В реакционную смесь добавляли силикагель (3 г) и упаривали, получая сухой порошок, который очищали через силикагель. Метил-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)циклогекс-3-ен-1-ил]ацетат (546 мг, 1,85 ммоль, выход 80,0%) получали в виде твердого вещества светло-желтого цвета.

ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 280$, время удерживания (0,01% ТФУК)=2,16 мин.

Стадия 3.

Смесь [4-(2-метокси-2-оксоэтил)циклогексен-1-ил]бороновой кислоты (443 мг, 2,13 ммоль), 2-бром-6-[(4-хлор-2-фторфенил)метокси]пиридина (672,8 мг, 2,13 ммоль), карбоната калия (881,2 мг, 6,38 ммоль), $Pd(dppf)Cl_2$ (77,7 мг, 106 мкмоль) в диоксане (6 мл) барботировали азотом в течение 10 мин и затем перемешивали при 80°C в течение 16 ч. Анализ ЖХ-МС указывал, что реакция практически завершена. Метил-2-[4-[6-[(4-хлор-2-фторфенил)метокси]-2-пиридил]циклогекс-3-ен-1-ил]ацетат (361 мг, 833 мкмоль, выход 39,2%) был получен в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 390$; время удерживания (10 ммоль NH_4HCO_3)=2,49 мин.

Стадия 4.

К раствору метил-2-[4-[6-[(4-хлор-2-фторфенил)метокси]-2-пиридил]циклогекс-3-ен-1-ил]ацетата (351 мг, 810 мкмоль) в метаноле (50 мл) добавляли никель Ренея (0,5 г, 5,84 ммоль). Перемешивали реакционную смесь при 20°C в течение 2 ч. Анализ ЖХ-МС указывал на завершение реакции. Реакционную смесь фильтровали через целит, промывали этилацетатом. Фильтрат упаривали при пониженном давлении, получая метил-2-[4-[6-[(4-хлор-2-фторфенил)метокси]-2-пиридил]циклогексил]ацетат (331 мг, 718 мкмоль, выход 88,6%) в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 392$, время удерживания (0,01% ТФУК)=2,42 мин.

Стадия 5.

К раствору метил-2-[4-[6-[(4-хлор-2-фторфенил)метокси]-2-пиридил]циклогексил]ацетата (330 мг, 716 мкмоль) в ТГФ (3 мл) на ледяной бане добавляли по каплям раствор гидрата гидроксида лития (150,2 мг, 3,58 ммоль) в воде (3 мл). Перемешивали реакционную смесь при 50°C в течение 16 ч. 2-[4-[6-[(4-Хлор-2-фторфенил)метокси]-2-пиридил]циклогексил]уксусную кислоту (180 мг, 453 мкмоль, выход 63,2%) получали в виде светло-желтой маслянистой жидкости.

ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 378$; время удерживания (0,01% ТФУК)=2,20 мин.

Стадия 6.

Раствор 2-[4-[6-[(4-хлор-2-фторфенил)метокси]-2-пиридил]циклогексил]уксусной кислоты (137 мг, 344 мкмоль), метил-4-амино-3-[(2S)-оксетан-2-ил]метиламино]бензоата (81,38 мг, 344 мкмоль), 3-гидрокситриазоло[4,5-b]пиридина (56,26 мг, 413 мкмоль), 3-(этилиминометиленамино)-N,N-диметилпропан-1-амин гидрохлорида (79,24 мг, 413 мкмоль) в ДМФА (1 мл) перемешивали при 25°C в течение 1 ч. Анализ ЖХ-МС показал, что реакция завершилась. Разбавляли реакционную смесь рассолом (10 мл) и экстрагировали этилацетатом (3×10 мл). Объединенные органические слои сушили над сульфатом натрия и упаривали при пониженном давлении с получением остатка, который очищали через силикагель, получая трет-бутил-2-[[4-[6-[(4-хлор-2-фторфенил)метокси]-2-пиридил]циклогексил]метил]-3-[[2S)-оксетан-2-ил]метил]бензимидазол-5-карбоксилат (180 мг, выход 80,1%) в виде бесцветной маслянистой жидкости. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 638$, время удерживания (0,01% ТФУК)=2,41 мин.

Стадия 7.

Раствор трет-бутил-4-[[2-[4-[6-[(4-хлор-2-фторфенил)метокси]-2-пиридил]циклогексил]ацетил]амино]-3-[[2S)-оксетан-2-ил]метиламино]бензоата (175 мг, 261 мкмоль) в уксусной кислоте (3 мл) перемешивали при 60°C в течение 2 ч. Анализ ЖХ-МС указывал на завершение реакции. Реакционную смесь

медленно продували азотом до удаления растворителя. Метил-(S)-2-((4-(6-((4-хлор-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)циклогексил)метил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоксилат (127 мг, выход 74,7%) получали в виде светло-желтой маслянистой жидкости. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 620$, время удерживания (0,01% ТФУК)=2,04 мин.

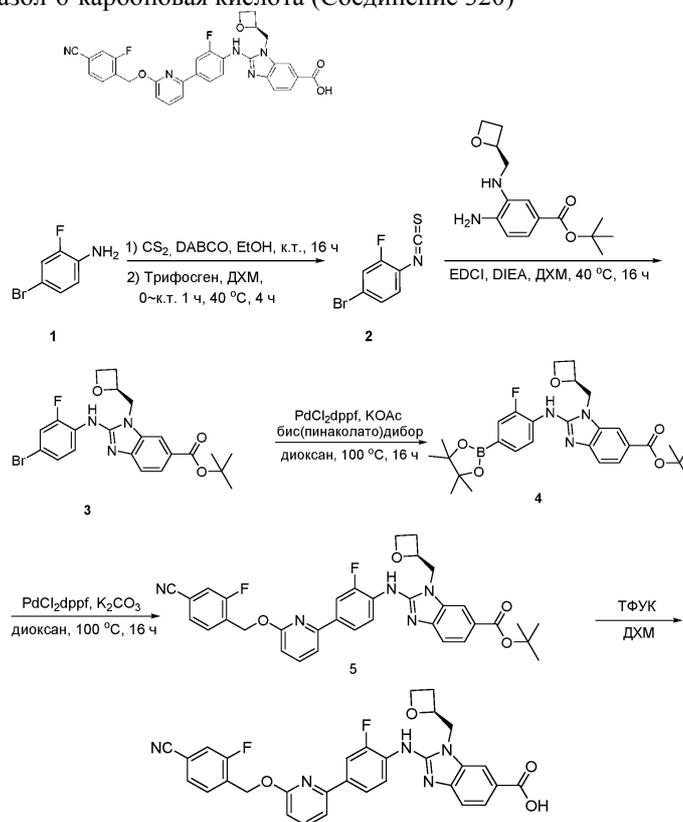
Стадия 8.

Метил-(S)-2-((4-(6-((4-хлор-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)циклогексил)метил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоксилат (122 мг, 187 мкмоль) растворяли в дихлорметане (2 мл) и 2,2,2-трифторуксусной кислоте (21,3 мг, 187 мкмоль). Перемешивали реакционную смесь при 25°C в течение 0,5 ч. Анализ ЖХ-МС указывал на завершение реакции. Растворители полностью удаляли. Остаток подщелачивали насыщ. раствором бикарбоната аммония до pH=5, экстрагировали дихлорметаном (3×10 мл).

Объединенные органические слои сушили над сульфатом натрия и упаривали при пониженном давлении. 2-(((1г,4S)-4-(6-((4-хлор-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)циклогексил)метил)-1-((S)-оксетан-2-ил)метил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота была получена (60 мг, выход 54,1%) в виде коричневого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 564$, время удерживания (0,01% ТФУК)=1,85 мин.

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-D₆) δ 8,68 (с, 1H), 8,20 (с, 1H), 7,87 (д, J=41,1 Гц, 2H), 7,61 (с, 1H), 7,47-7,16 (м, 3H), 7,08 (с, 1H), 6,92 (д, J=36,3 Гц, 1H), 5,48 (с, 2H), 5,09 (д, J=49,3 Гц, 2H), 4,87 (с, 1H), 4,47 (с, 2H), 3,37 (с, 1H), 2,87 (с, 1H), 2,46-2,36 (м, 2H), 2,08 (с, 2H), 1,91 (с, 2H), 1,68(д, J=67,4 Гц, 6H).

(S)-2-((4-(6-((4-Циано-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)-2-фторфенил)амино)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 320)



Стадия 1.

К раствору 4-бром-2-фторанилина (3,8 г, 20,00 ммоль) в этаноле (40 мл) добавляли CS₂ (4,57 г, 60,00 ммоль, 3,60 мл) и DABCO (13,46 г, 120,00 ммоль). Перемешивали реакционную смесь при комнатной температуре в течение ночи. Полученный осадок собирали фильтрованием, промывали ледяным этанолом и сушили с получением бледно-желтого твердого вещества, которое использовали на следующей стадии без дальнейшей характеристики и очистки. К раствору бледно-желтого твердого вещества в ДХМ (50 мл) при 0°C медленно добавляли трифосген (2,97 г, 10,00 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при этой температуре еще 1 ч, а затем нагревали при 40°C в течение 4 ч; реакцию гасили водой. Неочищенный продукт экстрагировали CH₂Cl₂ (3×50 мл), а затем сушили над MgSO₄, концентрировали и остаток очищали колоночной флэш-хроматографией на силикагеле, элюируя петролейным эфиром, с получением 4-бром-2-фтор-1-изотиоцианатобензола (3,6 г, 15,20 ммоль, выход 76,0%). Время удерживания (0,01% ТФУК)=2,26 мин.

Стадия 2.

К суспензии трет-бутил-4-амино-3-[[[(2S)-оксетан-2-ил]метиламино]бензоата (115 мг, 413 мкмоль) в

ДХМ (2 мл) добавляли 4-бром-2-фтор-1-изотиоцианатобензол (108,4 мг, 467 мкмоль), EDCI (89,5 мг, 467 мкмоль) и DIEA (60,3 мг, 467 мкмоль). Перемешивали реакционную смесь при 40°C в течение 16 ч до тех пор, пока ТШХ не покажет завершение реакции. Реакционную смесь упаривали при пониженном давлении и остаток очищали флэш-хроматографией на колонке с силикагелем, элюируя смесью $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (20:1), с получением трет-бутил-(S)-2-((4-бром-2-фторфенил)амино)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоксилата (99 мг, выход 50,3%) в виде бледно-желтого твердого вещества. ЖХ-МС: $[\text{M}+\text{H}]^+=476$; время удерживания (0,01% ТФУК)=2,05 мин.

Стадия 3.

Смесь трет-бутил-(S)-2-((4-бром-2-фторфенил)амино)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоксилата (100 мг, 210 мкмоль), ацетата калия (61,8 мг, 630 мкмоль), бис(пинаколато)дибора (53,3 мг, 210 мкмоль), комплекса $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ с ДХМ (8,6 мг, 11 мкмоль) в безводном диоксане (0,5 мл) перемешивали при 80°C в течение 16 ч. Реакция была завершена, как показывает ЖХ-МС, реакционную смесь фильтровали через слой целита, несколько раз промывали этилацетатом и объединенные органические слои концентрировали в вакууме, получая неочищенный трет-бутил-(S)-2-((2-фтор-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)фенил)амино)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоксилат (109,9 мг, 209,9 мкмоль, выход 82%) в виде черной маслянистой жидкости, которую использовали непосредственно на следующей стадии.

ЖХ-МС: $[\text{M}+\text{H}]^+=524$; время удерживания (0,01% ТФУК)=2,10 мин.

Стадия 4.

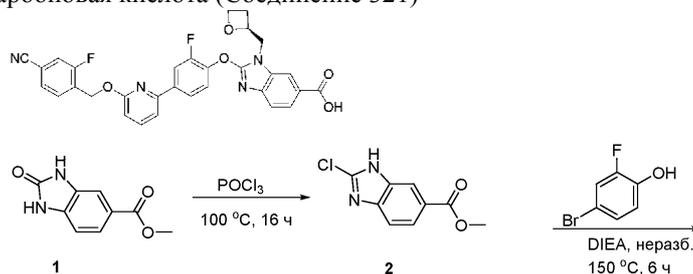
Смесь трет-бутил-(S)-2-((2-фтор-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)фенил)амино)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоксилата (110 мг, 210 мкмоль), 4-[(6-бром-2-пиридил)оксиметил]-3-фторбензонитрила (64,54 мг, 210 мкмоль), комплекса $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ с ДХМ (8,6 мг, 11 мкмоль) и K_2CO_3 (87,1 мг, 630 мкмоль) в диоксане (2 мл) перемешивали в атмосфере N_2 при 80°C в течение 16 ч. Смесь фильтровали и концентрировали в вакууме, получая неочищенный продукт трет-бутил-(S)-2-((4-(6-((4-циано-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)-2-фторфенил)амино)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоксилат (120 мг, выход 91,6%) в виде черной маслянистой жидкости. ЖХ-МС: $[\text{M}+\text{H}]^+=624,1$; время удерживания (0,01% ТФУК)=2,48 мин.

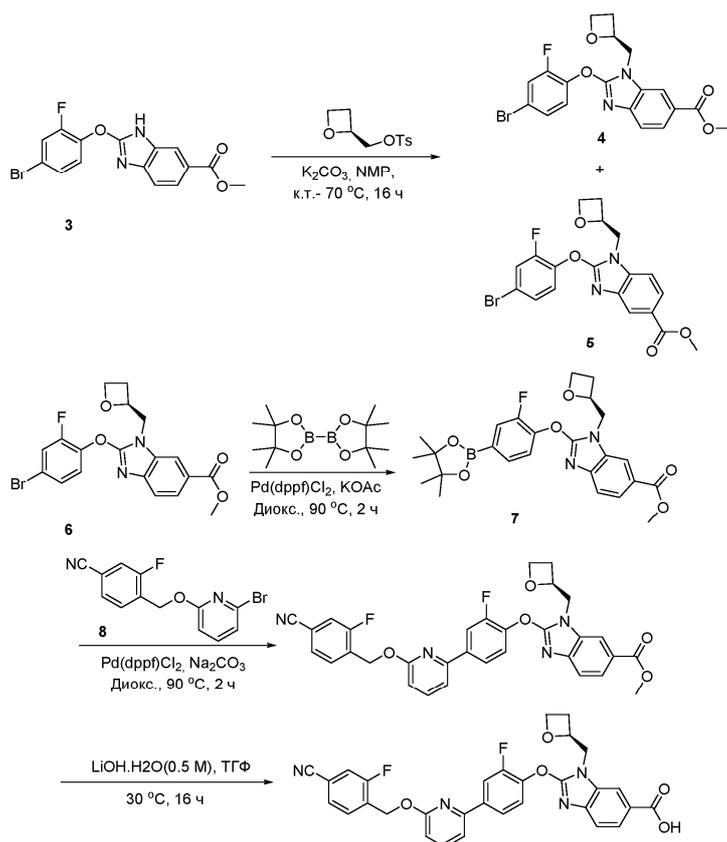
Стадия 5.

К раствору трет-бутил-(S)-2-((4-(6-((4-циано-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)-2-фторфенил)амино)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоксилата (100 мг, 160 мкмоль) в ДХМ (1 мл) медленно добавляли 2,2,2-трифторуксусную кислоту (91,4 мг, 801,7 мкмоль) при 0°C и перемешивали в течение 16 ч при комнатной температуре. После завершения реакции по данным ЖХ-МС реакционную смесь фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный продукт очищали препаративной ВЭЖХ и лиофилизировали с получением (S)-2-((4-(6-((4-циано-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)-2-фторфенил)амино)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновой кислоты (27 мг, выход 29,7%) в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: $[\text{M}+\text{H}]^+=568,1$, время удерживания=1,89 мин.

