

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **048020**

(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2024.10.21

(21) Номер заявки
202290258

(22) Дата подачи заявки
2020.07.17

(51) Int. Cl. **C07D 471/04** (2006.01)
C07D 401/12 (2006.01)
A61K 31/4375 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) ИНГИБИТОРЫ PARP1

(31) **62/876,065**

(32) **2019.07.19**

(33) **US**

(43) **2022.04.19**

(86) **PCT/EP2020/070306**

(87) **WO 2021/013735 2021.01.28**

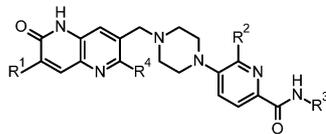
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
АстраЗенека АБ (SE)

(72) Изобретатель:
**Пакер Мартин Джон (GB), Джоханнес
Джеффри Уоллас, Ханде Судхир
Махадео, Дегорс Себастьян Луи (US)**

(74) Представитель:
**Поликарпов А.В., Соколова М.В.,
Путинцев А.И., Черкас Д.А., Игнатьев
А.В., Билык А.В., Дмитриев А.В.,
Бучака С.М., Бельтюкова М.В. (RU)**

(56) **US-A1-2018162834**
US-A1-2010190763
US-B2-8541417
US-A1-2010222348

(57) Изобретение относится к азахинолоновым соединениям формулы (Ia)



(Ia),

и их фармацевтически приемлемой соли, к содержащей их фармацевтической композиции и к их применению для лечения рака.

B1

048020

048020

B1

Настоящее изобретение относится к замещенным азахинолоновым соединениям и их фармацевтически приемлемым солям, которые ингибируют семейство ферментов, представляющих собой поли(АДФ-рибоза)-полимеразы (PARP). Настоящее изобретение также относится к применению данных соединений и их фармацевтически приемлемых солей в медицине, например, в лечении заболеваний, при которых подавление функции PARP1 или PARP2 имеет терапевтическое значение. Настоящее изобретение также относится к способам лечения и способам изготовления лекарственных препаратов с применением соединений по настоящему изобретению.

Семейство ферментов PARP играет важную роль в ряде клеточных процессов, таких как репликация, рекомбинация, ремоделирование хроматина и репарация повреждения ДНК (O'Connor M.J., Mol. Cell (2015), 60(4):547-60).

Примеры ингибиторов PARP и механизм их действия изложены, например, в WO 2004/080976.

PARP1 и PARP2 представляют собой наиболее широко изученные PARP с точки зрения их роли в репарации повреждения ДНК. PARP1 активируется разрывами, представляющими собой повреждение ДНК, и осуществляет катализ добавления цепей поли(АДФ-рибоза) (PAR) к целевым белкам. Данная посттрансляционная модификация, известная как PAR-илирование, опосредует привлечение дополнительных факторов репарации ДНК в очаги повреждения ДНК.

После завершения выполнения данной роли, представляющей собой привлечение, ауто-PAR-илирование PARP инициирует высвобождение связанной PARP из ДНК с обеспечением возможности доступа других белков репарации ДНК с целью завершения репарации. Таким образом, все шаги из связывания PARP с поврежденными сайтами, ее каталитической активности и ее последующего высвобождения из ДНК представляют собой важные стадии ответа раковой клетки на повреждение ДНК, обусловленное химиотерапевтическими средствами и лучевой терапией (Bai P. Biology of poly(ADP-ribose) polymerases: the factotums of cell maintenance. Mol. Cell, 2015; 58:947-58.).

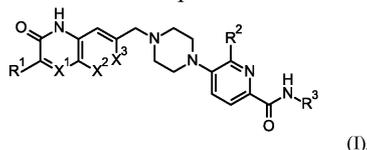
Ингибирование ферментов семейства PARP использовалось в качестве стратегии селективного уничтожения раковых клеток посредством инактивации дополнительных путей репарации ДНК. Ряд доклинических и клинических испытаний показал, что опухолевые клетки, несущие вредоносные изменения BRCA1 или BRCA2, ключевых белков-супрессоров опухолевого роста, участвующих в репарации двухнитевого разрыва ДНК (DSB) посредством гомологичной рекомбинации (HR), являются избирательно чувствительными в отношении низкомолекулярных ингибиторов семейства ферментов репарации ДНК PARP. Такие опухоли являются дефектными в отношении путей репарации на основе гомологичной рекомбинации (HRR), и их выживание зависит от функционирования ферментов PARP. Несмотря на то, что терапия с применением ингибитора PARP была преимущественно нацелена на виды рака с мутацией BRCA, ингибиторы PARP подвергались клиническим испытаниям в отношении опухолей без мутации BRCA, которые демонстрировали дефектность в отношении гомологичной рекомбинации (HRD) (Turner N., Tutt A., Ashworth A. Hallmarks of "BRCAness" in sporadic cancers. Nat. Rev. Cancer, 2004; 4:814-9).

Полагают, что ингибиторы PARP с улучшенной селективностью в отношении PARP1 могут обладать улучшенной эффективностью и сниженной токсичностью по сравнению с другими ингибиторами PARP1/2, применяющимися в клинической практике. Также полагают, что селективное выраженное ингибирование PARP1 будет приводить к захвату PARP1 на ДНК, приводящему к двухнитевым разрывам ДНК (DSB) посредством коллапса вилок репликации в S-фазе. Также полагают, что захват PARP1 на ДНК представляет собой эффективный механизм селективного уничтожения опухолевых клеток с HRD.

Таким образом, в медицине существует неудовлетворенная потребность в эффективных и безопасных ингибиторах PARP, в особенности в ингибиторах PARP с селективностью в отношении PARP 1.

Заявитель обнаружил, что азахинолоны, описанные в данном документе, неожиданно обладают ингибирующей активностью в отношении PARP и, таким образом, могут являться пригодными для лечения заболеваний и состояний, при которых функция PARP имеет фармакологическое значение. Более того, азахинолоны, описанные в данном документе, обладают неожиданно высокой селективностью в отношении PARP1 по сравнению с другими представителями семейства PARP, такими как PARP2, PARP3, PARP5a и PARP6. Более того, азахинолоны, описанные в данном документе, обладают обеспечивающей преимуществом низкой активностью в отношении hERG.

В аспекте настоящего изобретения заявитель представляет класс соединений формулы (I)



где каждый из X^1 и X^2 независимо выбран из N и C(H),

X^3 независимо выбран из N и C(R^4), где R^4 представляет собой H или фтор,

R^1 представляет собой C_{1-4} алкил или C_{1-4} фторалкил,

R^2 независимо выбран из H, галогена, C_{1-4} алкила и C_{1-4} фторалкила и

R^3 представляет собой H или C_{1-4} алкил,

или их фармацевтически приемлемую соль,
при условии, что:

если X^1 представляет собой N, то X^2 представляет собой C(H) и X^3 представляет собой C(R⁴),
если X^2 представляет собой N, то X^1 представляет собой C(H) и X^3 представляет собой C(R⁴), и
если X^3 представляет собой N, то X^1 и X^2 одновременно представляют собой C(H).

В дополнительном аспекте предусмотрена фармацевтическая композиция, содержащая терапевтически эффективное количество соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый разбавитель, наполнитель или инертный носитель.

В дополнительном аспекте предусмотрено соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль для применения в лечении или профилактике заболеваний и состояний, при которых ингибирование PARP1 является благоприятным. В вариантах осуществления описание предусматривает соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль для применения в лечении рака. В вариантах осуществления рак представляет собой рак молочной железы, рак яичников, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, гемобластоз, рак желудочно-кишечного тракта, такой как рак желудка и колоректальный рак, или рак легких. В вариантах осуществления рак представляет собой рак молочной железы, рак яичников, рак поджелудочной железы или рак предстательной железы.

В дополнительном аспекте предусмотрен способ лечения заболеваний или состояний, при которых ингибирование PARP1 является благоприятным, включающий введение пациенту, нуждающемуся в этом, эффективного количества соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли. В варианте осуществления указанное заболевание или состояние представляет собой рак. В вариантах осуществления рак представляет собой рак молочной железы, рак яичников, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, гемобластоз, рак желудочно-кишечного тракта, такой как рак желудка и колоректальный рак, или рак легких. В вариантах осуществления рак представляет собой рак молочной железы, рак яичников, рак поджелудочной железы или рак предстательной железы.

В дополнительном аспекте предусмотрено соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль для применения в получении лекарственного препарата для лечения заболевания или состояния, при которых ингибирование PARP1 является благоприятным. В вариантах осуществления рак представляет собой рак молочной железы, рак яичников, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, гемобластоз, рак желудочно-кишечного тракта, такой как рак желудка и колоректальный рак, или рак легких. В вариантах осуществления рак представляет собой рак молочной железы, рак яичников, рак поджелудочной железы или рак предстательной железы.

В дополнительном аспекте предусмотрено применение соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли в изготовлении лекарственного препарата для применения в лечении заболевания или состояния, при которых ингибирование PARP1 является благоприятным. В вариантах осуществления рак представляет собой рак молочной железы, рак яичников, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, гемобластоз, рак желудочно-кишечного тракта, такой как рак желудка и колоректальный рак, или рак легких. В вариантах осуществления рак представляет собой рак молочной железы, рак яичников, рак поджелудочной железы или рак предстательной железы.

В дополнительном аспекте предусмотрено соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль для применения в медицине.

В дополнительном аспекте предусмотрено соединение формулы (I) в форме свободного основания.

В дополнительном аспекте предусмотрено соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль для применения в качестве лекарственного препарата.

В дополнительном аспекте предусмотрены примеры, раскрытые в данном документе.

В одном аспекте предусмотрено соединение формулы (I), которое представляет собой 5-[4-[(7-этил-6-оксо-5Н-1,5-нафтиридин-3-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид, или его фармацевтически приемлемая соль.

В одном аспекте предусмотрено соединение формулы (I), которое представляет собой 5-[4-[(7-этил-6-оксо-5Н-1,5-нафтиридин-3-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид.

Дополнительные аспекты настоящего изобретения будут очевидны для специалиста в данной области техники после прочтения данного описания.

Хорошо известно, что блокирование ионного канала сердца, кодируемого человеческим геном, связанным с *ether-a-gogo* (hERG), представляет собой фактор риска при открытии и разработке лекарственного средства. Блокирование hERG может обуславливать проблемы безопасности, такие как сердечная аритмия. Соединения формулы (I) обладают низкой активностью в отношении hERG, что обеспечивает их преимущество. В варианте осуществления предусмотрено соединение формулы (I) с IC₅₀ >10 мкМ. В варианте осуществления предусмотрено соединение формулы (I) с IC₅₀ >20 мкМ.

С целью минимизирования рисков развития нецелевых эффектов необходимо, чтобы молекулы лекарственного средства обладали селективностью в отношении конкретной мишени. Соединения формулы (I) обладают более высокой селективностью в отношении PARP1 по сравнению с другими представителями семейства PARP, в том числе PARP2, PARP3, PARP5a и PARP6, что обеспечивает их преимущество. Соединения формулы (I) обладают более высокой селективностью в отношении PARP1 по сравне-

нию с PARP2, что обеспечивает их преимущество. В варианте осуществления предусмотрено соединение формулы (I), обладающее селективностью в отношении PARP1, 10-кратно превышающей селективностью в отношении PARP2. В варианте осуществления предусмотрено соединение формулы (I), обладающее селективностью в отношении PARP1, 100-кратно превышающей селективностью в отношении PARP2.

В другом дополнительном аспекте предусмотрено применение соединения формулы (I) в получении лекарственного препарата для применения в качестве вспомогательного средства в терапии рака или для стимуляции опухолевых клеток для лечения ионизирующим облучением, или химиотерапевтическими средствами, или средствами для терапии на основе антител, таких как иммуноонкологические средства или конъюгаты антитело-лекарственное средство.

В других дополнительных аспектах предусмотрен способ лечения заболевания, выраженность которого уменьшается посредством ингибирования PARP1, включающий введение субъекту, нуждающемуся в лечении, терапевтически эффективного количества соединения формулы (I), предпочтительно в форме фармацевтической композиции, и способ лечения рака, включающий введение субъекту, нуждающемуся в лечении, терапевтически эффективного количества соединения формулы (I) в комбинации, предпочтительно в форме фармацевтической композиции, одновременно или последовательно с применением ионизирующего облучения или химиотерапевтическими средствами.

В дополнительных аспектах соединение формулы (I) можно применять в получении лекарственного препарата для лечения рака, дефектного в отношении активности репарации DSB ДНК, зависимой от гомологичной рекомбинации (HR), или в лечении пациента с раком, при котором имеет место дефект HR-зависимой активности репарации DSB ДНК, включающем введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества соединения.

HR-зависимый путь репарации DSB ДНК осуществляет репарацию двухнитевых разрывов (DSB) в ДНК посредством гомологичных механизмов с повторным образованием формы непрерывной спирали ДНК (K.K. Khanna и S.P. Jackson, *Nat. Genet.* 27(3):247-254 (2001)). Компоненты HR-зависимого пути репарации DSB ДНК включают без ограничения ATM (NM_000051), RAD51 (NM_002875), RAD51L1 (NM_002877), RAD51C (NM_002876), RAD51L3 (NM_002878), DMC1 (NM_007068), XRCC2 (NM_005431), XRCC3 (NM_005432), RAD52 (NM_002879), RAD54L (NM_003579), RAD54B (NM_012415), BRCA1 (NM_007295), BRCA2 (NM_000059), RAD50 (NM_005732), MRE11A (NM_005590) и NBS1 (NM_002485). Другие белки, принимающие участие в HR-зависимом пути репарации DSB ДНК, включают регуляторные факторы, такие как EMSY (Hughes-Davies, et al., *Cell*, 115, p. 523-535). Компоненты HR также описаны в Wood, et al., *Science*, 291, 1284-1289 (2001).

Рак, при котором имеет место дефект HR-зависимой репарации DSB ДНК, может предусматривать одну или несколько раковых клеток, которые обладают сниженной или подавленной способностью к репарации DSB ДНК посредством данного пути по сравнению с нормальными клетками, или быть выраженным ими, т.е. активность HR-зависимого пути репарации DSB ДНК может быть снижена или нарушена в одной или нескольких раковых клетках.

Активность одного или нескольких компонентов HR-зависимого пути репарации DSB ДНК может быть нарушена в одной или нескольких раковых клетках индивидуума с раком, при котором имеет место дефект HR-зависимой репарации DSB ДНК. Компоненты HR-зависимого пути репарации DSB ДНК хорошо охарактеризованы в уровне техники (см., например, Wood, et al., *Science*, 291, 1284-1289 (2001)) и включают компоненты, перечисленные выше.

В некоторых вариантах осуществления раковые клетки могут иметь фенотип, дефектный в отношении BRCA1 и/или BRCA2, т.е. в раковых клетках снижена или нарушена активность BRCA1 и/или BRCA2. Раковые клетки с данным фенотипом могут являться дефектными в отношении BRCA1 и/или BRCA2, т.е. в раковых клетках может быть снижена или нарушена экспрессия и/или активность BRCA1 и/или BRCA2, например, посредством мутации или полиморфизма в кодирующей нуклеиновой кислоте или посредством амплификации, мутации или полиморфизма в гене, кодирующем регуляторный фактор, например в гене EMSY, который кодирует регуляторный фактор BRCA2 (Hughes-Davies, et al., *Cell*, 115, 523-535).