^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9,36 (1H, c), 8,47 (1H, д, J=8,4), 8,07 (1H, c), 7,96-7,92 (3H, м), 7,90-7,70 (4H, м), 7,63 (1H, д, J=7,5), 7,49 (1H, д, J=8,2), 6,87 (1H, д, J=8,1), 5,63 (2H, c), 5,23 (1H, c), 4,72-4,44 (4H, м), 2,82-2,65 (1H, м), 2,45-2,31 (1H, c).

(S)-2-((4-(6-((4-Циано-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)-2-фторфенокси)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 321)





Стадия 1.

Смесь метил-2-оксо-1,3-дигидробензимидазол-5-карбоксилата (1,6 г, 8,33 ммоль) и фосфорилтрихлорида (25,53 г, 166,52 ммоль, 15,47 мл) перемешивали в течение 3 ч при 100°C, пока реакция не была завершена, как показывает ЖХ-МС, и реакционную смесь концентрировали в вакууме. Остаток охлаждали до 0°C и осторожно добавляли холодный насыщенный водный NaHCO₃ (30 мл). После перемешивания при комнатной температуре в течение 15 мин смесь обрабатывали ультразвуком и полученный остаток фильтровали с получением указанного в заголовке соединения метил-2-хлор-3Н-бензимидазол-5-карбоксилата (1,3 г, выход 67,5%), которое использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ЖХ-МС: [M+H]⁺=211,1; время удерживания (0,01% ТФУК) =1,61 мин.

Стадия 2.

Смесь метил-2-хлор-3Н-бензимидазол-5-карбоксилата (1 г, 4,32 ммоль), 4-бром-2-фторфенола (2,48 г, 12,96 ммоль, 1,42 мл) и N-этил-N-изопропилпропан-2-амина (1,68 г, 12,96 ммоль, 2,26 мл) перемешивали в течение 3 ч при 150°C, пока реакция не завершилась, по данным ЖХ-МС, реакционную смесь концентрировали в вакууме, очищали хроматографией на силикагеле (петролейный эфир/EtOAc, градиент 0-50%) с получением желаемого продукта метил-2-(4-бром-2-фторфенокси)-3Н-бензимидазол-5-карбоксилата (700 мг, выход 36,8%) в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: [M+H]⁺=365,0; время удерживания (0,01% ТФУК)=1,92 мин.

Стадия 3.

Смесь метил-2-(4-бром-2-фторфенокси)-3Н-бензимидазол-5-карбоксилата (843,4 мг, 1,92 ммоль) и карбоната калия (397,4 мг, 2,88 ммоль) в NMP (9 мл) перемешивали в течение 1 ч при комнатной температуре, затем к смеси добавляли [(2S)-оксетан-2-ил]метил-4-метилбензолсульфонат (696,7 мг, 2,88 ммоль) и перемешивали в течение 16 ч при 80°C. Смесь очищали с помощью препаративной ВЭЖХ, получая (продукт 1) метил-2-(4-бром-2-фторфенокси)-3-[[2S)-оксетан-2-ил]метил]бензимидазол-5-карбоксилат (4) (135 мг, 307 мкмоль, выход 16,0%) (NBK0059-76-P2) и (продукт 2) метил-2-(4-бром-2-фторфенокси)-1-[[2S)-оксетан-2-ил]метил]бензимидазол-5-карбоксилат (5) (150 мг, выход 17,6%) (NBK0059-76-P1).

Продукт 1: ЖХ-МС: [M+H]⁺=437,1; время удерживания (0,01% TFA)=1,91 мин. Продукт 2: ЖХ-МС: [M+H]⁺=437,1; время удерживания (0,01% TFA)=1,89 мин.

Стадия 4.

Смесь метил-2-(4-бром-2-фторфенокси)-3-[[2S)-оксетан-2-ил]метил]бензимидазол-5-карбоксилата (4) (85 мг, 195 мкмоль), 4,4,5,5-тетраметил-2-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1,3,2-диоксаборолана (49,6 мг, 195 мкмоль), ацетата калия (38,3 мг, 391 мкмоль) и комплекса [1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен]дихлорпалладия(II) (Pd(dppf)Cl₂) с дихлорметаном (циклопен-

тил(дифенилфосфино);дихлорметан;дихлорпалладий) (16,0 мг, 20 мкмоль) в диоксане (2 мл) перемешивали в течение 2 ч при 90°C до завершения реакции, как показывает ЖХ-МС, и реакционную смесь использовали на следующей стадии без очистки. ЖХ-МС: $[M+H]^+=483,3$; Время удерживания=2,11 мин; (также наблюдали гидролизованную соответствующую бороновую кислоту $[M+H]^+=401,2$; время удерживания=1,63 мин.

Стадия 5.

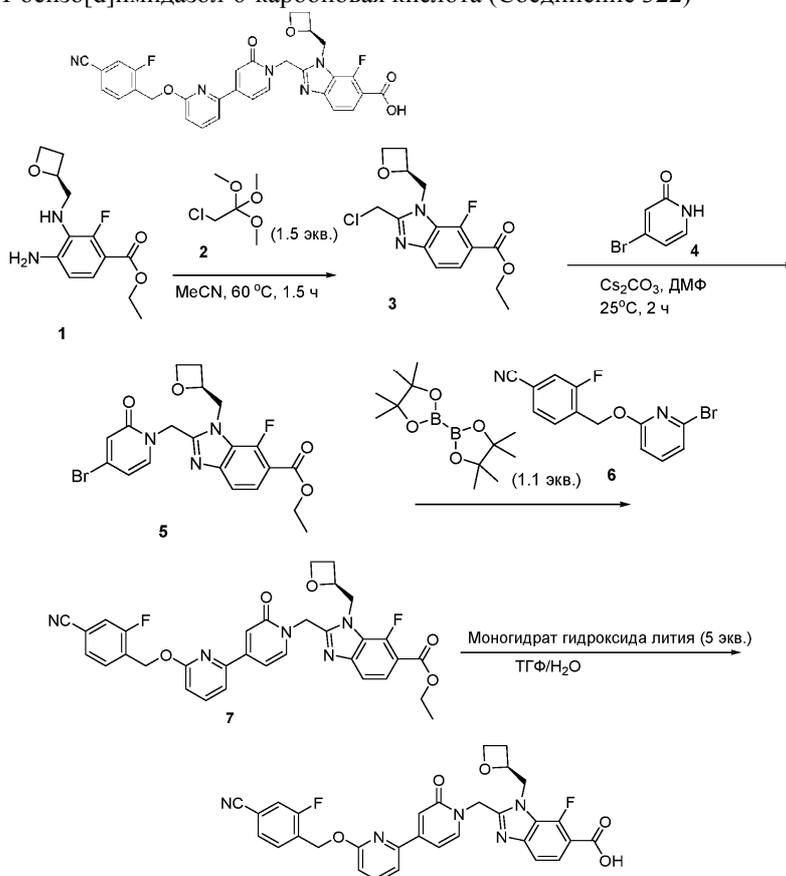
Карбонат натрия (62,0 мг, 585 мкмоль) (2М в воде) и комплекс Pd(dppf)Cl₂ с дихлорметаном (15,92 мг, 20 мкмоль) добавляли к смеси для получения метил-(S)-2-(2-фтор-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)фенокси)-1-(оксетан-2-илметил)-1Н-бензо[d]имидазол-6-карбоксилата, и смесь перемешивали в течение 2 ч при 90°C, пока реакция не завершилась, как показывает ЖХ-МС, реакционную смесь фильтровали через слой целита с EtOAc. Объединенные органические слои концентрировали в вакууме, очищали на колонке с силикагелем (градиент петролейного эфира/EtOAc 0-50%) с получением желаемого продукта метил-(S)-2-(4-(6-((4-циано-2-фторбензил)окси)пиридин-2-ил)-2-фторфенокси)-1-(оксетан-2-илметил)-1Н-бегео[d]имидазол-6-карбоксилата (110 мг, выход 88,2%). ЖХ-МС: $[M+H]^+=583,2$; время удерживания (10 мМ NH₄HCO₃)=2,12 мин.

Стадия 6.

К перемешиваемому раствору метил-2-[4-[6-[(4-циано-2-фторфенил)метокси]-2-пиридил]-2-фторфенокси]-3-[[2(S)-оксетан-2-ил]метил]бензимидазол-5-карбоксилата (100 мг, 156 мкмоль) в ТГФ (5 мл) добавляли гидрат гидроксида лития (0,5 М) (65,6 мг, 1,56 ммоль). Перемешивали реакционную смесь при 30°C в течение 16 ч до завершения реакции, о чем судили по данным ЖХ-МС, подкисляли смесь AcOH до pH ~6 и очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением (S)-2-[[4-[6-[(4-циано-2-фторбензил)окси]пиридил-2-ил]-2-фторфенокси]-1-(оксетан-2-илметил)-1Н-бензо[d]имидазол-6-карбоновой кислоты (34,2 мг, 60 ммоль, выход 38,5%) в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+=669,2$.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-D₆) δ 8,20 (д, J=1,2 Гц, 1H), 8,11 (дд, J=12,1, 2,0 Гц, 1H), 8,01 (д, J=8,4 Гц, 1H), 7,97-7,83 (м, 2H), 7,81-7,67 (м, 5H), 7,46 (д, J=8,4 Гц, 1H), 6,96 (д, J=8,2 Гц, 1H), 5,64 (с, 2H), 5,16 (с, 1H), 4,72-4,41 (м, 3H), 4,33 (дт, J=9,0, 6,0 Гц, 1H), 2,87-2,66 (м, 1H), 2,53 (с, 1H).

(S)-2-((6-((4-Циано-2-фторбензил)окси)-2'-оксо-[2,4'-бипиридин]-1'(2'H)-ил)метил)-7-фтор-1-(оксетан-2-илметил)-1Н-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 322)



Стадия 1.

К раствору этил-4-амино-2-фтор-3-[[2(S)-оксетан-2-ил]метиламино]бензоата (500 мг, 1,77 ммоль), 2-хлор-1,1,1-триметоксиэтана (288,1 мг, 1,77 ммоль) в ацетонитриле (5 мл) добавляли гидрат 4-

метилбензолсульфоновой кислоты (33,7 мг, 177 мкмоль). Реакционную смесь перемешивали при 60°C в течение 1,5 ч. Анализ ЖХ-МС показал, что реакция завершилась. В реакционную смесь добавляли силикагель (1 г), и смесь упаривали при пониженном давлении с получением сухого порошка, который очищали на силикагеле, получая этил-(S)-2-(хлорметил)-7-фтор-1-(оксетан-2-илметил)-1Н-бензо[d]имидазол-6-карбоксилат (600 мг, выход 98,5%) в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+$ =327, время удерживания (10 mM NH₄HCO₃)=1,98 мин.

Стадия 2.

Смесь 4-бром-1Н-пиридин-2-она (124,7 мг, 717 мкмоль), этил-2-(хлорметил)-4-фтор-3-[[2(S)-оксетан-2-ил]метил]бензимидазол-5-карбоксилата (239 мг, 717 мкмоль), карбоната цезия (233,6 мг, 717 мкмоль) в ДМФА (3 мл) перемешивали при 25°C в течение 2 ч. Анализ ЖХ-МС указывал на завершение реакции. Реакционную смесь разбавляли насыщенным раствором хлорида аммония, экстрагировали этилацетатом (3×4 мл). Объединенные органические слои промывали рассолом (3×4 мл), сушили безводным сульфатом натрия и упаривали при пониженном давлении с получением остатка, который очищали на силикагеле (градиент петролейного эфира/EtOAc 50-100%), получая этил-(S)-2-(хлорметил)-7-фтор-1-(оксетан-2-илметил)-1Н-бензо[d]имидазол-6-карбоксилат (320 мг, выход 91,3%) в виде светло-желтой смолы. ЖХ-МС: $[M+H]^+$ =464. Время удерживания (10 mM NH₄HCO₃)=1,96 мин.

Стадия 3.

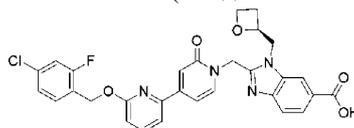
Смесь этил-(S)-2-(хлорметил)-7-фтор-1-(оксетан-2-илметил)-1Н-бензо[d]имидазол-6-карбоксилата (200 мг, 409 мкмоль), 4,4,5,5-тетраметил-2-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1,3,2-диоксаборолана (114,3 мг, 450 мкмоль), ацетата калия (120,5 мг, 1,23 ммоль), хлорида бис(трифенилфосфин)палладия(II) (28,7 мг, 41 мкмоль) в диоксане (5 мл) загружали в атмосфере азота в защитный ящик с перчатками. Перемешивали реакционную смесь при 80°C в течение 4 ч. Анализ ЖХ-МС показал, что реакция завершилась, и реакционную смесь охлаждали и добавляли 4-[(6-бром-2-пиридил)оксиметил]-3-фторбензонитрил (132,3 мг, 409 мкмоль), карбонат калия (169,7 мг, 1,23 ммоль), Pd(dppf)Cl₂ (29,9 мг, 41 мкмоль). Реакционную смесь барботировали азотом в течение 2 мин. Полученную смесь перемешивали при 80°C в течение 16 ч. Анализ ЖХ-МС указывал на завершение реакции. К реакционной смеси добавляли силикагель (2 г) и растворитель удаляли при пониженном давлении, получая сухой порошок, который очищали на силикагеле (элюент: петролейный эфир/этилацетат, градиент 33-100%), получая этил-(S)-2-((6-((4-циано-2-фторбензил)окси)-2'-оксо-[2,4'-бипиридин]-1'(2'Н)-ил)метил)-7-фтор-1-(оксетан-2-илметил)-1Н-бензо[d]имидазол-6-карбоксилат (220 мг, 323,7 мкмоль, выход 79,1%, чистота 90%) в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+$ =612, время удерживания (10 mM NH₄HCO₃)=1,98 мин.

Стадия 4.

К раствору этил-(S)-2-((6-((4-циано-2-фторбензил)окси)-2'-оксо-[2,4'-бипиридин]-1'(2'Н)-ил)метил)-7-фтор-1-(оксетан-2-илметил)-1Н-бензо[d]имидазол-6-карбоксилата (220 мг, 324 мкмоль) в ТГФ (5 мл) добавляли раствор гидрата гидроксида лития (67,9 мг, 1,62 ммоль) в воде (8 мл). Анализ ЖХ-МС указывал на завершение реакции в смеси. Реакционную смесь подкисляли уксусной кислотой до pH=5. Тетрагидрофуран удаляли при пониженном давлении. Водную фазу экстрагировали этилацетатом (3×20 мл). Объединенные органические слои сушили и упаривали при пониженном давлении, получая остаток, который очищали с помощью препаративной ВЭЖХ с получением (S)-2-((6-((4-циано-2-фторбензил)окси)-2'-оксо-[2,4'-бипиридин]-1'(2'Н)-ил)метил)-7-фтор-1-(оксетан-2-илметил)-1Н-бензо[d]имидазол-6-карбоновой кислоты (95,5 мг, выход 49,0%). ЖХ-МС: $[M+H]^+$ =584; время удерживания (0,01% ТФУК)=1,84 мин.

¹Н ЯМР (400 МГц, ДМСО-D₆) δ 8,04-7,84 (м, 3H), 7,79-7,68 (м, 3H), 7,67-7,54 (м, 1H), 7,40 (д, J=8,5 Гц, 1H), 7,09 (д, J=1,7 Гц, 1H), 7,03 (д, J=8,2 Гц, 1H), 6,96 (дд, J=7,2, 1,9 Гц, 1H), 5,50 (дд, J=61,4, 17,0 Гц, 4H), 5,11 (д, J=6,8 Гц, 1H), 4,89 (дд, J=15,5, 7,0 Гц, 1H), 4,73 (д, J=12,8 Гц, 1H), 4,58-4,46 (м, 1H), 4,40 (дд, J=6,1, 2,9 Гц, 1H), 2,86-2,70 (м, 1H), 2,44 (д, J=9,1 Гц, 1H).

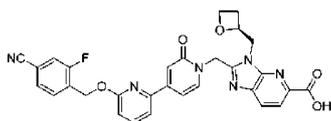
(S)-2-((6-((4-Хлор-2-фторбензил)окси)-2'-оксо-[2,4'-бипиридин]-1'(2'Н)-ил)метил)-1-(оксетан-2-илметил)-1Н-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 323)



Получали аналогично соединению 322. ЖХ-МС: $[M+H]^+$ =575,0, время удерживания=1,52 мин.

¹Н ЯМР (400 МГц, ДМСО-D₆) δ 8,28 (с, 1H), 7,98 (д, J=7,2 Гц, 1H), 7,90-7,86 (м, 1H), 7,82-7,79 (м, 1H), 7,70 (д, J=7,4 Гц, 1H), 7,63-7,59 (м, 2H), 7,50 (дд, J=10,0, 2,0 Гц, 1H), 7,33 (дд, J=8,2, 1,7 Гц, 1H), 7,12-7,11 (м, 1H), 7,01-6,98 (м, 2H), 5,60-5,43 (м, 4H), 5,11-5,07 (м, 1H), 4,88-4,83 (м, 1H), 4,74-4,70 (м, 1H), 4,52-4,47 (м, 1H), 4,39-4,34 (м, 1H), 2,75-2,71 (м, 1H), 2,41-2,36 (м, 1H).

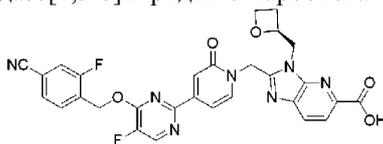
(S)-2-((6-((4-Циано-2-фторбензил)окси)-2'-оксо-[2,4'-бипиридин]-1'(2'Н)-ил)метил)-3-(оксетан-2-илметил)-3Н-имидазо[4,5-b]пиридин-5-карбоновая кислота (Соединение 324)



Получали аналогично соединению 322. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 567,0$, время удерживания=1,40 мин.

1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- D_6-d_6) δ 8,09-8,07 (д, $J=8,0$ Гц, 1H), 7,98-7,96 (т, $J=5,6$ Гц, 2H), 7,93-7,87 (м, 2H), 7,77-7,70 (м, 3H), 7,08-7,02 (м, 2H), 6,97-6,94 (дд, $J_1=7,2$ Гц, $J_2=2,0$ Гц, 1H), 5,67-5,49 (м, 4H), 5,18-5,12 (м, 1H), 4,87-4,81 (м, 1H), 4,74-4,69 (м, 1H), 4,53-4,47 (м, 1H), 4,39-4,33 (м, 1H), 2,77-2,68 (м, 1H), 2,44-2,36 (м, 1H).

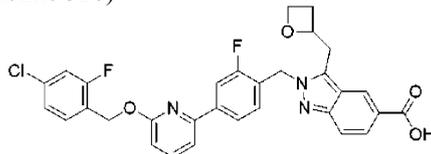
(S)-2-((4-(4-(4-Циано-2-фторбензил)окси)-5-фторпиримидин-2-ил)-2-оксопиридин-1(2H)-ил)метил)-3-(оксетан-2-илметил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-5-карбоновая кислота (Соединение 325)

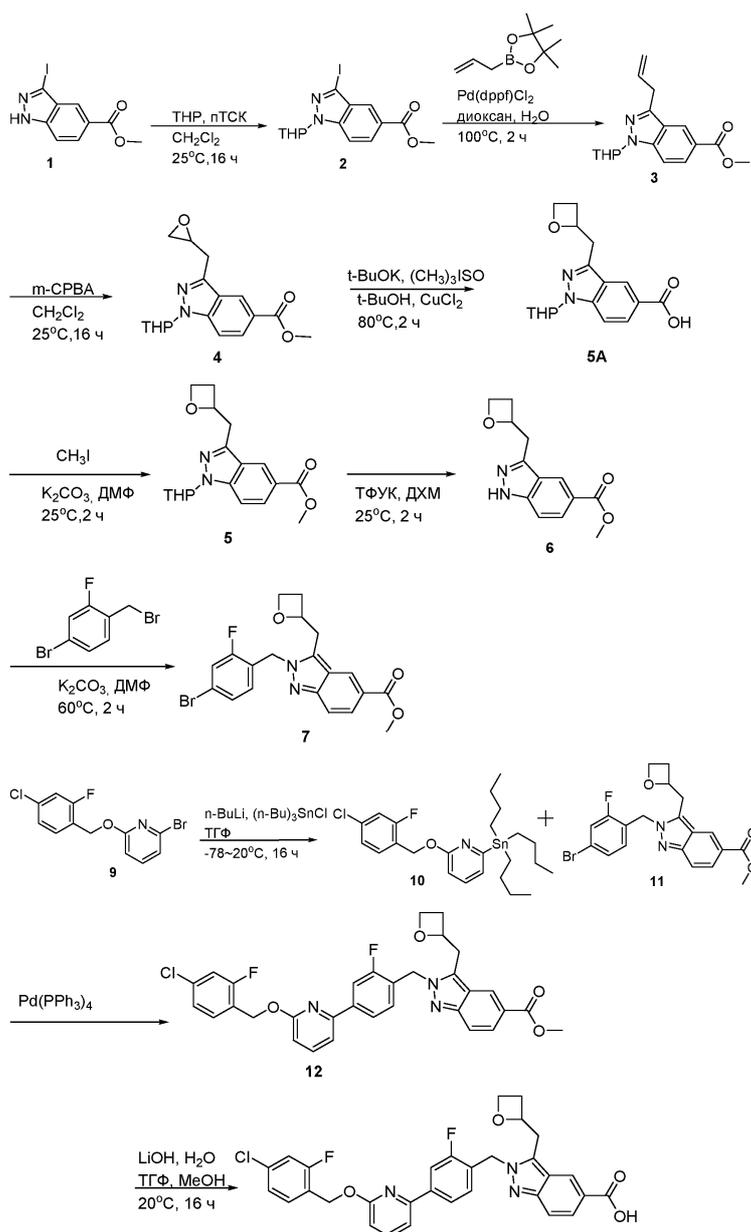


Получали аналогично соединению 322. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 586,2$, время удерживания=1,18 мин.

1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- D_6) δ 8,85 (д, $J=2,8$ Гц, 1H), 8,10-7,93 (м, 4H), 7,88-7,73 (м, 2H), 7,29 (д, $J=1,8$ Гц, 1H), 7,11 (дд, $J=7,1, 1,9$ Гц, 1H), 5,79 (ушир.с, 2H), 5,68 (д, $J=16,1$ Гц, 1H), 5,53 (д, $J=16,1$ Гц, 1H), 5,22-5,09 (м, 1H), 4,84 (дд, $J=15,0, 6,2$ Гц, 1H), 4,71 (дд, $J=15,0, 3,2$ Гц, 1H), 4,50 (дд, $J=13,8, 7,6$ Гц, 1H), 4,36 (дт, $J=8,9, 6,0$ Гц, 1H), 2,78-2,64 (м, 1H), 2,44-2,31 (м, 1H).

2-(4-(6-(4-Хлор-2-фторбензилокси)пиридин-2-ил)-2-фторбензил)-3-(оксетан-2-илметил)-2H-индазол-5-карбоновая кислота (Соединение 326)





Стадия 1.

Смесь 3,4-дигидро-2H-пирана (327,19 мг, 3,89 ммоль), метил-3-иод-3а,7а-дигидро-1H-индазол-5-карбоксилата (1,18 г, 3,89 ммоль), гидрата 4-метилбензолсульфоновой кислоты (739,9 мг, 3,89 ммоль) в ДХМ (50 мл) перемешивали в течение 12 ч при 30°C в атмосфере N_2 до завершения реакции по данным ЖХ-МС, реакционную смесь выливали в воду и экстрагировали EtOAc , и объединенные органические слои концентрировали в вакууме, очищали хроматографией на силикагеле (гексаны/ EtOAc =10:1) с получением желаемого продукта метил-3-иод-1-тетрагидропиран-2-ил-3а,7а-дигидроиндазол-5-карбоксилата (0,9 г, выход 59,6%) в виде бледно-желтого твердого вещества. ЖХ-МС: $[\text{M}+\text{H}]^+=387$, время удерживания=2,00 мин.

Стадия 2.

Смесь 2-аллил-4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолана (300 мг, 1,79 ммоль), метил-3-иод-1-тетрагидропиран-2-илиндазол-5-карбоксилата (300 мг, 777 мкмоль), $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ (10 мг) и карбоната натрия (300,0 мг, 2,83 ммоль) в воде (1 мл) и диоксане (4 мл) перемешивали в течение 2 ч при 100°C в атмосфере N_2 , за реакционной смесью следили с помощью ЖХ-МС. Фильтровали реакционную смесь через слой целита с EtOAc и промывали водой, объединенный органический остаток концентрировали в вакууме, очищали путем хроматографии на силикагеле (гексаны/ EtOAc =10:1) с получением целевого продукта метил-3-аллил-1-тетрагидропиран-2-илиндазол-5-карбоксилата (170 г, выход 72,9%) в виде бледно-желтого твердого вещества. ЖХ-МС: $[\text{M}+\text{H}]^+=301$, время удерживания=2,14 мин.

Стадия 3.

Смесь 3-хлорбензолкарбопероксоевой кислоты (2,76 г, 15,98 ммоль), метил-3-аллил-1-тетрагидропиран-2-илиндазол-5-карбоксилата (2,4 г, 7,99 ммоль) в ДХМ (20 мл) перемешивали в течение

16 ч при 20°C в атмосфере N₂, за реакционной смесью следили с помощью ЖХ-МС. Фильтровали реакционную смесь через слой целита с EtOAc и концентрировали объединенный органический остаток в вакууме, очищали путем хроматографии на силикагеле (гексаны/EtOAc=5:1) с получением целевого продукта метил-3-(оксиран-2-илметил)-1-тетрагидропиран-2-илиндазол-5-карбоксилата (1,4 г, выход 55,4%) в виде бледно-желтого твердого вещества. ЖХ-МС: [M+H]⁺=317, время удерживания=1,78 мин.

Стадия 4.

Смесь йодметана (3,48 г, 15,81 ммоль), 2-метилпропан-2-олата калия (1,77 г, 15,81 ммоль) и метил-3-(оксиран-2-илметил)-1-тетрагидропиран-2-илиндазол-5-карбоксилата (500 мг, 1,58 ммоль, 280,37 мл), дихлорида меди (21,3 мг, 158 мкмоль) в т-BuOH (50 мл) перемешивали на масляной бане при 80°C в течение 2 ч, за реакцией следили по ЖХ-МС. Доводили реакционную смесь до pH=1 с помощью HCl, водный слой экстрагировали DCM, сушили над Na₂SO₄, концентрировали и очищали препаративной ВЭЖХ с получением желаемого продукта 3-(оксетан-2-илметил)-1-тетрагидропиран-2-илиндазол-5-карбоновой кислоты (200 мг, выход 24,0%) в виде бледно-желтого твердого вещества. ЖХ-МС: [M+H]⁺=317, время удерживания=1,47 мин.

Стадия 5.

Смесь 3-(оксетан-2-илметил)-1-тетрагидропиран-2-илиндазол-5-карбоновой кислоты (30 мг, 94,8 мкмоль), йодметана (14,8 мг, 104,3 мкмоль, 6,5 мкл, чистота 100%) и карбоната калия (39,3 мг, 284,5 мкмоль, 17,2 мкл, чистота 100%) в ДМФА (5 мл) перемешивали в течение 1 ч при 25°C в круглодонной колбе в атмосфере N₂, пока реакция не завершилась, как показывает ЖХ-МС, реакционную смесь фильтровали через слой целита с EtOAc и объединенные органические слои концентрировали в вакууме, очищали хроматографией на силикагеле с получением желаемого продукта метил-3-(оксетан-2-илметил)-1-тетрагидропиран-2-илиндазол-5-карбоксилата (22 мг, 47,8 мкмоль, выход 50,4%, чистота 71,8%) в виде бесцветной маслянистой жидкости. ЖХ-МС: [M+H]⁺=331,1; время удерживания (0,01% ТФУК)=1,82 мин.

Стадия 6.

Смесь метил-3-(оксетан-2-илметил)-1-тетрагидропиран-2-илиндазол-5-карбоксилата (120 мг, 363 мкмоль), 2,2,2-трифторуксусной кислоты (1,48 г, 12,98 ммоль, 1 мл) в ДХМ (2 мл) перемешивали при 20°C в течение 2 ч, реакцию контролировали с помощью ЖХ-МС. Реакционную смесь концентрировали с получением желаемого продукта метил-3-(оксетан-2-илметил)-1Н-индазол-5-карбоксилата (100 мг, выход 89,4%) в виде твердого вещества бледно-желтого цвета. ЖХ-МС: [M+H]⁺=247, время удерживания=1,47 мин.

Стадия 7.

Смесь метил-3-(оксетан-2-илметил)-1Н-индазол-5-карбоксилата (100 мг, 406 мкмоль), 4-бром-1-(бромметил)-2-фторбензола (108,8 мг, 406 мкмоль) и карбоната калия (168,4 мг, 1,22 ммоль) в ДМФА (10 мл) перемешивали на масляной бане при 60°C в течение 2 ч, за реакцией следили с помощью ЖХ-МС. Фильтровали реакционную смесь через слой целита с EtOAc и концентрировали объединенный органический остаток в вакууме, очищали путем хроматографии на силикагеле (гексаны/EtOAc=5:1) с получением целевого продукта метил-1-[(4-бром-2-фторфенил)метил]-3-(оксетан-2-илметил)индазол-5-карбоксилата (80 мг, выход 45,5%) в виде твердого вещества бледно-желтого цвета. ЖХ-МС: [M+H]⁺=433, время удерживания=1,47 мин.

Стадия 8.

Смесь 2-бром-6-[(4-хлор-2-фторфенил)метокси]пиридина (1,6 г, 5,05 ммоль), бутиллития (356,14 мг, 5,56 ммоль, 2,5 мл) и трибутилхлорстаннана (1,97 г, 6,07 ммоль, 1,65 мл) в ТГФ (10 мл) перемешивали в течение 16 ч при 30°C в атмосфере N₂, за реакционной смесью следили с помощью ЖХ-МС. Реакционную смесь выливали в воду и экстрагировали EtOAc и объединенные органические слои концентрировали в вакууме, очищали хроматографией на силикагеле (гексаны/EtOAc=10:1) с получением желаемого продукта трибутил-[6-[(4-хлор-2-фторфенил)метокси]-2-пиридил]станнана (300 мг, выход 18,8%) в виде бледно-желтого твердого вещества. ЖХ-МС: [M+H]⁺=528, время удерживания=2,14 мин.

Стадия 9.