BRCA1 и BRCA2 представляют собой известные супрессоры опухолевого роста, аллели дикого типа которых часто теряются при опухолях у гетерозиготных носителей (Jasin M., *Oncogene*, 21(58), 8981-93 (2002); Tutt, et al., *Trends Mol. Med.*, 8(12), 571-6 (2002)). Связь мутаций BRCA1 и/или BRCA2 с раком молочной железы хорошо охарактеризована в уровне техники (Radice, P.J., *Exp. Clin. Cancer Res.*, 21(3 Suppl), 9-12 (2002)). Также известно, что амплификация гена EMSY, который кодирует фактор связывания BRCA2, связана с раком молочной железы и раком яичников. Носители мутаций в BRCA1 и/или BRCA2 также подвержены повышенному риску развития определенных видов рака, в том числе рака молочной железы, рака яичников, рака поджелудочной железы, рака предстательной железы, гемобластома, рака желудочно-кишечного тракта и рака легких.

В некоторых вариантах осуществления индивидуум является гетерозиготным по одной или нескольким вариациям, таким как мутации и полиморфизмы, в BRCA1 и/или BRCA2 или их регуляторе. Способ выявления вариации в BRCA1 и BRCA2 является хорошо известным из уровня техники и описан, например, в EP 699754, EP 705903, Neuhausen, S.L. и Ostrander, E.A., *Genet. Test*, 1, 75-83 (1992); Chapp-

nis, P.O. и Foulkes, W.O., *Cancer Treat Res*, 107, 29-59 (2002); Janatova M., et al., *Neoplasma*, 50(4), 246-505 (2003); Jancarkova, N., *Ceska Gynecol*, 68(1), 11-6 (2003)). Способ определения амплификации фактора связывания EMSY BRCA2 описан в Hughes-Davies, et al., *Cell*, 115, 523-535).

Мутации и полиморфизмы, связанные с раком, могут быть выявлены на уровне нуклеиновой кислоты посредством выявления наличия вариантной последовательности нуклеиновой кислоты или на белковом уровне посредством выявления наличия вариантного (т.е. мутантного или аллельного варианта) полипептида.

Определения

Алкильные группы и фрагменты представляют собой прямую или разветвленную цепь, например C₁₋₈алкил, C₁₋₆алкил, C₁₋₄алкил или C₅₋₆алкил. Примеры алкильных групп представляют собой метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, т-бутил, н-пентил, н-гексил, н-гептил и н-октил, такие как метил или н-гексил.

Фторалкильные группы представляют собой алкильные группы, где один или несколько атомов H замещены одним или несколькими атомами фтора, например C₁₋₈фторалкил, C₁₋₆фторалкил, C₁₋₄фторалкил или C₅₋₆фторалкил. Примеры включают фторметил (CH₂F-), дифторметил (CHF₂-), трифторметил (CF₃-), 2,2,2-трифторэтил (CF₃CH₂-), 1,1-дифторэтил (CH₃CHF₂-), 2,2-дифторэтил (CHF₂CH₂-) и 2-фторэтил (CH₂FCH₂-).

Галоген означает фтор, хлор, бром и йод. В варианте осуществления галоген представляет собой фтор или хлор.

В настоящем описании, если не указано иное, используемый в данном документе термин "фармацевтически приемлемый" относится к тем соединениям, материалам, композициям и/или дозированным лекарственным формам, которые по результатам тщательной медицинской оценки являются подходящими для применения в контакте с тканями человеческого организма и животных, не вызывая чрезмерную токсичность, раздражение, аллергическую реакцию или другую проблему или осложнение в соответствии с разумным соотношением польза/риск.

В настоящем описании, если не указано иное, фраза "эффективное количество" означает количество соединения или композиции, которое является достаточным для существенного и положительного изменения симптомов и/или состояний, подлежащих лечению (например, обеспечения положительного клинического ответа). Эффективное количество активного ингредиента для применения в фармацевтической композиции будет изменяться в зависимости от конкретного состояния, подлежащего лечению, тяжести состояния, продолжительности лечения, характера сопутствующей терапии, используемого конкретного активного ингредиента(ингредиентов), используемого конкретного фармацевтически приемлемого(приемлемых) вспомогательного вещества(вспомогательных веществ)/носителя(носителей) и подобных факторов, находящихся в рамках компетентности и специальных знаний лечащего врача.

Используемый в данном документе термин "лечение", если не указано иное, означает обращение, облегчение, подавление течения, задерживание прогрессирования, задерживание начала или предупреждение нарушения или состояния, по отношению к которому применяют такой термин, или одного или нескольких симптомов такого нарушения или состояния. Используемый в данном документе термин "осуществление лечения", если не указано иное, относится к процессу лечения, при этом определение термина "лечение" приведено непосредственно выше. Термин "лечение" также включает лечение субъекта с применением адьюванта и неадьюванта. Во избежание неоднозначности толкования упоминание в данном документе термина "лечение" в том числе относится к радикальному, паллиативному и профилактическому лечению, а также к введению лекарственного препарата для применения в таком лечении.

Соединения формулы (I) могут образовывать стабильные фармацевтически приемлемые соли присоединения кислоты или основания, и в таких случаях подходящим может быть введение соединения в виде соли. Примеры солей присоединения кислоты включают ацетат, адипат, аскорбат, бензоат, бензолсульфонат, бикарбонат, бисульфат, бутират, камфорат, камфорсульфонат, холин, цитрат, циклогексилсульфамат, диэтилендиамин, этансульфонат, fumarат, глутамат, гликолят, гемисульфат, 2-гидроксиэтилсульфонат, гептаноат, гексаноат, гидрохлорид, гидробромид, гидройодид, гидроксималеат, лактат, малат, малеат, метансульфонат, меглюмин, 2-нафталинсульфонат, нитрат, оксалат, памоат, персульфат, фенол-ацетат, фосфат, дифосфат, пикрат, пивалат, пропионат, хинат, салицилат, стеарат, сукцинат, сульфамат, сульфанилат, сульфат, тартрат, тозилат (п-толуолсульфонат), трифторацетат и ундеcanoат. Предпочтительными являются нетоксичные физиологически приемлемые соли, хотя другие соли также могут быть пригодными, например, при выделении или очистке продукта.

Соли могут быть образованы традиционными способами, например посредством осуществления реакции продукта в форме свободного основания с одним или несколькими эквивалентами соответствующей кислоты в растворителе или среде, в которой соль является нерастворимой, или в растворителе, таком как вода, который удаляют *in vacuo* или с помощью лиофилизации, или посредством замены анионов имеющейся соли на другой анион в подходящей ионообменной смоле.

Соединения формулы (I) могут иметь более чем один хиральный центр, и следует понимать, что настоящее изобретение охватывает все отдельные стереоизомеры, энантиомеры и диастереоизомеры, а также их смеси. Таким образом, следует понимать, что, поскольку соединения формулы (I) могут суще-

ствовать в оптически активных или рацемических формах благодаря одному или нескольким асимметрическим атомам углерода, настоящее изобретение включает в своем определении любую такую оптически активную или рацемическую форму, которая обладает упомянутой выше активностью. Настоящее изобретение охватывает все такие стереоизомеры, обладающие активностью, определенной в данном документе.

Таким образом, по всему тексту настоящего описания, где упоминается соединение формулы (I), следует понимать, что термин "соединение" включает диастереоизомеры, смеси диастереоизомеров и энантиомеры, которые представляют собой ингибиторы PARP1.

Также следует понимать, что определенные соединения формулы (I) и их фармацевтически приемлемые соли могут существовать в сольватированной, а также в несольватированной формах, таких как, например, гидратированные и безводные формы. Следует понимать, что соединения в данном документе охватывают все такие сольватированные формы. Для ясности, это включает как сольватированные (например, гидратированные) формы свободной формы соединения, так и сольватированные (например, гидратированные) формы соли соединения.

Предполагается, что формула (I), описанная в данном документе, охватывает все изотопы составляющих ее атомов. Например, H (или водород) включает любую изотопную форму водорода, в том числе ^1H , ^2H (D) и ^3H (T); C включает любую изотопную форму углерода, в том числе ^{12}C , ^{13}C и ^{14}C ; O включает любую изотопную форму кислорода, в том числе ^{16}O , ^{17}O и ^{18}O ; N включает любую изотопную форму азота, в том числе ^{13}N , ^{14}N и ^{15}N ; F включает любую изотопную форму фтора, в том числе ^{19}F и ^{18}F ; и т.п. В одном аспекте соединения формулы (I) включают изотопы атомов, предусмотренные в данном документе, в количествах, соответствующих их содержанию, встречающемуся в природе. Однако в некоторых случаях может быть необходимо обогащать один или несколько атомов в конкретном изотопе, который обычно содержится в меньшем количестве. Например, ^1H обычно содержится в количестве, превышающем 99,98%; однако в одном аспекте соединение любой формулы, представленной в данном документе, может быть обогащено ^2H или ^3H в одном или нескольких положениях, где присутствует H. В другом аспекте, если соединение любой формулы, представленной в данном документе, обогащено радиоактивным изотопом, например ^3H и ^{14}C , то соединение может являться пригодным для применения в анализах распределения лекарственного средства и/или субстрата в тканях. Следует понимать, что настоящее изобретение охватывает все такие изотопные формы.

Соединения формулы (I) или их фармацевтически приемлемые соли обычно вводят пероральным путем в форме фармацевтических препаратов, содержащих активный ингредиент, или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, или сольват такой соли в фармацевтически приемлемой дозированной лекарственной форме. В зависимости от нарушения и пациента, подлежащего лечению, композиции можно вводить в различных дозах.

Фармацевтические составы на основе соединения формулы (I), описанные выше, могут быть получены для перорального введения, в частности, в форме таблеток или капсул, и особенно с применением технологий, направленных на обеспечение целенаправленного высвобождения лекарственного средства в толстом кишечнике (Patel, M.M. Expert Opin. Drug Deliv. 2011, 8(10), 1247-1258).

Фармацевтические составы на основе соединения формулы (I), описанного выше, в целях удобства можно вводить в стандартной дозированной лекарственной форме, и их можно получать посредством любого из способов, хорошо известных в области фармацевтики, например, как описано в Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA. (1985).

Фармацевтические составы, подходящие для перорального введения, могут содержать один или несколько физиологически совместимых носителей и/или вспомогательных веществ и могут находиться в твердой или жидкой форме. Таблетки и капсулы можно получать с применением связывающих средств, наполнителей, смазывающих средств и/или поверхностно-активных веществ, таких как лаурилсульфат натрия. Жидкие композиции могут содержать традиционные добавки, такие как суспендирующие средства, эмульгирующие средства и/или консерванты. Жидкие композиции могут быть инкапсулированы, например, в желатин, с получением стандартной дозированной лекарственной формы. Твердые лекарственные формы для перорального введения включают таблетки, двустворчатые капсулы с твердой оболочкой и мягкие эластичные желатиновые (SEG) капсулы. Такие двустворчатые капсулы с твердой оболочкой могут быть получены, например, посредством заполнения соединением формулы (I) желатиновой или гидроксипропилметилцеллюлозной (HPMC) оболочкой.

Состав сухой оболочки, как правило, содержит желатин в концентрации от приблизительно 40 до 60% вес./вес., пластификатор в концентрации от приблизительно 20 до 30% (такой как глицерин, сорбит или пропиленгликоль) и воду в концентрации от приблизительно 30 до 40%. Также могут присутствовать другие материалы, такие как консерванты, красители, замутняющие средства и ароматизаторы. Материал для жидкой заливки содержит твердое лекарственное средство, которое было растворено, солубилизировано или диспергировано (с помощью суспендирующих средств, таких как пчелиный воск, гидрогенизированное касторовое масло или полиэтиленгликоль 4000), или жидкое лекарственное средство в средах-носителях или комбинациях сред-носителей, таких как минеральное масло, растительные масла, триглицериды, гликоли, полиолы и поверхностно-активные средства.

Подходящие суточные дозы соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли в терапевтическом лечении людей составляют приблизительно 0,0001-100 мг/кг веса тела.

Предпочтительными являются составы для перорального введения, в частности таблетки или капсулы, которые могут быть составлены посредством способов, известных специалистам в данной области техники, с обеспечением доз активного соединения в диапазоне от 0,1 до 1000 мг.

Краткое описание графических материалов

На фиг. 1 показана порошковая рентгеновская дифрактограмма для примера 4 формы А.

На фиг. 2 показана кривая DSC для примера 4 формы А.

Примеры

Далее соединения по настоящему изобретению будут дополнительно пояснены с помощью ссылки на следующие неограничивающие примеры.

Общие экспериментальные условия.

Спектры ^1H ЯМР получали с применением спектрометра Bruker 300 МГц, 400 МГц или 500 МГц при 27°C, если не указано иное; химические сдвиги выражены в частях на миллион (ppm, δ -единицах) и относительно остаточного моно- ^1H изотополога растворителя (CHCl_3 : 7,24 ppm; CH_2Cl_2 : 5,32 ppm; $\text{CD}_3\text{S(=O)CD}_2\text{H}$: 2,49 ppm). Константы взаимодействия приведены в герцах (Гц). Паттерны разделения описывают наблюдаемые мультиплетности и обозначены как s (синглет), d (дублет), t (триплет), q (квартет), m (мультиплет) и br s (широкий синглет). LC-MS осуществляли с применением системы Waters для UPLC, оснащенной масс-спектрометром Waters SQD, или системы Shimadzu LC-20AD LC-20XR LC-30AD с масс-спектрометром Shimadzu 2020. Указанные молекулярные ионы соответствуют $[\text{M}+\text{H}]^+$, если не указано иное; для молекул с дифрактограммами множественных изотопов (Br, Cl и т.д.) указанное значение является значением, полученным для изотопа с наименьшей массой, если не указано иное.

Флэш-хроматографию проводили с применением прямофазной флэш-хроматографии на системе для очистки SP1TM от BiotageTM, CombiFlash[®]Rf от ISCO или на системе Gilson от Thermo Fisher с использованием картриджей с силикагелем для нормальной фазы FLASH⁺TM (40, 25 или 12 M) или SNAPTM KP-Sil (340, 100, 50 или 10 M), колонок Flash silica-CS от Agela, с применением флэш-колонок C18 или стандартной флэш-хроматографии. В целом, все используемые растворители были коммерчески доступными и аналитической степени чистоты. Для осуществления реакций обычно применяли безводные растворители. Фазовые сепараторы, используемые в примерах, представляют собой колонки для фазового разделения ISOLUTE[®]. Промежуточные соединения и примеры, названные ниже, были названы с использованием ACD/Name 12.01 от Advanced Chemistry Development, Inc. (ACD/Labs). Исходные материалы получали из коммерческих источников или получали посредством путей, указанных в источниках литературы.

Анализ с помощью порошковой рентгеновской дифракции (XRPD).

XRPD-анализ проводили с применением дифрактометра Bruker D8, который является коммерчески доступным от Bruker AXS IncTM (Мэдисон, штат Висконсин). Спектры XRPD получали путем установки образца (примерно 10 мг) материала для анализа на пластинчатый держатель из монокристалла кремния (например, кремниевый держатель образцов для рентгеновской дифракции с нулевым фоновым значением Bruker) и распределения образца в виде тонкого слоя с помощью предметного стекла. Образец вращали со скоростью 30 об/мин (для улучшения статистики подсчета) и облучали рентгеновским излучением, генерируемым медной длинной острофокусной трубкой, эксплуатируемой при 40 кВ и 40 мА с длиной волны 1,5406 ангстрема (т.е. приблизительно 1,54 ангстрема). Образец экспонировали в течение 1 с с приращением в 0,02° угла 2-тета (режим непрерывного сканирования) в диапазоне от 5 до 40° угла 2-тета в режиме тета-тета. Время цикла составляло ~15 мин для D8.