Смесь трибутил-[6-[(4-хлор-2-фторфенил)метокси]-2-пиридил]станнана (60,8 мг, 115 мкмоль), метил-2-[(4-бром-2-фторфенил)метил]-3-(оксетан-2-илметил)индазол-5-карбоксилата (50 мг, 115 мкмоль) и Pd(PPh₃)₄ (115 мкмоль) в ДМФА (1 мл) перемешивали в течение 2 ч при 130°C. в атмосфере N₂, за реакционной смесью следили с помощью ЖХ-МС. Фильтровали реакционную смесь через слой целита с EtOAc и концентрировали объединенный органический остаток в вакууме, очищали путем хроматографии на силикагеле (гексаны/EtOAc=2:1) с получением целевого продукта метил-2-[[4-[6-[(4-хлор-2-фторфенил)метокси]-2-пиридил]-2-фторфенил]метил]-3-(оксетан-2-илметил)индазол-5-карбоксилата (50 г, 73,4 ммоль, выход 95,4%) в виде бледно-желтого твердого вещества. ЖХ-МС: [M+H]⁺=590, время удерживания=1,99 мин.

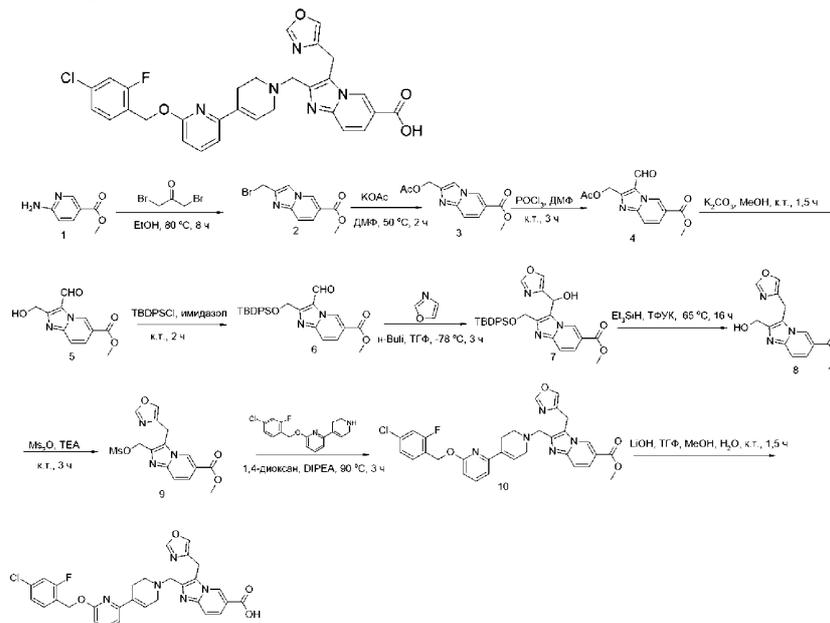
Стадия 10.

Смесь метил-2-[[4-[6-[(4-хлор-2-фторфенил)метокси]-2-пиридил]-2-фторфенил]метил]-3-(оксетан-2-илметил)индазол-5-карбоксилата (50 мг, 84,7 мкмоль), гидрата гидроксида лития (400 мг, 9,53 ммоль) в

ТГФ (2 мл), метаноле (2 мл) и воде (2 мл) перемешивали в течение 2 ч при 25°C в атмосфере N₂, за реакционной смесью следили с помощью ЖХ-МС. ЖХ-МС показывал завершение реакции. Доводили реакционную смесь до pH=1 с помощью HCl, экстрагировали ДХМ и объединенные органические слои концентрировали в вакууме после очистки препаративной ВЭЖХ с получением желаемого продукта 1-[[4-[6-[(4-хлор-2-хлорфенил)метокси]-2-пиридил]-2-фторфенил]метил]-3-(оксетан-2-илметил)индазол-5-карбоновой кислоты (20,3 мг, 35 мкмоль, выход 41,6%). ЖХ-МС: [M+H]⁺=576, время удерживания=1,50 мин.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8,66 (с, 1H), 8,13 (ддд, J=10,3, 7,0, 1,3 Гц, 2H), 7,60 (ддд, J=8,4, 7,1, 2,0 Гц, 1H), 7,45 (дд, J=8,3, 6,6 Гц, 2H), 7,28 (д, J=1,1 Гц, 1H), 7,19-7,00 (м, 3H), 6,90 (ддд, J=7,1, 5,1, 0,9 Гц, 1H), 6,80 (д, J=8,4 Гц, 1H), 5,69 (с, 2H), 5,43 (с, 2H), 5,38-5,24 (м, 1H), 4,74-4,61 (м, 1H), 4,59-4,45 (м, 1H), 3,47 (ддд, J=32,1, 14,5, 6,2 Гц, 2H), 2,72 (д, J=5,6 Гц, 1H), 2,57 (д, J=8,9 Гц, 1H).

2-((6-((4-Хлор-2-фторбензил)окси)-3',6'-дигидро-[2,4'-бипиридин]-1'(2'H)-ил)метил)-3-(оксазол-4-ил-метил)имидазо[1,2-а]пиридин-6-карбоновая кислота (Соединение 327)



Стадия 1.

Смесь метил-6-аминопиридин-3-карбоксилата (17,62 мг, 115,81 ммоль), 1,3-дибромпропан-2-она (25 г, 115,81 ммоль) в EtOH (400 мл) перемешивали в течение 12 ч при 80°C в атмосфере N₂ до тех пор, пока анализ ЖХ-МС не указывал на завершение реакции, к реакционной смеси добавляли NaHCO₃ и фильтровали через слой целита с использованием EtOAc, и концентрировали объединенные органические слои в вакууме, очищали путем хроматографии на силикагеле (гексаны:EtOAc=12:1) с получением целевого продукта метил-2-(бромметил)имидазо[1,2-а]пиридин-6-карбоксилата (5,2 мг, выход 16,7%) в виде бледно-желтого твердого вещества. ЖХ-МС: [M+H]⁺=269,0; время удерживания (0,01% ТФУК)=0,99 мин.

Стадия 2.

Смесь метил-2-(бромметил)имидазо[1,2-а]пиридин-6-карбоксилата (6,9 г, 25,64 ммоль) и ацетата калия (7,55 г, 76,92 ммоль, 4,81 мл) в ДМФА (150 мл) перемешивали в течение 2 ч при 50°C в атмосфере N₂ до тех пор, пока анализ ЖХ-МС не указывал на завершение реакции, фильтровали реакционную смесь через слой целита с использованием EtOAc и концентрировали объединенные органические слои в вакууме, очищали путем хроматографии на силикагеле (гексаны/EtOAc=5:1) с получением целевого продукта метил-2-(ацетоксиметил)имидазо[1,2-а]пиридин-6-карбоксилата (5,8 г, выход 91,1%) в виде бледно-желтого твердого вещества. ЖХ-МС: [M+H]⁺=249,1; время удерживания (0,01% ТФУК)=0,95 мин.

Стадия 3.

Смесь фосфорилтрихлорида (11,74 г, 76,54 ммоль) в ДМФА (50 мл) перемешивали в течение 0,5 ч при 0°C в атмосфере N₂, затем добавляли метил-2-(ацетоксиметил)имидазо[1,2-а]пиридин-6-карбоксилат (3,8 г, 15,31 ммоль) и смесь перемешивали в течение 2 ч при комнатной температуре до завершения реакции по данным ЖХ-МС, реакционную смесь фильтровали через слой целита с EtOAc и объединенные органические вещества концентрировали под вакуумом, очищали хроматографией на силикагеле (гексаны/EtOAc=6:1) с получением желаемого продукта метил-2-(ацетоксиметил)-3-формилимидазо[1,2-а]пиридин-6-карбоксилата (2,4 г, выход 56,78%) в виде бледно-желтого твердого вещества. ЖХ-МС: [M+H]⁺=277,2; время удерживания (0,01% ТФУК)=1,58 мин.

Стадия 4.

Смесь метил-2-(ацетоксиметил)-3-формилимидазо[1,2-а]пиридин-6-карбоксилата (2,4 г, 8,69 ммоль) и карбоната калия (1,80 г, 13,03 ммоль) в MeOH (50 мл) перемешивали в течение 1,5 ч при комнатной

температуре в атмосфере N_2 до тех пор, пока анализ ЖХ-МС не указывал на завершение реакции, реакционную смесь фильтровали через слой целита с использованием ДХМ и объединенные органические слои концентрировали в вакууме, очищали путем хроматографии на силикагеле (гексаны/ $EtOAc=2:1$) с получением целевого продукта 3-формил-2-(гидроксиметил)имидазо[1,2-а]пиридин-6-карбоксилата (2,1 г, выход 87,7%) в виде бледно-желтого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+=235,1$; время удерживания (0,01% ТФУК) = 1,08 мин.

Стадия 5.

Перемешивали смесь 3-формил-2-(гидроксиметил)имидазо[1,2-а]пиридин-6-карбоксилата (2,1 г, 8,97 ммоль), трет-бутилхлордифенилсилана (2,96 г, 10,76 ммоль, 2,76 мл) и имидазола (1,83 г, 26,90 ммоль) в ДХМ (40 мл) в течение 2 ч при комнатной температуре в атмосфере N_2 до тех пор, пока анализ ЖХ-МС не указывал на завершение реакции, фильтровали реакционную смесь через слой целита с использованием $EtOAc$ и объединенные органические слои концентрировали в вакууме, очищали путем хроматографии на силикагеле (гексаны/ $EtOAc=8:1$) с получением целевого продукта метил-2-[[трет-бутил(дифенил)силил]оксиметил]-3-формиламидазо[1,2-а]пиридин-6-карбоксилата (5,8 г, выход 89,0%) в виде бледно-желтого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+=473,0$; время удерживания (0,01% ТФУК) = 2,36 мин.

Стадия 6.

Смесь оксазола (1,46 г, 21,16 ммоль) бутиллития (1,08 г, 16,93 ммоль) в ТГФ (30 мл) перемешивали в течение 0,5 ч при $-78^\circ C$ в атмосфере N_2 , затем добавляли метил-2-[[трет-бутил(дифенил)силил]оксиметил]-3-формиламидазо[1,2-а]пиридин-6-карбоксилат (1 г, 2,12 ммоль) и полученную смесь дополнительно перемешивали в течение 2 ч при $-78^\circ C$ в атмосфере N_2 до завершения реакции по данным ЖХ-МС. Фильтровали реакционную смесь через слой целита с использованием $EtOAc$ и концентрировали объединенный органический остаток в вакууме, очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением целевого продукта метил-2-[[трет-бутил(дифенил)силил]оксиметил]-3-(оксазол-4-илметил)имидазо[1,2-а]пиридин-6-карбоксилата (500 г, выход 45,0%) в виде беловатого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+=542,0$; время удерживания (0,01% ТФУК) = 1,75 мин.

Стадия 7.

Смесь метил-2-[[трет-бутил(дифенил)силил]оксиметил]-3-[гидрокси(оксазол-4-ил)метил]имидазо[1,2-а]пиридин-6-карбоксилата (800 мг, 1,48 ммоль), триэтилсилана (1,72 г, 14,77 ммоль, 2,36 мл) в ТФУК (20 мл) перемешивали в течение 16 ч при $65^\circ C$ в атмосфере N_2 до завершения реакции по данным ЖХ-МС. Реакционную смесь концентрировали и нейтрализовали $NaHCO_3$ и полученный остаток растворяли в ДХМ, фильтровали через слой целита с ДХМ и $MeOH$ и объединенные органические слои концентрировали в вакууме с получением желаемого продукта метил-2-(гидроксиметил)-3-(оксазол-4-илметил)имидазо[1,2-а]пиридин-6-карбоксилата (105 мг, выход 24,8%) в виде бледно-желтой маслянистой жидкости. ЖХ-МС: $[M+H]^+=288,0$, время удерживания = 1,30 мин.

Стадия 8.

К перемешиваемому раствору метил-2-(гидроксиметил)-3-(оксазол-4-илметил)имидазо[1,2-а]пиридин-6-карбоксилата (30 мг, 104 мкмоль) в ДХМ (10 мл) добавляли, метансульфоновый ангидрид (21,8 мг, 125 мкмоль), ТЕА (31,7 мг, 313 мкмоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч и после завершения реакции по данным ТСХ смесь разбавляли ДХМ (50 мл) и нагревали до комнатной температуры. Разделяли слои и водный слой экстрагировали ДХМ (2×50 мл). Объединенные органические фазы промывали рассолом (50 мл) и сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали в вакууме с получением метил-2-(метилсульфонилоксиметил)-3-(оксазол-4-илметил)имидазо[1,2-а]пиридин-6-карбоксилата (30 мг, выход 51,5%) в виде светло-желтой жидкости. ЖХ-МС: $[M+H]^+=366,0$; время удерживания (10 мМ NH_4HCO_3) = 1,38 мин.

Стадия 9.

Смесь метил-2-(бромметил)-3-(оксазол-4-илметил)имидазо[1,2-а]пиридин-6-карбоксилата (115,0 мг, 49 мкмоль), 2-[(4-хлор-2-фторфенил)метокси]-6-(1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)пиридина (18,8 мг, 59 мкмоль), N-этил-N-изопропилпропан-2-амина (31,8 мг, 246 мкмоль) в 1,4-диоксане (12 мл) перемешивали в течение 1,5 ч при $95^\circ C$ в атмосфере N_2 до завершения реакции по данным ЖХ-МС. Фильтровали реакционную смесь через слой целита с $EtOAc$ и концентрировали объединенные органические вещества в вакууме, очищали путем хроматографии на силикагеле (ДХМ: $MeOH=20:1$) с получением целевого продукта метил-2-[[4-[6-[(4-хлор-2-фторфенил)метокси]-2-пиридил]-3,6-дигидро-2Н-пиридин-1-ил]метил]-3-(оксазол-4-илметил)имидазо[1,2-а]пиридин-6-карбоксилата (10 мг, выход 34,5%) в виде бледно-желтой маслянистой жидкости. ЖХ-МС: $[M+H]^+=588,0$; время удерживания (0,01% ТФУК) = 2,12 мин.

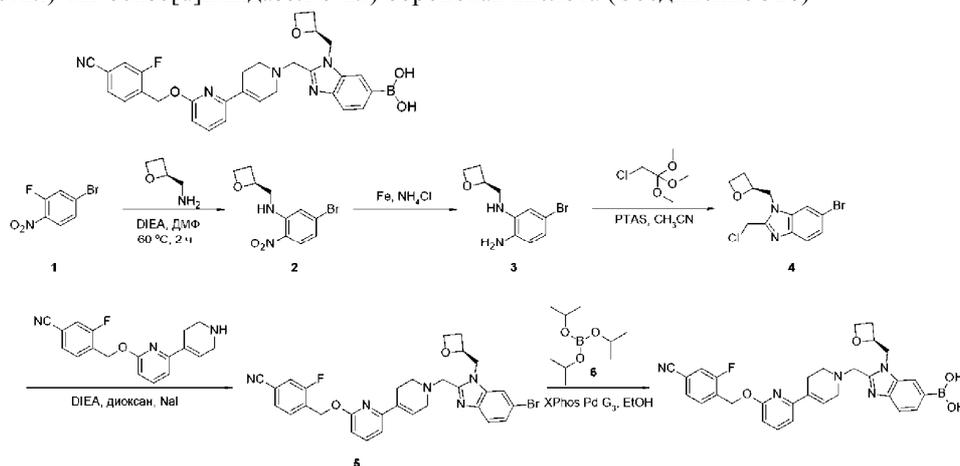
Стадия 10.