Значения угла 2 θ XRPD могут изменяться в приемлемом диапазоне, например в диапазоне $\pm 0,2^\circ$, и такие значения интенсивности XRPD могут изменяться при измерении по сути той же кристаллической формы по целому ряду причин, в том числе, например, предпочтительной ориентации. Принципы XRPD описаны в публикациях, таких как, например, Giacovazzo, C. et al. (1995), *Fundamentals of Crystallography*, Oxford University Press; Jenkins, R. and Snyder, R.L. (1996), *Introduction to X-Ray Powder Diffractometry*, John Wiley & Sons, New York; и Klug, H.P. & Alexander, L.E. (1974), *X-ray Diffraction Procedures*, John Wiley and Sons, New York.

DSC-анализ.

DSC-анализ проводили на образцах, полученных в соответствии со стандартными способами с применением DSC-калориметра Q SERIESTM Q1000, доступного от TA INSTRUMENTS[®] (Нью-Касл, штат Делавер). Образец (примерно 2 мг) взвешивали в алюминиевом тигле для образцов и переносили в DSC. Устройство продували азотом со скоростью 50 мл/мин и данные собирали в диапазоне от 22 до 300°C с использованием скорости динамического нагревания 10°C/мин. Тепловые данные анализировали с применением стандартного программного обеспечения, например Universal V.4.5A от TA INSTRUMENTS[®].

Применяли следующие сокращения: AcOH = уксусная кислота; aq = водный; BAST = трифторид бис-(2-метоксиэтил)аминосеры; Boc₂O = ди-трет-бутилдекарбонат; Boc = трет-бутилоксикарбонил;

5,49 (1H, dd), 6,27 (1H, dd), 6,84 (1H, dd), 7,15 (1H, s), 7,81 (1H, s), 8,78 (1H, s), 12,00 (1H, br s); масса/заряд (ES^+) $[M+H]^+ = 201$.

Промежуточное соединение 4. 3-Этил-2-оксо-1H-1,6-нафтиридин-7-карбальдегид.

Тетраоксид осмия в H_2O (0,024 мл, 3,00 мкмоль) добавляли к раствору 3-этил-7-винил-1H-1,6-нафтиридин-2-она (промежуточного соединения 3, 30 мг, 0,15 ммоль), 2,6-лутидина (0,035 мл, 0,30 ммоль) и периодата натрия (128 мг, 0,60 ммоль) в THF (1 мл)/воде (0,200 мл) и перемешивали при к.т. в течение ночи. Реакционную смесь разбавляли водой и экстрагировали этилацетатом, и фильтрат концентрировали до сухого состояния. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле, градиент элюирования 0-15% MeOH в DCM. Фракции, содержащие продукт, концентрировали при пониженном давлении с получением 3-этил-2-оксо-1H-1,6-нафтиридин-7-карбальдегида (промежуточного соединения 4, 24,00 мг, 79%) в виде светло-желтой пены.

1H ЯМР ($DMSO-d_6$) δ 1,20 (3H, t), 2,55-2,62 (2H, m, перекрывается с пиком растворителя DMSO пик), 7,73 (1H, s), 7,95 (1H, s), 9,03 (1H, s), 10,00 (1H, s), 12,32 (1H, br s); масса/заряд (ES^+) $[M+H]^+ = 203$.

Промежуточное соединение 5. 3-Этил-7-(гидроксиметил)-1H-1,6-нафтиридин-2-он.

Борогидрид натрия (61,4 мг, 1,62 ммоль) медленно добавляли к перемешиваемому раствору 3-этил-2-оксо-1H-1,6-нафтиридин-7-карбальдегида (промежуточного соединения 4, 82 мг, 0,41 ммоль) в метаноле (2 мл) при $0^\circ C$ и полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Метанол удаляли под вакуумом и полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле, градиент элюирования 0-35% MeOH в DCM. Фракции, содержащие продукт, концентрировали при пониженном давлении с получением 3-этил-7-(гидроксиметил)-1H-1,6-нафтиридин-2-она (промежуточного соединения 5, 68,0 мг, 82%) в виде бледно-желтого твердого вещества.

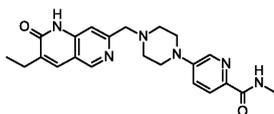
1H ЯМР (500 МГц, $DMSO-d_6$) δ 1,18 (3H, t), 2,52-2,55 (2H, m, перекрывается с пиком растворителя DMSO пик), 4,59 (2H, br s), 5,52 (1H, br s), 7,33 (1H, s), 7,80 (1H, s), 8,71 (1H, s), 12,01 (1H, br s); масса/заряд (ES^+) $[M+H]^+ = 205$.

Промежуточное соединение 6. 7-(Бромметил)-3-этил-1H-1,6-нафтиридин-2-он.

CBr_4 (928 мг, 2,80 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору 3-этил-7-(гидроксиметил)-1H-1,6-нафтиридин-2-она (промежуточного соединения 5, 381 мг, 1,87 ммоль) и трифенилфосфина (734 мг, 2,80 ммоль) в CH_2Cl_2 (18,656 мл) при $0^\circ C$ и полученный раствор перемешивали при $0^\circ C$ в течение 2 ч. Реакционную смесь концентрировали и полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле, градиент элюирования 0-15% MeOH в DCM. Фракции, содержащие продукт, концентрировали при пониженном давлении с получением 7-(бромметил)-3-этил-1H-1,6-нафтиридин-2-она (промежуточного соединения 6, 386 мг, 77%) в виде белого твердого вещества (содержит оксид трифенилфосфина, вызывает сложности при разделении). Данное соединение применяли на следующей стадии без дополнительной очистки.

Масса/заряд (ES^+) $[M]^+ = 267$.

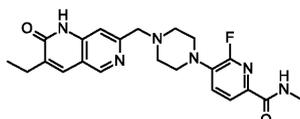
Пример 1. 5-[4-[(3-Этил-2-оксо-1H-1,6-нафтиридин-7-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метил-пиридин-2-карбоксамид.



DIPEA (0,059 мл, 0,34 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору 7-(бромметил)-3-этил-1H-1,6-нафтиридин-2-она (промежуточного соединения 6, 30 мг, 0,11 ммоль) и N-метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамид, 2HCl (промежуточного соединения 13, 42,8 мг, 0,15 ммоль) в ацетонитриле (1 мл) при $20^\circ C$. Полученный раствор перемешивали при $70^\circ C$ в течение 2 ч. Растворитель удаляли под вакуумом и полученный неочищенный материал дополнительно очищали посредством хроматографии с обращенной фазой (RediSep Rf Gold® C18, 0-90% ацетонитрила в воде, 0,1% NH_4OH в качестве добавки). Фракции, содержащие продукт, концентрировали при пониженном давлении до сухого состояния с получением 5-[4-[(3-этил-2-оксо-1H-1,6-нафтиридин-7-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метил-пиридин-2-карбоксамид (примера 1, 23,60 мг, 51,7%) в виде бледно-желтого твердого вещества.

1H ЯМР (500 МГц, $DMSO-d_6$) δ 1,18 (3H, br t), 2,54 (2H, m, перекрывается с пиком растворителя DMSO пик), 2,67 (4H, br s), 2,79 (3H, br d), 3,38 (4H, br s), 3,75 (2H, br s), 7,34 (1H, s), 7,42 (1H, br dd), 7,77-7,88 (2H, m), 8,29 (1H, br d), 8,40 (1H, br d), 8,75 (1H, s), 11,60-12,11 (1H, m); масса/заряд (ES^+) $[M+H]^+ = 407$.

Пример 2. 5-[4-[(3-Этил-2-оксо-1H-1,6-нафтиридин-7-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-фтор-N-метил-пиридин-2-карбоксамид.

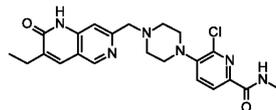


DIPEA (0,082 мл, 0,47 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору 7-(бромметил)-3-этил-1H-

1,6-нафтиридин-2-она (промежуточного соединения 6, 25 мг, 0,09 ммоль) и 6-фтор-N-метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамид, HCl (промежуточного соединения 23, 28,3 мг, 0,10 ммоль) в ацетонитриле (2 мл) при 20°C. Полученный раствор перемешивали при 70°C в течение 2 ч. Растворитель удаляли под вакуумом. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле, градиент элюирования 0-20% MeOH в DCM. Фракции, содержащие продукт, концентрировали при пониженном давлении с получением 5-[4-[(3-этил-2-оксо-1H-1,6-нафтиридин-7-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-фтор-N-метилпиридин-2-карбоксамид (примера 2, 17,00 мг, 42,8%) в виде бледно-желтого твердого вещества.

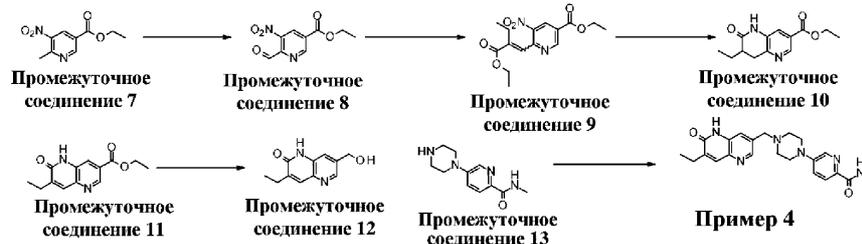
¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 1,18 (3H, t), 2,52-2,55 (2H, m, перекрывается с пиком растворителя DMSO пик), 2,64 (4H, br s), 2,77 (3H, d), 3,20 (4H, br s), 3,70 (2H, s), 7,32 (1H, s), 7,59 (1H, dd), 7,80 (1H, s), 7,86 (1H, d), 8,31-8,49 (1H, m), 8,73 (1H, s), 11,93 (1H, br s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 425.

Пример 3. 6-Хлор-5-[4-[(3-этил-2-оксо-1H-1,6-нафтиридин-7-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид.



DIPEA (0,082 мл, 0,47 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору 7-(бромметил)-3-этил-1H-1,6-нафтиридин-2-она (промежуточного соединения 6, 25 мг, 0,09 ммоль) и 6-хлор-N-метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамид, 2HCl (промежуточного соединения 47, 33,7 мг, 0,10 ммоль) в ацетонитриле (2 мл) при 20°C и полученный раствор перемешивали при 70°C в течение 2 ч. Растворитель удаляли под вакуумом. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле, градиент элюирования 0-20% MeOH в DCM. Фракции, содержащие продукт, концентрировали при пониженном давлении с получением 6-хлор-5-[4-[(3-этил-2-оксо-1H-1,6-нафтиридин-7-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид (примера 3, 19,20 мг, 46,5%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 1,18 (3H, t), 2,53 (2H, m, перекрывается с пиком растворителя DMSO пик), 2,66 (4H, br s), 2,80 (3H, d), 3,15 (4H, br s), 3,72 (2H, s), 7,33 (1H, s), 7,68 (1H, d), 7,81 (1H, s), 7,95 (1H, d), 8,43 (1H, br d), 8,74 (1H, s), 11,93 (1H, s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 441.



Промежуточное соединение 8. Этил-6-формил-5-нитропиридин-3-карбоксилат.

Смесь этил-6-метил-5-нитропиридин-3-карбоксилата (промежуточного соединения 7, 10 г, 47,58 ммоль) и диоксида селена (7,92 г, 71,36 ммоль) в 1,4-диоксане (50 мл) перемешивали при 110°C в течение 20 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, фильтровали через слой целита и целит промывали этилацетатом. Объединенный фильтрат концентрировали и полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле, градиент элюирования 0-70% этилацетата в гексанах. Фракции, содержащие продукт, концентрировали при пониженном давлении с получением этил-6-формил-5-нитропиридин-3-карбоксилата (промежуточного соединения 8, 9,70 г, 91%) в виде коричневого масла.

¹H ЯМР (500 МГц, ХЛОРОФОРМ-d) 1,48 (3H, t), 4,54 (2H, q), 8,81 (1H, d), 9,51 (1H, d), 10,32 (1H, s); масса/заряд (ES⁺) [M]⁺ = 224.

Промежуточное соединение 9. Этил-6-[(E)-2-этоксикарбонилбут-1-енил]-5-нитропиридин-3-карбоксилат (смесь изомеров E/Z).

К перемешиваемому раствору гидрида натрия (9,63 г, 240,89 ммоль) (60% в минеральном масле) в безводном THF (100 мл) с помощью капельной воронки добавляли этил-2-(диэтоксифосфорил)бутаноат (60,8 г, 240,89 ммоль) при 0°C с получением смеси, окрашенной в серый цвет. Полученную смесь перемешивали при 0°C в течение 10 мин, нагревали до комнатной температуры в течение 10 мин и перемешивали при 40°C в течение 5 мин. Реакционную смесь охлаждали до -78°C и затем к данной охлажденной реакционной смеси медленно добавляли раствор этил-6-формил-5-нитропиридин-3-карбоксилата (промежуточного соединения 8, 22,5 г, 100,37 ммоль) в 100 мл THF. Смесь гасили с помощью насыщ. раствора NH₄Cl, экстрагировали этилацетатом. Объединенные органические слои высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали с получением неочищенного продукта. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле, градиент элюирования 0-50% этилацетата в гексанах. Фракции, содержащие продукт, концентрировали при пониженном давлении с получением этил-6-[(E)-2-этоксикарбонилбут-1-енил]-5-нитропиридин-3-карбоксилата (промежуточного соединения 9, 24,30 г, 75%) в виде желтого масла (1:1 и смесь изомеров E/Z).

^1H ЯМР (500 МГц, ХЛОРОФОРМ-d) 1,13 (3H, t), 1,18 (3H, t), 1,23 (3H, t), 1,37 (3H, t), 1,45 (6H, q), 2,57 (2H, qd), 2,66 (2H, q), 4,11-4,24 (2H, m), 4,32 (2H, q), 4,45-4,56 (4H, m), 7,08 (1H, s), 7,85 (1H, s), 8,86 (2H, dd), 9,26 (1H, d), 9,43 (1H, d); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}]^+ = 322$.

Промежуточное соединение 10. Этил-7-этил-6-оксо-7,8-дигидро-5H-1,5-нафтиридин-3-карбоксилат.

Смесь этил-6-[(E)-2-этоксикарбонилбут-1-енил]-5-нитропиридин-3-карбоксилата (1:1 смеси изомеров E/Z) (промежуточного соединения 9, 3,75 г, 11,63 ммоль), Pd/C (1,857 г, 1,75 ммоль) (10%) в этаноле (30 мл) дегазировали, заполняли с помощью H_2 (из баллона), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи в атмосфере H_2 . Смесь фильтровали через слой целита и слой целита промывали этанолом. После концентрирования 4 М HCl в диоксанах (15 мл) добавляли к полученному остатку и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Смесь разбавляли эфиром и твердое вещество отфильтровывали, промывали диэтиловым эфиром и высушивали под вакуумом с получением этил-7-этил-6-оксо-7,8-дигидро-5H-1,5-нафтиридин-3-карбоксилата (промежуточного соединения 10, 2,260 г, 78%) в виде белого твердого вещества.

^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 0,94 (3H, t), 1,33 (3H, t), 1,41-1,51 (1H, m), 1,69-1,81 (1H, m), 2,41-2,48 (1H, m), 2,94 (1H, dd), 3,20 (1H, dd), 4,35 (2H, t), 7,67 (1H, d), 8,61 (1H, d), 10,32 (1H, s); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 249$.

Промежуточное соединение 11. Этил-7-этил-6-оксо-5H-1,5-нафтиридин-3-карбоксилат.