Смесь метил-2-[[4-[6-[(4-хлор-2-фторфенил)метокси]-2-пиридил]-3,6-дигидро-2Н-пиридин-1-ил]метил]-3-(оксазол-4-илметил)имидазо[1,2-а]пиридин-6-карбоксилата (10 мг, 17 мкмоль), гидроксида лития (1,2 мг, 51 мкмоль) в $MeOH$ (1 мл), H_2O (3 мл) и ТГФ (3 мл) перемешивали в течение 2 ч при комнатной температуре в атмосфере N_2 до завершения реакции по данным ЖХ-МС. Фильтровали реакционную смесь через слой целита с $EtOAc$ и концентрировали объединенный органический остаток в вакууме,

очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением целевого продукта 2-[[4-[6-[(4-хлор-2-фторфенил)метокси]-2-пиридил]-3,6-дигидро-2Н-пиридин-1-ил]метил]-3-(оксазол-4-илметил)имидазо[1,2-а]пиридин-6-карбоновой кислоты (2 мг, выход 20,5%) в виде беловатого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 574,1$, время удерживания=1,56 мин.

1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- D_6) δ 8,79-8,78 (ушир.с, 1H), 8,02 (т, $J=1,2$ Гц, 1H), 7,74-7,64 (м, 2H), 7,51 (дд, $J=12,8, 12,0, 5,1$ Гц, 3H), 7,30 (дд, $J=8,2, 1,8$ Гц, 1H), 7,09 (д, $J=0,7$ Гц, 1H), 7,04 (д, $J=7,4$ Гц, 1H), 6,76-6,62 (м, 2H), 5,39 (с, 2H), 4,76 (с, 2H), 3,82 (с, 2H), 3,18-3,17 (ушир.с, 2H), 2,66 (т, $J=5,5$ Гц, 2H), 2,40-2,39 (ушир.с, 2H).

(S)-(2-((6-((4-циано-2-фторбензил)окси)-3',6'-дигидро-[2,4'-бипиридин]-1'(2'Н)-ил)метил)-1-(оксетан-2-илметил)-1Н-бензо[d]имидазол-6-ил) бороновая кислота (Соединение 328)



Стадия 1.

Смесь 4-бром-2-фтор-1-нитробензола (2 г, 9,09 ммоль), 4-метилбензолсульфоновой кислоты, [(2S)-оксетан-2-ил]метанамина (2,36 г, 9,09 ммоль), N,N-диэтилэтанамина (4,60 г, 45,46 ммоль) в ДМФА (50 мл) перемешивали в течение 2 ч при 60°C в атмосфере N_2 до завершения реакции по данным ЖХ-МС. Фильтровали реакционную смесь через слой целита с EtOAc и концентрировали объединенный органический остаток в вакууме, очищали путем хроматографии на силикагеле с получением целевого продукта 5-бром-2-нитро-N-[[2(S)-оксетан-2-ил]метил]анилина (2,42 г, 7,58 ммоль, выход 83,4%, чистота 89,8%) в виде твердого вещества желтого цвета. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 289,0$; время удерживания (0,01% ТФУК)=1,72 мин.

Стадия 2.

Смесь 5-бром-2-нитро-N-[[2(S)-оксетан-2-ил]метил]анилина (2,42 г, 8,44 ммоль), железа (3,77 г, 67,54 ммоль) и гидрохлорида аммония (3,61 г, 67,54 ммоль) в этаноле (16 мл) и воде (4 мл) перемешивали в течение 1,5 ч при 80°C в круглодонной колбе в атмосфере N_2 до тех пор, пока анализ ЖХ-МС не указывал на завершение реакции, фильтровали реакционную смесь через слой целита с использованием EtOAc и объединенные органические слои концентрировали в вакууме, очищали путем хроматографии на силикагеле с получением целевого продукта 4-бром-N2-[[2(S)-оксетан-2-ил]метил]бензол-1,2-диамина (1,44 г, 5,56 ммоль, выход 65,8%, чистота 99,5%) в виде маслянистой жидкости коричневого цвета. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 259,1$; время удерживания (0,01% ТФУК)=1,16 мин.

Стадия 3.

Смесь 4-бром-N2-[[2(S)-оксетан-2-ил]метил]бензол-1,2-диамина (1,4 г, 5,44 ммоль), 2-хлор-1,1,1-триметоксиэтана (925,9 мг, 5,99 ммоль) и гидрата 4-метилбензолсульфоновой кислоты (103,6 мг, 544,5 мкмоль) в ацетонитриле (ACN) (30 мл) перемешивали в течение 1 ч при 60°C в атмосфере N_2 до завершения реакции по данным ЖХ-МС, реакционную смесь фильтровали через слой целита с EtOAc и объединенные органические слои концентрировали в вакууме, очищали хроматографией на силикагеле с получением желаемого продукта 6-бром-2-((хлорметил)-1-[[2(S)-оксетан-2-ил]метил]бензимидазола (1,04 г, 2,37 ммоль, выход 43,6%) в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 317,0$; время удерживания (0,01% ТФУК)=1,45 мин.

Стадия 4.

Перемешивали смесь 6-бром-2-((хлорметил)-1-[[2(S)-оксетан-2-ил]метил]бензимидазола (500 мг, 1,58 ммоль), 3-фтор-4-[[6-(1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-2-пиридил]оксиметил]бензонитрила (735,1 мг, 2,38 ммоль), N-этил-N-изопропилпропан-2-амина (1,43 г, 11,09 ммоль) и дигидрата йодида натрия (28,8 мг, 158,4 ммоль) в диоксане (20 мл) в течение 16 ч при 90°C в круглодонной колбе в атмосфере N_2 до тех пор, пока анализ ЖХ-МС не указывал на завершение реакции, фильтровали реакционную смесь через слой целита с использованием EtOAc и концентрировали объединенные органические слои в вакууме, очищали путем хроматографии на силикагеле с получением целевого продукта 4-[[6-[1-[[6-бром-1-[[2(S)-оксетан-2-ил]метил]бензимидазол-2-ил]метил]-3,6-дигидро-2Н-пиридин-4-ил]-2-

пиридил]оксиметил]-3-фторбензонитрила (800 мг, 869,65 ммоль, выход 54,9%) в виде белого твердого вещества.

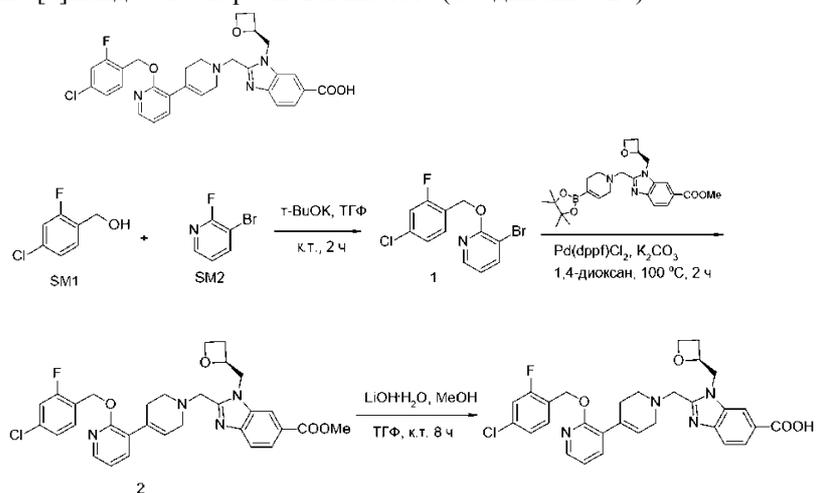
ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 588,0$; время удерживания (10 mM NH_4HCO_3)=1,82 мин.

Стадия 5.

Раствор 4-[[6-[1-[[6-бром-1-[[[(2S)-оксетан-2-ил]метил]бензимидазол-2-ил]метил]-3,6-дигидро-2H-пиридин-4-ил]-2-пиридил]оксиметил]-3-фторбензонитрила (20 мг, 33,99 мкмоль) и гипоборной кислоты (9,1 мг, 102 мкмоль), дициклогексил-[2-(2,4,6-триизопропилфенил)фенил]фосфана (0,3 мг, 0,7 мкмоль), $XPhosPdG_3$ (0,3 мг, 0,34 мкмоль), ацетата калия (20 мг, 203,9 мкмоль) в этаноле (3 мл) и этиленгликоле (0,15 мл), и смесь перемешивали при 60°C в течение 3 ч. Реакционную смесь очищали с помощью ВЭЖХ с получением желаемого продукта [2-[[4-[6-[(4-циано-2-фторфенил)метокси]-2-пиридил]-3,6-дигидро-2H-пиридин-1-ил]метил]-3-[[[(2S)-оксетан-2-ил]метил]бензимидазол-5-ил]бороновой кислоты (2 мг, 2,7 мкмоль, выход 8,0%) в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 554,1$; время удерживания (0,01% ТФУК)=1,72 мин.

1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-D_6$) δ 8,16 (с, 2H), 8,01 (с, 1H), 7,89 (д, $J=10,4$ Гц, 1H), 7,75-7,61 (м, 4H), 7,54 (д, $J=8,0$ Гц, 1H), 7,10 (д, $J=7,4$ Гц, 1H), 6,77 (д, $J=8,2$ Гц, 1H), 6,71 (с, 1H), 5,49 (с, 2H), 5,14-5,03 (м, 1H), 4,71 (дд, $J=15,1, 7,1$ Гц, 1H), 4,57 (дд, $J=15,1, 3,4$ Гц, 1H), 4,47 (дд, $J=14,1, 7,1$ Гц, 1H), 4,38 (дт, $J=9,0, 6,0$ Гц, 1H), 4,04 (д, $J=13,3$ Гц, 1H), 3,89 (д, $J=13,3$ Гц, 1H), 3,22 (д, $J=9,2$ Гц, 3H), 2,76-2,64 (м, 3H), 2,44-2,30 (м, 2H).

(S)-2-((2-((4-Хлор-2-фторбензил)окси)-3',6'-дигидро-[3,4'-бипиридин]-1'(2'H)-ил)метил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 329)



Стадия 1.

Суспензию (4-хлор-2-фторфенил)метанола (1 г, 6,23 ммоль) и 2-метилпропан-2-олата калия (768,7 мг, 6,85 ммоль) в ТГФ (20 мл) перемешивали в течение 0,5 ч при 0°C в атмосфере N_2 . Затем медленно добавляли 3-бром-2-фторпиридин (1,21 г, 6,85 ммоль) и перемешивали в течение 1 ч в атмосфере N_2 . После завершения реакции, о чем судили по данным ЖХ-МС, гасили реакционную смесь водой (20 мл) и экстрагировали смесь $EtOAc$ (3×20 мл). Промывали органическую фазу рассолом (50 мл) и сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный продукт очищали флэш-хроматографией с получением 3-бром-2-[(4-хлор-2-фторфенил)метокси]пиридина (1,4 г, 4,04 ммоль, выход 64,9%) в виде желтой маслянистой жидкости. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 315,9$; время удерживания (0,01% ТФУК)=2,30 мин.

Стадия 2.

Смесь 3-бром-2-[(3-хлор-2-фторфенил)метокси]пиридина (184,3 мг, 582 мкмоль), метил-3-[[[(2S)-оксетан-2-ил]метил]-2-[[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-3,6-дигидро-2H-пиридин-1-ил]метил]бензимидазол-5-карбоксилата (272,1 мг, 582 мкмоль), $Pd(dppf)Cl_2$ (42,6 мг, 58 мкмоль) и K_2CO_3 (241,4 мг, 1,75 ммоль) в диоксане (10 мл) и воде (2 мл) перемешивали в течение 16 ч при 90°C в атмосфере N_2 до завершения реакции по данным ЖХ-МС. Реакционную смесь фильтровали через слой целита с $EtOAc$ и объединенные органические слои концентрировали в вакууме, очищали хроматографией на силикагеле с получением желаемого продукта метил-2-[[4-[2-(4-хлор-2-фторфенил)-2-метил-1,3-бензодиоксол-4-ил]-3,6-дигидро-2H-пиридин-1-ил]метил]-3-[[[(2S)-оксетан-2-ил]метил]бензимидазол-5-карбоксилата (200 мг, 227,5 мкмоль, выход 39,1%, чистота 68,7%) в виде коричневой маслянистой жидкости. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 577,3$; время удерживания (0,01% ТФУК)=1,63 мин.

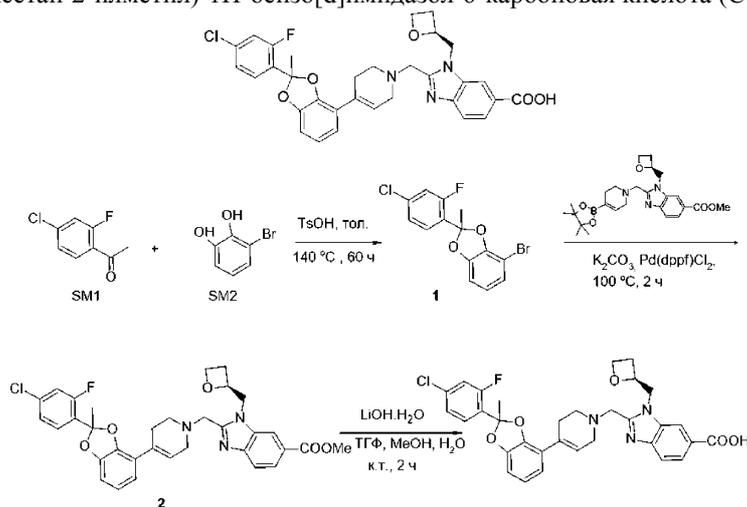
Стадия 3.

Смесь метил-2-[[4-[2-(4-хлор-2-фторфенил)метокси]-3-пиридил]-3,6-дигидро-2H-пиридин-1-ил]метил]-3-[[[(2S)-оксетан-2-ил]метил]бензимидазол-5-карбоксилата (200 мг, 207,96 мкмоль) и $LiOH$ (43,6 мг, 1,04 ммоль) в ТГФ (2,5 мл), метаноле (2,5 мл) и воде (1,5 мл) перемешивали в течение 1,5 ч при 25°C в

атмосфере N₂ до завершения реакции по данным ЖХ-МС. Реакционную смесь очищали методом ВЭЖХ, получая желаемый продукт 2-[[4-[2-[(4-хлор-2-фторфенил)метокси]-3-пиридил]-3,6-дигидро-2Н-пиридин-1-ил]метил]-3-[[2(S)-оксетан-2-ил]метил]бензимидазол-5-карбоновую кислоту (12,4 мг, 22,02 мкмоль, выход 10,6%) в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: [M+H]⁺=563,0; время удерживания (10 мМ NH₄HCO₃)=1,59 мин.

¹H ЯМР (400 МГц, MeOD) δ 8,27-8,26 (ушир.с, 1H), 8,05 (дд, J=5,0, 1,8 Гц, 1H), 7,98 (д, J=8,5 Гц, 1H), 7,64 (д, J=8,5 Гц, 1H), 7,58 (дд, J=7,3, 1,8 Гц, 1H), 7,51 (т, J=8,1 Гц, 1H), 7,34-7,16 (м, 2H), 6,97 (дд, J=7,3, 5,0 Гц, 1H), 5,92-5,91 (ушир.с, 1H), 5,43 (с, 2H), 5,24 (д, J=4,9 Гц, 1H), 4,87 (дд, J=15,3, 7,1 Гц, 1H), 4,69 (дд, J=15,4, 2,7 Гц, 1H), 4,60 (дд, J=13,7, 7,9 Гц, 1H), 4,46 (дт, J=9,0, 5,9 Гц, 1H), 4,12 (д, J=13,6 Гц, 1H), 4,00 (д, J=13,6 Гц, 1H), 3,27-3,14 (м, 2H), 2,84-2,68 (м, 3H), 2,60-2,41 (м, 3H).