Этил-7-этил-6-оксо-7,8-дигидро-5H-1,5-нафтиридин-3-карбоксилат (промежуточное соединение 10, 2,26 г, 9,10 ммоль) растворяли в 1,4-диоксане (40 мл), добавляли DDQ (2,273 г, 10,01 ммоль) и смесь перемешивали с обратным холодильником в течение 3 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении, добавляли насыщ. раствор NaHCO_3 и остаток перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Твердое вещество отфильтровывали, промывали водой, затем промывали с помощью 10 мл диэтилового эфира. Полученное твердое вещество высушивали под вакуумом с получением этил-7-этил-6-оксо-5H-1,5-нафтиридин-3-карбоксилата (промежуточного соединения 11, 1,738 г, 78%) в виде светлого коричневого твердого вещества.

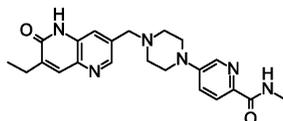
^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 1,14-1,28 (3H, m), 1,35 (3H, t), 2,58 (2H, q), 4,38 (2H, q), 7,83 (1H, s), 8,17 (1H, s), 8,90 (1H, s), 12,05 (1H, s); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 247$.

Промежуточное соединение 12. 3-Этил-7-(гидрокси-метил)-1H-1,5-нафтиридин-2-он.

Алюмогидрид лития, 2 М в THF (29,2 мл, 58,47 ммоль) по каплям добавляли к этил-7-этил-6-оксо-5H-1,5-нафтиридин-3-карбоксилату (промежуточному соединению 11, 7,2 г, 29,24 ммоль) в тетрагидрофуране (150 мл) при 0°C в течение 45 мин в атмосфере азота. Полученную смесь перемешивали при 0°C в течение 1,5 ч. Реакционную смесь гасили посредством добавления по каплям 1 М водн. HCl (29 мл). Реакционную смесь концентрировали, и твердое вещество разбавляли водой (~150 мл) и 29 мл 1 М раствора HCl с получением желтой суспензии. Твердое вещество собирали посредством фильтрации, промывали водой, диэтиловым эфиром и высушивали с получением неочищенного продукта в виде желтого твердого вещества (загрязненного некоторым количеством неорганической соли). Данное твердое вещество суспендировали в смеси метанола и DCM (2:1) (400 мл) и нагревали с обратным холодильником. Твердое вещество отфильтровывали. Данное твердое вещество ресуспендировали в смеси метанол/DCM и повторяли данную процедуру 5 раз с получением большей части продукта из данной смеси. Затем объединенный фильтрат концентрировали до приблизительно 100 мл и твердое вещество собирали посредством фильтрации, промывали эфиром, высушивали под вакуумом с получением 3-этил-7-(гидрокси-метил)-1H-1,5-нафтиридин-2-она (промежуточного соединения 12, 4,35 г, 72,8%) в виде желтого твердого вещества.

^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 1,18 (3H, t), 2,52-2,56 (2H, m), 4,61 (2H, d), 5,44 (1H, t), 7,61 (1H, s), 7,74 (1H, s), 8,37 (1H, s), 11,87 (1H, br s); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 205,3$.

Пример 4. 5-[4-[(7-Этил-6-оксо-5H-1,5-нафтиридин-3-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид.

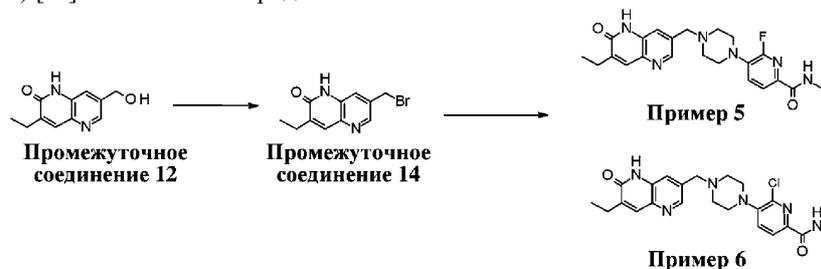


Тионилхлорид (6,41 мл, 88,14 ммоль) по каплям добавляли к суспензии 3-этил-7-(гидрокси-метил)-1,5-нафтиридин-2(1H)-она (промежуточного соединения 12, 3 г, 14,69 ммоль) и N,N-диметилформамида (0,114 мл, 1,47 ммоль) в CH_2Cl_2 (60 мл) при 0°C и полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 6 ч. Смесь концентрировали до сухого состояния с получением неочищенного 7-(хлорметил)-3-этил-1H-1,5-нафтиридин-2-она (промежуточного соединения 17).

DIPEA (12,83 мл, 73,45 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору 7-(хлорметил)-3-этил-1H-1,5-нафтиридин-2-она (промежуточного соединения 17, неочищенного, как указано выше), йодида калия (0,488 г, 2,94 ммоль) и N-метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамид, 2HCl (промежуточного соединения 13, 4,31 г, 14,69 ммоль) в ацетонитриле (50,00 мл) при 20°C. Полученный раствор перемешивали при 80°C в течение 2 ч. Растворитель удаляли под вакуумом. Неочищенный материал разбавляли во-

дой, подщелачивали с помощью воды, раствора NaHCO_3 и экстрагировали этилацетатом. Органический слой высушивали над сульфатом натрия и концентрировали с получением неочищенного продукта. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле, градиент элюирования 0-15% MeOH в DCM. Фракции, содержащие продукт, концентрировали при пониженном давлении с получением 5-[4-[(7-этил-6-оксо-5H-1,5-нафтиридин-3-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид (примера 4, 3,93 г, 65,8%) в виде грязно-белого частично кристаллического твердого вещества.

^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6) δ 1,19 (3H, t), 2,53-2,59 (6H, m), 2,79 (3H, d), 3,33-3,39 (4H, m), 3,66 (2H, s), 7,39 (1H, dd), 7,64 (1H, s), 7,76 (1H, s), 7,83 (1H, d), 8,27 (1H, d), 8,36-8,40 (1H, m), 8,41 (1H, d), 11,85 (1H, s); (ES^+) $[\text{M}]^+ = 406$.масса/заряд.

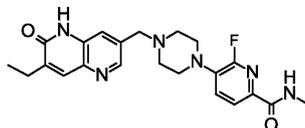


Промежуточное соединение 14. 7-(Бромметил)-3-этил-1H-1,5-нафтиридин-2-он.

SnCl_4 (219 мг, 0,66 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору 3-этил-7-(гидроксиметил)-1H-1,5-нафтиридин-2-она (промежуточного соединения 12, 90 мг, 0,44 ммоль) и трифенилфосфина (173 мг, 0,66 ммоль) в CH_2Cl_2 (4 мл) при 0°C . Полученный раствор перемешивали при 0°C в течение 2 ч. Реакционную смесь концентрировали под вакуумом и полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле, градиент элюирования 0-15% MeOH в DCM. Фракции, содержащие продукт, концентрировали при пониженном давлении с получением 7-(бромметил)-3-этил-1H-1,5-нафтиридин-2-она (промежуточного соединения 14, 84 мг, 71,4%) (содержит оксид трифенилфосфина, вызывает сложности при разделении). Данное соединение применяли на следующей стадии без дополнительной очистки.

Масса/заряд (ES^+) $[\text{M}]^+ = 267$.

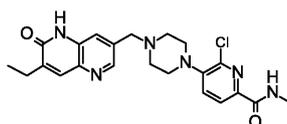
Пример 5. 5-[4-[(7-Этил-6-оксо-5H-1,5-нафтиридин-3-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-фтор-N-метилпиридин-2-карбоксамид.