2-((4-(2-(4-Хлор-2-фторфенил)-2-метилбензо[d][1,3]диоксол-4-ил)-5,6-дигидропиридин-1(2H)-ил)метил)-1-((S)-оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 330)



Стадия 1.

К суспензии 3-бромбензол-1,2-диола (1,20 г, 6,37 ммоль) в толуоле (100 мл) добавляли 1-(4-хлор-2-фторфенил)этанон (1 г, 5,79 ммоль) и гидрат 4-метилбензолсульфоновой кислоты (1,10 г, 5,79 ммоль). Реакционный аппарат был снабжен ловушкой Дина-Старка, и реакционную смесь нагревали при 140°C в течение 60 ч, после чего раствор концентрировали в вакууме и очищали флэш-хроматографией с получением 4-бром-2-(4-хлор-2-фторфенил)-2-метил-1,3-бензодиоксола (280 мг, 774,2 мкмоль, выход 13,4%) в виде желтой маслянистой жидкости. ЖХ-МС: [M+H]⁺=343,0; время удерживания (0,01% ТФУК)=2,07 мин.

Стадия 2.

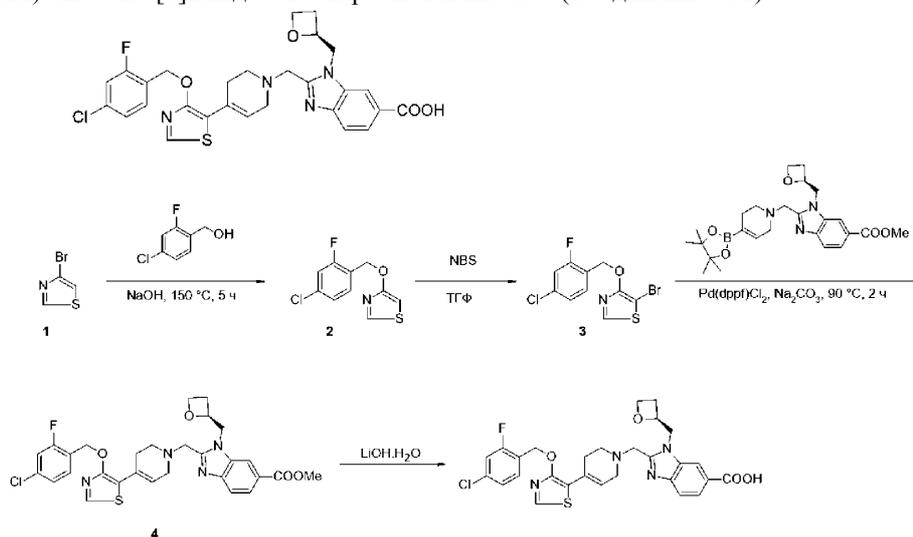
К перемешиваемому раствору 4-бром-2-(4-хлор-2-фторфенил)-2-метил-1,3-бензодиоксола (100 мг, 291,06 мкмоль) в 1,4-диоксане (10 мл) и воде (2 мл) добавляли метил-3-[[2(S)-оксетан-2-ил]метил]-2-[[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-3,6-дигидро-2Н-пиридин-1-ил]метил]бензимидазол-5-карбоксилат (142,8 мг, 305 мкмоль), Pd(dppf)Cl₂ (21,3 мг, 29 мкмоль) и K₂CO₃ (80,3 мг, 582 мкмоль). Перемешивали реакционную смесь при 100°C в течение 2 ч. По завершении реакции, о чем свидетельствует ТСХ, смесь разбавляли EtOAc (100 мл) и нагревали до комнатной температуры. Разделяли слои и водный слой экстрагировали EtOAc (2×50 мл). Объединенные органические фазы промывали рассолом (50 мл) и сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме, получая неочищенный продукт метил-2-[[4-[2-(4-хлор-2-фторфенил)-2-метил-1,3-бензодиоксол-4-ил]-3,6-дигидро-2Н-пиридин-1-ил]метил]-3-[[2(S)-оксетан-2-ил]метил]бензимидазол-5-карбоксилат (150 мг, 206,2 мкмоль, выход 70,9%) в виде светло-желтой жидкости, которую использовали непосредственно на следующей стадии. ЖХ-МС: [M+H]⁺=604,0, время удерживания (10 мМ NH₄HCO₃)=2,31 мин.

Стадия 3.

К перемешиваемому раствору метил-2-[[4-[2-(4-хлор-2-фторфенил)-2-метил-1,3-бензодиоксол-4-ил]-3,6-дигидро-2Н-пиридин-1-ил]метил]-3-[[2(S)-оксетан-2-ил]метил]бензимидазол-5-карбоксилата (150 мг, 206,2 мкмоль) в ТГФ (3 мл), MeOH (3 мл) и воде (3 мл) добавляли LiOH·H₂O (31,3 мг, 744 мкмоль). Перемешивали реакционную смесь при комнатной температуре в течение 8 ч. По завершении реакции, о чем свидетельствует ТСХ, смесь разбавляли EtOAc (100 мл) и нагревали до комнатной температуры. Разделяли слои и водный слой экстрагировали EtOAc (2×50 мл). Промывали объединенные органические фазы рассолом (50 мл) и сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный продукт очищали препаративной ВЭЖХ с получением 2-[[4-[2-(4-хлор-2-фторфенил)-2-метил-1,3-бензодиоксол-4-ил]-3,6-дигидро-2Н-пиридин-1-ил]метил]-3-[[2(S)-оксетан-2-ил]метил]бензимидазол-5-карбоновой кислоты (53,9 мг, 91 мкмоль, выход 44,3%) в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: [M+H]⁺=590,0, время удерживания (10 мМ NH₄HCO₃)=1,68 мин.

^1H ЯМР (400 МГц, MeOD) δ 8,35-8,34 (ушир.с, 1H), 8,00 (дд, $J=8,5$, 1,4 Гц, 1H), 7,71 (д, $J=8,5$ Гц, 1H), 7,58 (т, $J=8,3$ Гц, 1H), 7,30 (дд, $J=10,9$, 1,9 Гц, 1H), 7,26-7,20 (м, 1H), 6,84 (дт, $J=15,4$, 7,2 Гц, 2H), 6,80-6,73 (м, 1H), 6,41-6,40 (ушир.с, 1H), 5,26 (д, $J=8,1$ Гц, 1H), 4,87-4,86 (ушир.с, 1H), 4,74 (д, $J=14,0$ Гц, 1H), 4,63 (дд, $J=14,0$, 7,7 Гц, 1H), 4,48 (дд, $J=14,7$, 5,7 Гц, 1H), 4,19 (д, $J=14,0$ Гц, 1H), 4,07 (д, $J=13,9$ Гц, 1H), 3,32-3,25 (м, 2H), 2,88 (д, $J=5,7$ Гц, 2H), 2,83-2,74 (м, 1H), 2,63-2,62 (ушир.с, 2H), 2,58-2,48 (м, 1H), 2,05 (с, 3H).

(S)-2-((4-(4-((4-Хлор-2-фторбензил)окси)тиазол-5-ил)-3,6-дигидропиридин-1(2H)-ил)метил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 331)



Стадия 1.

К смеси 4-бромтиазола (2 г, 12,2 ммоль) в 4-бромтиазоле (2 г, 12,19 ммоль) добавляли гидроксид натрия (2,93 г, 73,2 ммоль). Затем перемешивали смесь при 150°C в течение 4 ч в атмосфере N_2 . Реакционную смесь разбавляли водой и затем экстрагировали EtOAc (3×50 мл), органический слой концентрировали с получением остатка, который очищали хроматографией на силикагеле (петролейный эфир:EtOAc=95:5), получая 4-[(4-хлор-2-фторфенил)метокси]тиазол (370 мг, 1,52 ммоль, выход 12,5%). ЖХ-МС: $[\text{M}+\text{H}]^+=244,1$; время удерживания (0,01% ТФУК)=1,77 мин.

Стадия 2.

К смеси 4-[(4-хлор-2-фторфенил)метокси]тиазола (60 мг, 246 мкмоль) в ТГФ (5 мл) добавляли 1-бромпиirroлидин-2,5-дион (65,7 мг, 369,3 мкмоль). Затем перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 3 ч в атмосфере N_2 . Реакционную смесь разбавляли водой и экстрагировали ДХМ (3×20 мл), а затем концентрировали с получением остатка, который очищали хроматографией на силикагеле (петролейный эфир:EtOAc=98:2), получая 5-бром-4-[(4-хлор-2-фторфенил)метокси]тиазол (60 мг, 186,0 мкмоль, выход 75,5%). ЖХ-МС: $[\text{M}+\text{H}]^+=322,0$; время удерживания (0,01% ТФУК)=1,96 мин.

Стадия 3.

К смеси 5-бром-4-[(4-хлор-2-фторфенил)метокси]тиазола (30 мг, 93,00 мкмоль) и метил-3-[[[(2S)-оксетан-2-ил]метил]-2-[[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-3,6-дигидро-2H-пиридин-1-ил]метил]бензимидазол-5-карбоксилата (52,2 мг, 111,6 мкмоль) в воде (1 мл) и 1,4-диоксане (5 мл) добавляли Pd(dppf)Cl₂ (6,80 мг, 9,30 мкмоль), карбонат натрия (19,7 мг, 186,0 мкмоль). Затем перемешивали смесь при 90°C в течение 2 ч в атмосфере N_2 . Реакционную смесь концентрировали с получением остатка, который очищали хроматографией на силикагеле (ПЭ:EtOAc=10:1), получая метил-2-[[4-[4-[(4-хлор-2-фторфенил)метокси]тиазол-5-ил]-3,6-дигидро-2H-пиридин-1-ил]метил]-3-[[[(2S)-оксетан-2-ил]метил]бензимидазол-5-карбоксилат (20 мг, 34,30 мкмоль, выход 36,88%). ЖХ-МС: $[\text{M}+\text{H}]^+=583,2$; время удерживания (0,01% ТФУК)=1,67 мин.

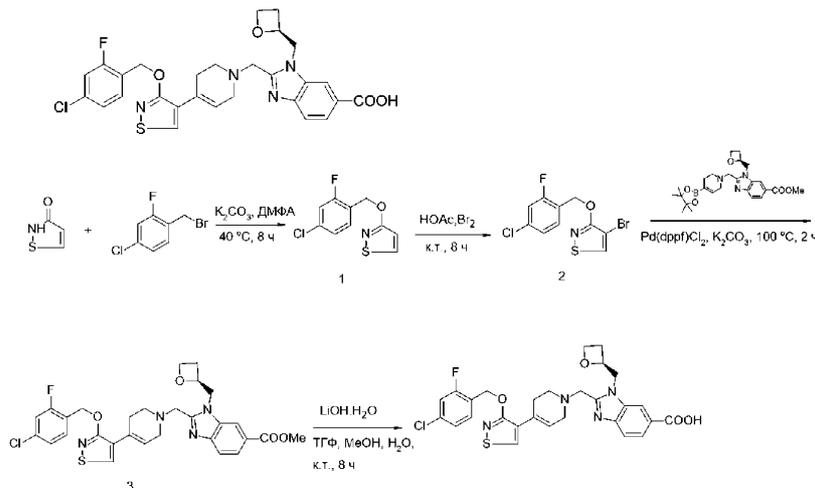
Стадия 4.

К смеси метил-2-[[4-[4-[(4-хлор-2-фторфенил)метокси]тиазол-5-ил]-3,6-дигидро-2H-пиридин-1-ил]метил]-3-[[[(2S)-оксетан-2-ил]метил]бензимидазол-5-карбоксилата (20 мг, 34,3 мкмоль) в воде (2 мл) и ТГФ (2 мл) и метаноле (2 мл) добавляли гидроксид лития (7,2 мг, 171,5 мкмоль). Перемешивали смесь при 20°C в течение 3 ч в атмосфере N_2 . Реакционную смесь концентрировали с получением остатка, который очищали препаративной ВЭЖХ с получением 2-[[4-[4-[(4-хлор-2-фторфенил)метокси]тиазол-5-ил]-3,6-дигидро-2H-пиридин-1-ил]метил]-3-[[[(2S)-оксетан-2-ил]метил]бензимидазол-5-карбоновой кислоты (5 мг, 8,8 мкмоль, выход 25,6%). ЖХ-МС: $[\text{M}+\text{H}]^+=568,9$; время удерживания (10 mM NH_4HCO_3)=1,28 мин.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСO-D₆) δ 8,72 (с, 1H), 8,24 (с, 1H), 7,80 (д, $J=8,8$ Гц, 1H), 7,63 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 7,55-7,44 (м, 2H), 7,36-7,28 (м, 1H), 6,15 (с, 1H), 5,41 (с, 2H), 5,07-5,01 (м, 1H), 4,77 (дд, $J=14,8$, 7,2 Гц, 1H), 4,62 (д, $J=12,4$ Гц, 1H), 4,45 (дд, $J=13,2$, 8,0 Гц, 1H), 4,34 (дт, $J=12,8$, 6,0 Гц, 1H), 4,01 (д, $J=14,0$

Гц, 1H), 3,86 (д, J=13,6 Гц, 1H), 3,14 (с, 2H), 2,74-2,63 (м, 3H), 2,41 (с, 4H).

(S)-2-((4-(3-(4-ХЛОР-2-фторбензилокси)изотиазол-4-ил)-5,6-дигидропиридин-1(2H)-ил)метил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 332)



Стадия 1.

К перемешиваемому раствору изотиазол-3-она (1 г, 9,89 ммоль) в ДМФА (20 мл) добавляли 1-(бромметил)-4-хлор-2-фторбензол (2,21 г, 9,89 ммоль) и K_2CO_3 (4,09 г, 29,67 ммоль). Перемешивали реакционную смесь при 40°C в течение 8 ч до завершения реакции, о чем судили по данным ТСХ, смесь разбавляли EtOAc (100 мл) и подогрели до комнатной температуры. Разделяли слои и водный слой экстрагировали EtOAc (2×50 мл). Промывали объединенные органические фазы рассолом (50 мл) и сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный продукт очищали флэш-хроматографией на колонке (SiO_2 , гексаны/этилацетат 10:1) с получением 3-[(4-хлор-2-фторфенил)метокси]изотиазола (1,6 г, 6,57 ммоль, выход 66,4%, чистота 100%) в виде жидкости светло-желтого цвета. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 243,9$, время удерживания (0,1% ТФУК)=2,12 мин.

1H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ 8,52-8,40 (м, 1H), 7,45 (т, J=7,9 Гц, 1H), 7,20-7,10 (м, 2H), 6,70-6,58 (м, 1H), 5,46 (д, J=1,0 Гц, 2H).

Стадия 2.

К перемешиваемому раствору 3-[(4-хлор-2-фторфенил)метокси]изотиазола (200 мг, 820,7 мкмоль) в HOAc (5 мл) добавляли Br_2 (1,05 г, 6,57 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 8 ч и после завершения реакции, о чем судили по данным ТСХ, смесь разбавляли EtOAc (50 мл) и нагревали до комнатной температуры. Разделяли слои и водный слой экстрагировали EtOAc (2×50 мл). Промывали объединенные органические фазы 1 М $NaHCO_3$ (100 мл) и сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный продукт очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (0,2% ТФУК) с получением 4-бром-3-[(4-хлор-2-фторфенил)метокси]изотиазола (80 мг, 244,0 мкмоль, выход 29,7%, чистота 98,4%) в виде жидкости светло-желтого цвета. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 322,0$, время удерживания (0,05% ТФУК)=1,99 мин.

1H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ 8,49-8,35 (м, 1H), 7,49 (дд, J=15,0, 7,0 Гц, 1H), 7,15 (ддд, J=1,5,8,7, 1,9 Гц, 2H), 5,48 (с, 2H).

Стадия 3.

К перемешиваемому раствору 4-бром-3-[(4-хлор-2-фторфенил)метокси]изотиазола (80 мг, 243,98 мкмоль) в 1,4-диоксане (10 мл) и воде (2 мл) добавляли метил-3-[[[(2S)оксетан-2-ил]метил]-2-[[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-3,6-дигидро-2H-пиридин-1-ил]метил]бензимидазол-5-карбоксилат (125,43 мг, 268,38 мкмоль), $Pd(dppf)Cl_2$ (17,8 мг, 24,4 мкмоль) и K_2CO_3 (67,3 мг, 488,0 мкмоль). Реакционную смесь перемешивали при 100°C в течение 2 ч и после завершения реакции, о чем судили по данным ТСХ, смесь разбавляли EtOAc (100 мл) и нагревали до комнатной температуры. Разделяли слои и водный слой экстрагировали EtOAc (2×50 мл). Промывали объединенные органические фазы рассолом (50 мл) и сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали в вакууме с получением метил-2-[[4-[3-[(4-хлор-2-фторфенил)метокси]изотиазол-4-ил]-3,6-дигидро-2H-пиридин-1-ил]метил]-3-[[[(2S)-оксетан-2-ил]метил]бензимидазол-5-карбоксилата (150 мг, 157,6 ммоль, выход 64,6%, чистота 61,3%) в виде коричневой жидкости. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 583,0$, время удерживания (10 мМ NH_4HCO_3)=1,81 мин.

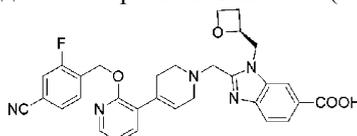
Стадия 4.

К перемешиваемому раствору метил-2-[[4-[3-[(4-хлор-2-фторфенил)метокси]изотиазол-4-ил]-3,6-дигидро-2H-пиридин-1-ил]метил]-3-[[[(2S)оксетан-2-ил]метил]бензимидазол-5-карбоксилата (150 мг, 157,6 мкмоль) в ТГФ (3 мл), MeOH (3 мл) и воде (3 мл) добавляли LiOH \cdot H $_2$ O (33,1 мг, 788,1 мкмоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 8 часов и после завершения

реакции, о чем судили по данным ТСХ, смесь разбавляли EtOAc (50 мл) и нагревали до комнатной температуры. Разделяли слои и экстрагировали водный слой EtOAc (2×0 мл). Промывали объединенные органические фазы рассолом (50 мл) и сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме. Сырой продукт очищали препаративной ВЭЖХ (NH₄HCO₃) с получением 2-[[4-[3-[[4-хлор-2-фторфенил]метокси]изотиазол-4-ил]-3,6-дигидро-2Н-пиридин-1-ил]метил]-3-[[2(5S)-оксетан-2-ил]метил]бензимидазол-5-карбоновой кислоты (46,6 мг, 81,89 мкмоль, выход 52,0%, чистота 100%) в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: [M+H]⁺=569,0; время удерживания (10 мМ NH₄HCO₃)=1,61 мин.

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-D₆) δ 8,70 (с, 1H), 8,25 (с, 1H), 7,80 (дд, J=8,5, 1,5 Гц, 1H), 7,65 (д, J=8,4 Гц, 1H), 7,57 (т, J=8,2 Гц, 1H), 7,49 (дд, J=10,0, 2,0 Гц, 1H), 7,32 (дд, J=8,2, 1,8 Гц, 1H), 6,39-6,38 (ушир.с, 1H), 5,46 (с, 2H), 5,04 (д, J=7,2 Гц, 1H), 4,77 (дд, J=15,3, 7,2 Гц, 1H), 4,67-4,58 (м, 1H), 4,45 (дд, J=13,5, 7,9 Гц, 1H), 4,34 (дт, J=8,9, 5,9 Гц, 1H), 4,02 (д, J=13,7 Гц, 1H), 3,87 (д, J=13,6 Гц, 1H), 3,15 (т, J=13,2 Гц, 2H), 2,65 (дд, J=21,6, 12,1 Гц, 3H), 2,43-2,33 (м, 3H).

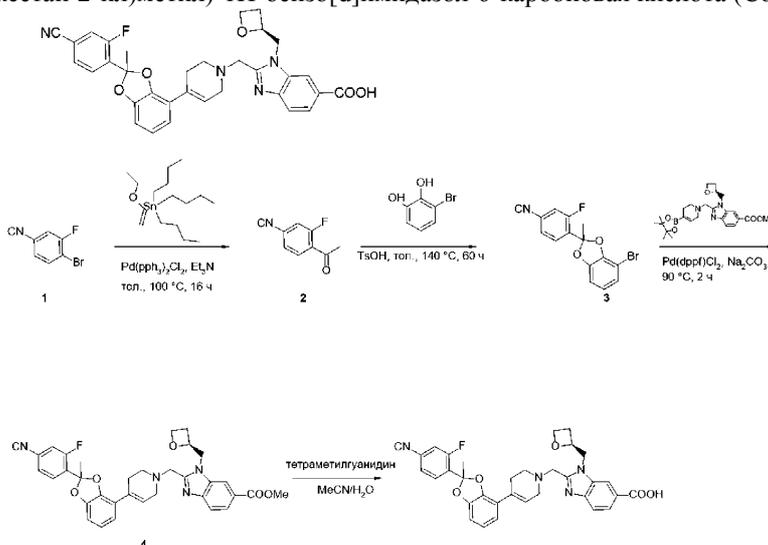
(S)-2-((4-(2-(4-циано-2-фторбензилокси)пиридин-3-ил)-5,6-дигидропиридин-1(2H)-ил)метил)-1-(оксетан-2-илметил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 333)



Получали аналогично соединению 329. ЖХ-МС: [M+H]⁺=554,0; время удерживания (10 мМ NH₄HCO₃)=1,22 мин.

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-D₆) δ 8,26-8,25 (ушир.с, 1H), 8,05 (дд, J=4,9, 1,8 Гц, 1H), 7,91 (д, J=10,0 Гц, 1H), 7,81 (дд, J=8,5, 1,5 Гц, 1H), 7,72 (дд, J=7,9, 1,4 Гц, 1H), 7,68-7,56 (м, 3H), 7,02 (дд, J=7,3, 4,9 Гц, 1H), 5,98-5,97 (ушир.с, 1H), 5,50 (с, 2H), 5,05 (д, J=7,3 Гц, 1H), 4,77 (дд, J=15,2, 7,2 Гц, 1H), 4,63 (д, J=12,8 Гц, 1H), 4,44 (дд, J=13,8, 7,2 Гц, 1H), 4,34 (дт, J=11,9, 5,9 Гц, 1H), 4,05 (д, J=13,3 Гц, 1H), 3,89 (д, J=13,5 Гц, 1H), 3,14 (д, J=22,7 Гц, 2H), 2,76-2,58 (м, 3H), 2,45-2,31 (м, 3H).

2-((4-(2-(4-циано-2-фторфенил)-2-метилбензо[d][1,3]диоксол-4-ил)-3,6-дигидропиридин-1(2H)-ил)метил)-1-((S)оксетан-2-ил)метил)-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоновая кислота (Соединение 334)



Стадия 1.

К перемешиваемому раствору 4-бром-3-фторбензонитрила (1 г, 5,00 ммоль) в толуоле (20 мл) добавляли трибутил-(1-этоксивинил)станнан (2,17 г, 6,00 ммоль, 2,03 мл) PdCl₂(PPh₃)₂ (351,0 мг, 500 мкмоль), TEA (1,52 г, 15,00 ммоль). Перемешивали реакционную смесь при 120 °C в течение 8 ч и после завершения реакции, о чем судили по данным ЖХ-МС, смесь фильтровали и концентрировали под вакуумом. Сырое вещество растворяли в ТГФ (10 мл) и 4 н. HCl (10 мл) и полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Смесь разбавляли EtOAc (100 мл) и нагревали до комнатной температуры. Разделяли слои и водный слой экстрагировали EtOAc (2×50 мл). Промывали объединенные органические фазы рассолом (50 мл) и сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный продукт очищали колоночной флэш-хроматографией (SiO₂, гексан/этилацетат=7:1) с получением 4-ацетил-3-фторбензонитрила (800 мг, 4,90 ммоль, выход 98,1%, чистота 100%) в виде светло-желтой жидкости. ЖХ-МС: [M+H]⁺=164,0, время удерживания (0,1% ТФУК)=1,56 мин.

Стадия 2.

Смесь 4-ацетил-3-фторбензонитрила (800 мг, 4,90 ммоль), 3-бромбензол-1,2-диола (1,02 г, 5,39

ммоль) и 4-метилбензолсульфоновой кислоты (279,8 мг, 1,47 ммоль) в толуоле (100 мл) перемешивали в течение 60 ч при 140°C в атмосфере N₂ до завершения реакции по данным ЖХ-МС. Реакционную смесь фильтровали через слой целита с EtOAc, и объединенные органические слои концентрировали в вакууме, очищали хроматографией на силикагеле (гексаны/EtOAc=20:1) с получением желаемого продукта 4-(4-бром-2-метил-1,3-бензодиоксол-2-ил)-3-фторбензонитрила (98 мг, 96,8 мкмоль, чистота 33%) в виде бесцветной маслянистой жидкости. ЖХ-МС: [M+H]⁺=336,1; время удерживания (0,01% ТФУК)=1,93 мин.

Стадия 3.

4-(4-бром-2-метил-1,3-бензодиоксол-2-ил)-3-фторбензонитрил (40 мг, 119,7 мкмоль), метил-3-[[[(2S)-оксетан-2-ил]метил]-2-[[4-(3,3,4,4-тетраметил-1,2,5-бромдиоксолан-1-ил)-3,6-дигидро-2H-пиридин-1-ил]метил]бензимидазол-5-карбоксилат (96,3 мг, 179,6 мкмоль), Pd(dppf)Cl₂ (8,8 мг, 11,97 мкмоль), K₂CO₃ (33,1 мг, 239,42 мкмоль) растворяли в диоксане (3 мл) и воде (1 мл). Перемешивали реакционную смесь при 90°C в течение 2 ч в атмосфере N₂. Реакцию концентрировали с получением остатка, который очищали хроматографией на силикагеле (петролейный эфир:EtOAc=3:7), получая метил-2-[[4-[2-(4-циано-2-фторфенил)-2-метил-1,3-бензодиоксол-4-ил]-3,6-дигидро-2H-пиридин-1-ил]метил]-3-[[[(2S)-оксетан-2-ил]метил]бензимидазол-5-карбоксилат (40 мг, 67,27 мкмоль) в виде желтого твердого вещества. ЖХ-МС: [M+H]⁺=595,0; время удерживания (0,01% ТФУК)=1,61 мин.

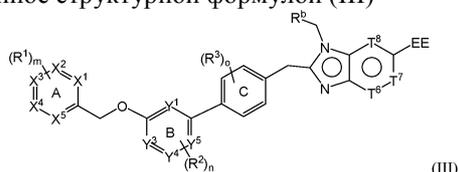
Стадия 4.

Метил-2-[[4-[2-(4-циано-2-фторфенил)-2-метил-1,3-бензодиоксол-4-ил]-3,6-дигидро-2H-пиридин-1-ил]метил]-3-[[[(2S)оксетан-2-ил]метил]бензимидазол-5-карбоксилат (40 мг, 67,27 мкмоль) растворяли в MeCN (3 мл) и воде (1 мл) и затем добавляли 1,1,3,3-тетраметилгуанидин (155,0 мг, 1,35 ммоль). Перемешивали реакционную смесь при 60°C в течение 4 ч. Смесь гасили водой (20 мл), доводили pH до 4-5 с помощью HOAc, затем экстрагировали ДХМ (3×20 мл). Органическую фазу концентрировали с получением остатка, который очищали препаративной ВЭЖХ с получением 2-[[4-[2-(4-циано-2-фторфенил)-2-метил-1,3-бензодиоксол-4-ил]-3,6-дигидро-2H-пиридин-1-ил]метил]-3-[[[(2S)оксетан-2-ил]метил]бензимидазол-5-карбоновой кислоты (12,4 мг, 21,4 мкмоль, выход 31,8%) в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: [M+H]⁺=581,0; время удерживания (10 mM NH₄HCO₃)=1,29 мин.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-D₆) δ 8,26 (с, 1H), 7,99-7,96 (м, 1H), 7,82-7,70 (м, 3H), 7,66-7,64 (м, 1H), 6,89-6,84 (м, 3H), 6,39-6,38 (м, 1H), 5,08-5,06 (м, 1H), 4,78-4,77 (м, 1H), 4,67-4,63 (м, 1H), 4,47-4,34 (м, 2H), 4,08-4,03 (м, 1H), 3,93-3,88 (м, 1H), 3,23-3,21 (м, 2H), 2,76-2,65 (м, 4H), 2,43-2,32 (м, 2H), 2,05 (с, 3H).

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение, представленное структурной формулой (III)



(III),

или его фармацевтически приемлемая соль, где каждый из X¹, X², X³, X⁴ и X⁵ независимо выбирают из N и CH, при этом не более чем один из X¹, X², X³, X⁴ и X⁵ представляет собой N;

кольцо B представляет собой 6-членный гетероарил или фенил, причем Y¹, Y³, Y⁴ и Y⁵ каждый независимо выбирают из N или CH, причем кольцо B содержит не более 2 кольцевых атомов азота; каждый из T⁶, T⁷ и T⁸ независимо выбирают из N и CR⁴;

EE представляет собой -COOH;

R^b представляет собой 3-7-членный насыщенный гетероцикл;

каждый R¹ независимо выбирают из галогена, -CN и 5-8-членного гетероарила;

каждый R² представляет собой галоген;

каждый R³ представляет собой галоген или C₁-C₄-алкил;

каждый R⁴ независимо выбирают из H, F и Cl;

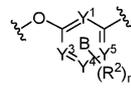
m обозначает целое число, выбранное из 1 или 2;

n обозначает целое число, выбранное из 0, 1 или 2;

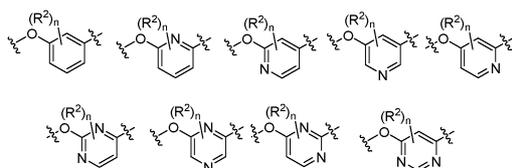
o обозначает целое число, выбранное из 0, 1 или 2, и

где гетероарил содержит не более 2 кольцевых гетероатомов азота, где гетероцикл содержит 1 кольцевой гетероатом кислорода.

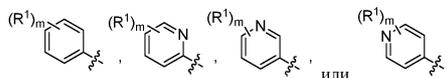
2. Соединение по п.1, или его фармацевтически приемлемая соль, отличающееся тем, что



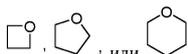
представляет собой



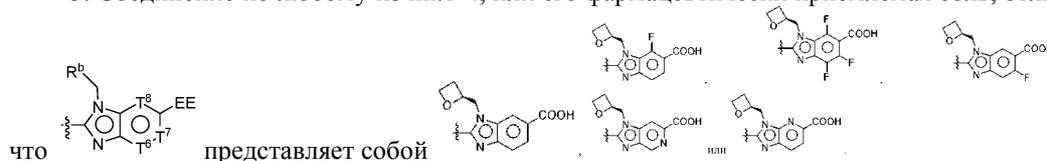
3. Соединение по п.1 или 2, или его фармацевтически приемлемая соль, отличающееся тем, что кольцо А представляет собой



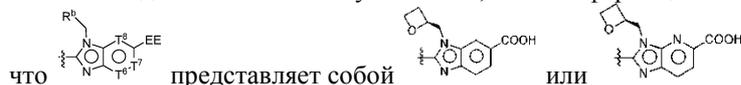
4. Соединение по любому из пп.1-3, или его фармацевтически приемлемая соль, отличающееся тем, что R^b представляет собой



5. Соединение по любому из пп.1-4, или его фармацевтически приемлемая соль, отличающееся тем,

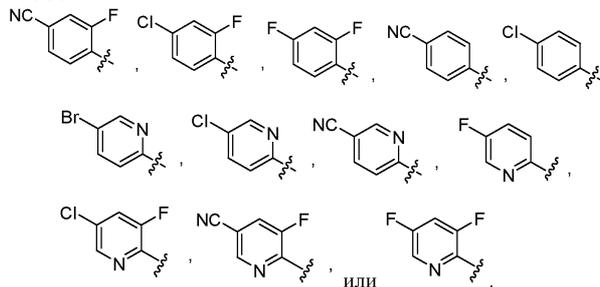


6. Соединение по любому из пп.2-5, или его фармацевтически приемлемая соль, отличающееся тем,



7. Соединение по любому из пп.1-6, или его фармацевтически приемлемая соль, отличающееся тем, что каждый R³ представляет собой F, Cl или CH₃ и о равен 0, 1 или 2.

8. Соединение по любому из пп.1-7, или его фармацевтически приемлемая соль, отличающееся тем, что кольцо А представляет собой



9. Соединение по любому из пп.1-8, или его фармацевтически приемлемая соль, отличающееся тем,

что кольцо А представляет собой

10. Соединение по любому из пп.1-8, или его фармацевтически приемлемая соль, отличающееся

тем, что кольцо А представляет собой

11. Соединение по любому из пп.1-10, или его фармацевтически приемлемая соль, отличающееся

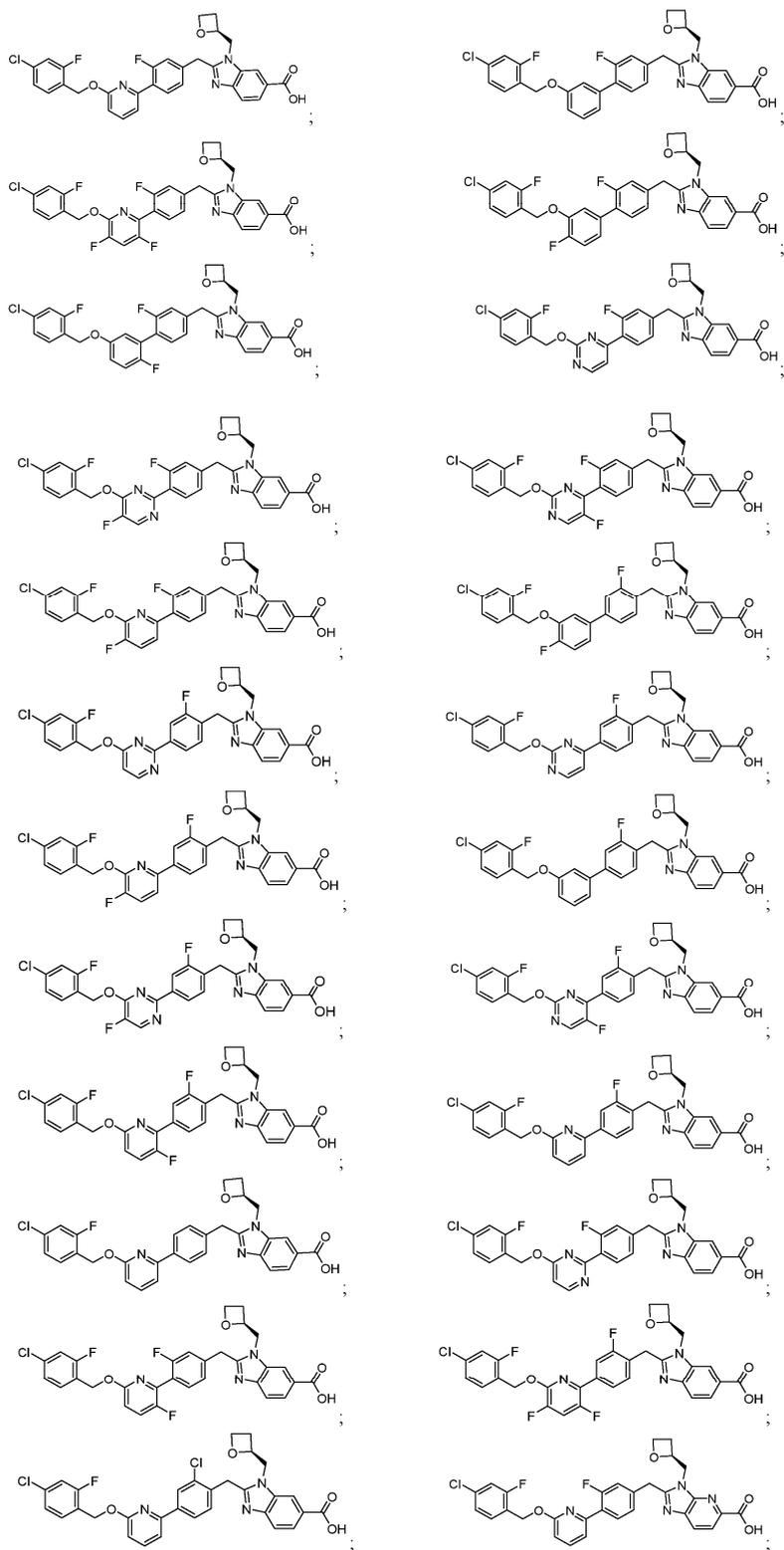
тем, что представляет собой

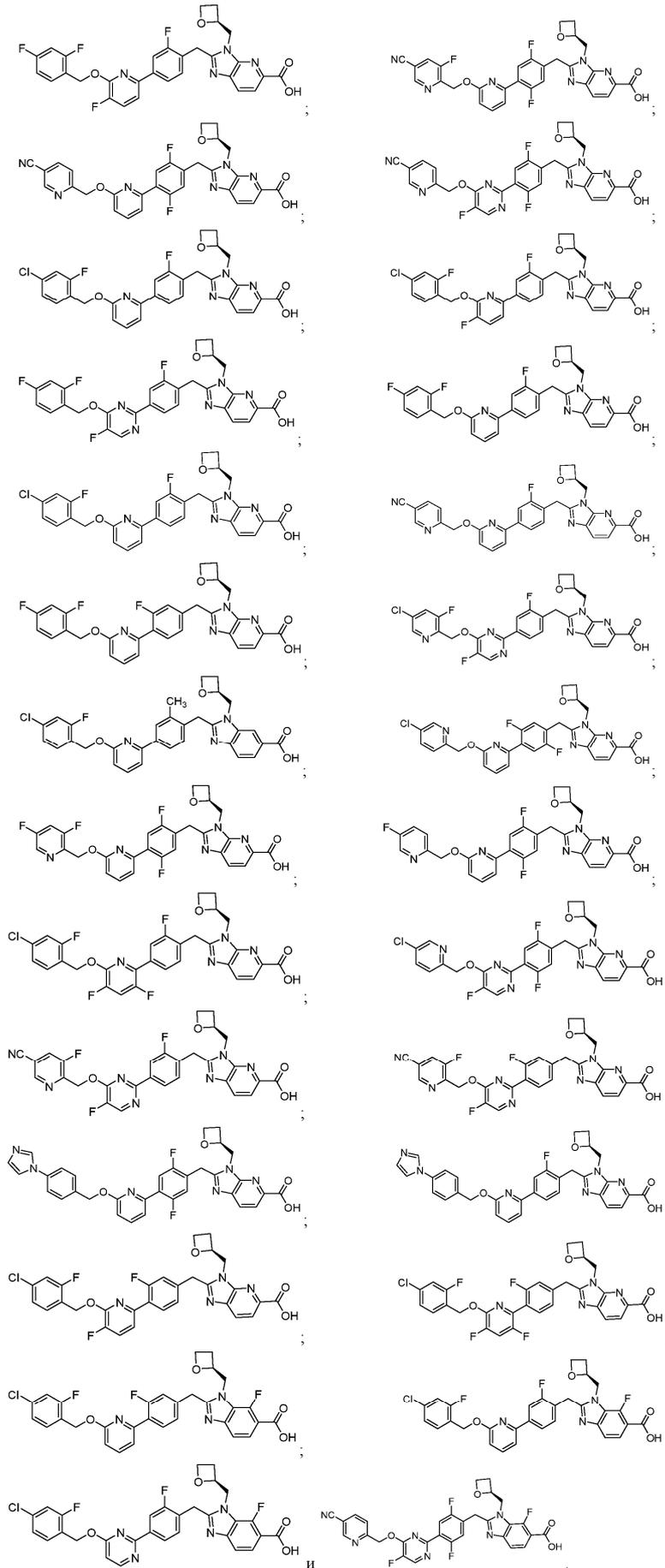
12. Соединение по любому из пп.1-11, или его фармацевтически приемлемая соль, отличающееся тем, что каждый R³ представляет собой F или CH₃ и о равен 2.

13. Соединение по любому из пп.1-12, или его фармацевтически приемлемая соль, отличающееся

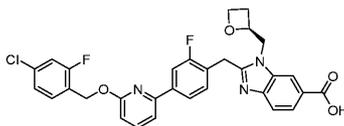
тем, что представляет собой

14. Соединение по п.1, или его фармацевтически приемлемая соль, отличающееся тем, что соедине-ние выбирают из группы, состоящей из

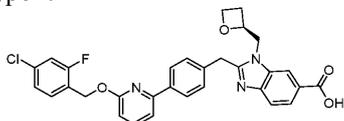




15. Соединение по п. 1, или его фармацевтически приемлемая соль, отличающееся тем, что соединение представлено следующей структурой:



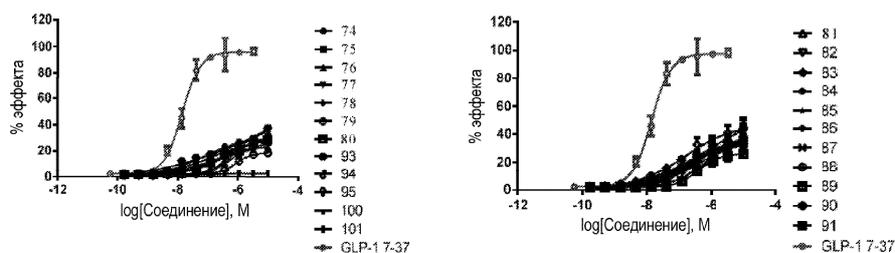
16. Соединение по п.1, или его фармацевтически приемлемая соль, отличающееся тем, что соединение представлено следующей структурой:



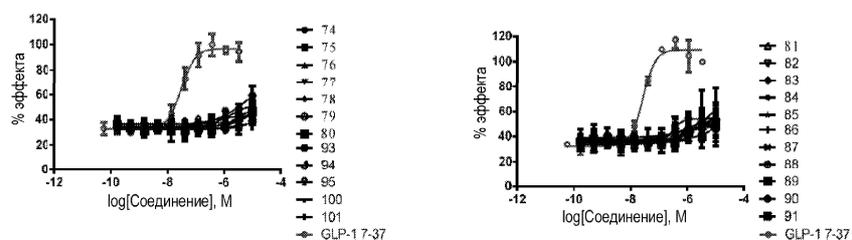
17. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по любому из пп.1-16, или его фармацевтически приемлемую соль, и фармацевтически приемлемый эксципиент.

18. Способ лечения заболевания, включающий введение субъекту, нуждающемуся в таком лечении, терапевтически эффективного количества соединения по любому из пп.1-16 или его фармацевтически приемлемой соли, причем заболевание представляет собой диабет 1 типа (СД1), сахарный диабет 2 типа (СД2), ожирение, гипергликемию, неалкогольный стеатогепатит (НАСГ), болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона или неалкогольную жировую болезнь печени (НАЖБП).

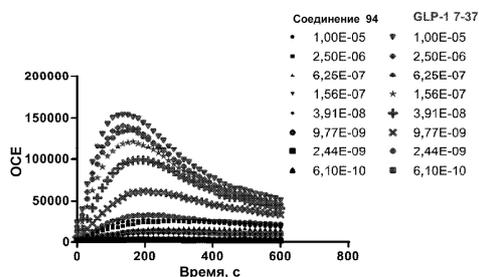
19. Применение терапевтически эффективного количества соединения по любому из пп.1-16 или его фармацевтически приемлемой соли для получения лекарственного средства для лечения нуждающегося в этом субъекта, страдающего от заболевания, причем заболевание представляет собой диабет 1 типа (СД1), сахарный диабет 2 типа (СД2), ожирение, гипергликемию, неалкогольный стеатогепатит (НАСГ), болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона или неалкогольную жировую болезнь печени (НАЖБП).



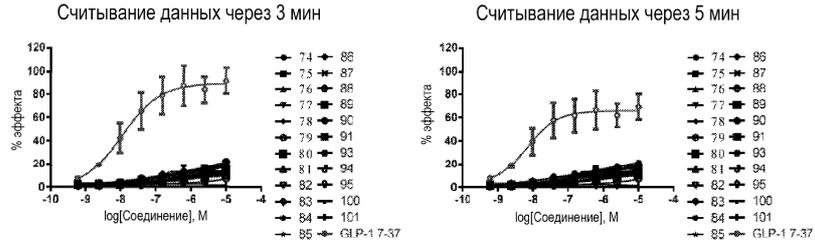
Фиг. 1



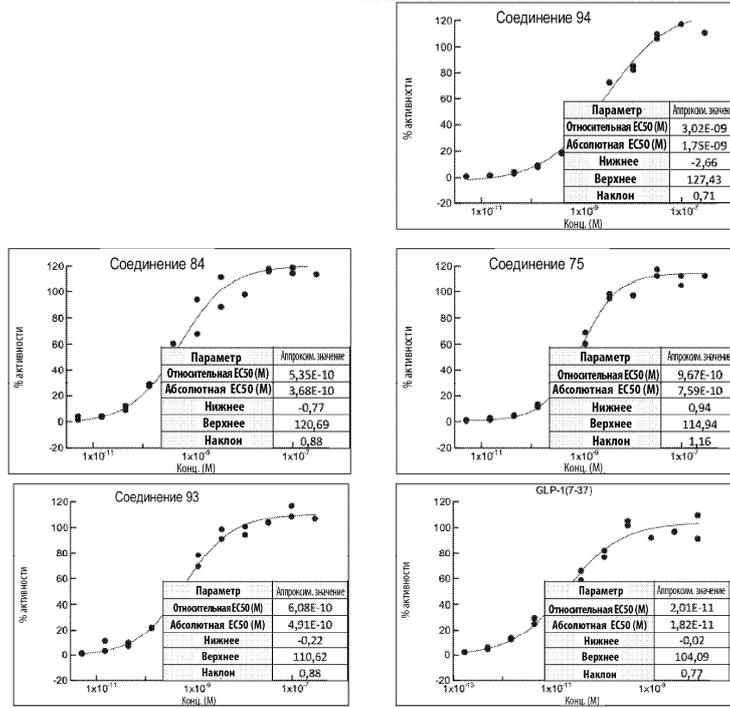
Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5