DIPEA (0,082 мл, 0,47 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору 7-(бромметил)-3-этил-1H-1,5-нафтиридин-2-она (промежуточного соединения 14, 25 мг, 0,09 ммоль) и 6-фтор-N-метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамид, 2HCl (промежуточного соединения 23, 32,0 мг, 0,10 ммоль) в ацетонитриле (2 мл) при 20°C . Полученный раствор перемешивали при 70°C в течение 2 ч. Растворитель удаляли под вакуумом. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле, градиент элюирования 0-20% MeOH в DCM. Фракции, содержащие продукт, концентрировали при пониженном давлении с получением 5-[4-[(7-этил-6-оксо-5H-1,5-нафтиридин-3-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-фтор-N-метилпиридин-2-карбоксамид (примера 5, 13,00 мг, 33%), бледно-желтого твердого вещества.

^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6) δ 1,19 (3H, t), 2,55 (2H, m, перекрывается с пиком растворителя DMSO пик), 2,58 (4H, br d), 2,77 (3H, d), 3,19 (4H, br s), 3,67 (2H, s), 7,57 (1H, dd), 7,63 (1H, s), 7,76 (1H, s), 7,85 (1H, d), 8,32-8,49 (2H, m), 11,85 (1H, s); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 425$.

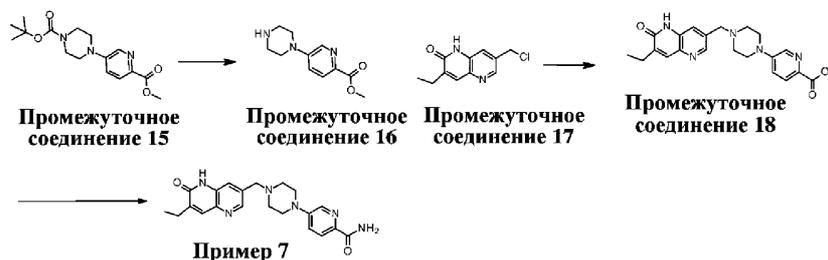
Пример 6. 6-Хлор-5-[4-[(7-этил-6-оксо-5H-1,5-нафтиридин-3-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид



DIPEA (0,082 мл, 0,47 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору 7-(бромметил)-3-этил-1H-1,5-нафтиридин-2-она (промежуточного соединения 14, 25 мг, 0,09 ммоль) и 6-хлор-N-метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамид (промежуточного соединения 48, 26,2 мг, 0,10 ммоль) в ацетонитриле (2 мл) при 20°C . Полученный раствор перемешивали при 70°C в течение 2 ч. Растворитель удаляли под вакуумом. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле, градиент элюирования 0-20% MeOH в DCM. Фракции, содержащие продукт, концентрировали при пониженном давлении с получением 6-хлор-5-[4-[(7-этил-6-оксо-5H-1,5-нафтиридин-3-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид (примера 6, 19,80 мг, 48,0%) в виде бледно-желтого

твердого вещества.

^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6) δ 1,19 (3H, t), 2,55 (2H, m, перекрывается с пиком растворителя DMSO пик), 2,58-2,65 (4H, m), 2,79 (3H, d), 3,13 (4H, br s), 3,68 (2H, s), 7,63 (1H, d), 7,67 (1H, d), 7,76 (1H, s), 7,94 (1H, d), 8,34 - 8,50 (2H, m), 11,85 (1H, s); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 441$.



Промежуточное соединение 16. Метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксилат.

HCl в диоксане (4,67 мл, 18,67 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору трет-бутил-4-(6-метоксикарбонил-3-пиридил)пиперазин-1-карбоксилата (промежуточного соединения 15, 600 мг, 1,87 ммоль) в MeOH (1 мл) и полученный раствор перемешивали при к.т. в течение 18 ч. Растворитель удаляли под вакуумом с получением метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксилата, 2HCl (промежуточного соединения 16, 543 мг, 99%) в виде светло-желтого твердого вещества.

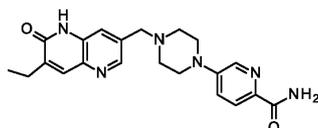
^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6) δ 3,20 (4H, br s), 3,71 (4H, br s), 3,85 (3H, s), 7,58 (1H, br d), 7,99 (1H, br d), 8,43 (1H, br s), 9,73 (2H, br), 11,29-11,75 (1H, br); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 222$.

Промежуточное соединение 18. Метил-5-[4-[(7-этил-6-оксо-5H-1,5-нафтиридин-3-ил)метил]пиперазин-1-ил]пиридин-2-карбоксилат.

DIPEA (944 мкл, 5,40 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору 7-(хлорметил)-3-этил-1H-1,5-нафтиридин-2-она, HCl (промежуточного соединения 17, 200 мг, 0,77 ммоль), йодида натрия (11,57 мг, 0,08 ммоль) и метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксилата, 2HCl (промежуточного соединения 16, 250 мг, 0,85 ммоль) в ацетонитриле (6774 мкл) при 20°C . Полученный раствор перемешивали при 80°C в течение 3 ч. Растворитель удаляли под вакуумом, добавляли 0,4 мл насыщенного раствора бикарбоната натрия и 1,5 мл ацетонитрила и реакционную смесь перемешивали в течение 10 мин. Твердое вещество отфильтровывали, промывали с помощью 2 мл воды, затем промывали с помощью 1 мл ацетонитрила с получением метил-5-[4-[(7-этил-6-оксо-5H-1,5-нафтиридин-3-ил)метил]пиперазин-1-ил]пиридин-2-карбоксилата (промежуточного соединения 18, 158 мг, 50,2%) в виде грязно-белого твердого вещества.

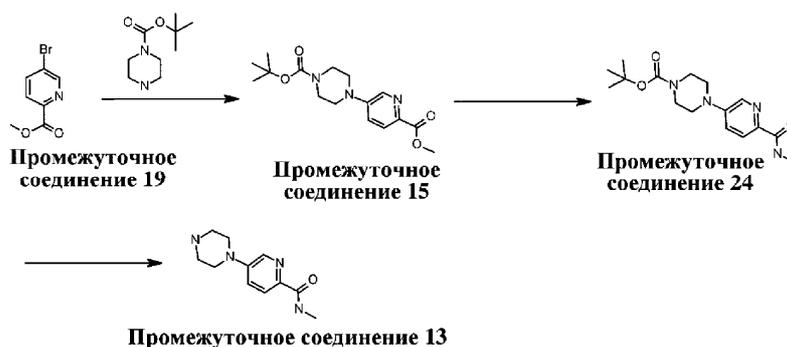
^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6) δ 1,19 (3H, br t), 2,54-2,61 (6H, m), 3,40 (4H, br s), 3,66 (2H, s), 3,81 (3H, s), 7,35 (1H, br dd), 7,62 (1H, s), 7,75 (1H, s), 7,88 (1H, br d), 8,28-8,47 (2H, m), 12,03 (1H, br); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 408$.

Пример 7. 5-[4-[(7-Этил-6-оксо-5H-1,5-нафтиридин-3-ил)метил]пиперазин-1-ил]пиридин-2-карбоксамида.



Аммиак в метаноле (4 мл, 28,00 ммоль) добавляли к метил-5-[4-[(7-этил-6-оксо-5H-1,5-нафтиридин-3-ил)метил]пиперазин-1-ил]пиридин-2-карбоксилату (промежуточному соединению 18, 60 мг, 0,15 ммоль), и полученный раствор нагревали до 50°C в течение 24 ч (в герметично закрытой пробирке). Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, и твердое вещество отфильтровывали и промывали с помощью 2 мл метанола с получением 5-[4-[(7-этил-6-оксо-5H-1,5-нафтиридин-3-ил)метил]пиперазин-1-ил]пиридин-2-карбоксамида (примера 7, 88 мг, 90%) в виде светло-коричневого твердого вещества.

^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6) δ 1,19 (3H, t), 2,56 (6H, m, перекрывается с пиком растворителя DMSO пик), 3,35 (4H, br d), 3,66 (2H, s), 7,30 (1H, br s), 7,40 (1H, dd), 7,64 (1H, s), 7,76 (2H, s), 7,85 (1H, d), 8,28 (1H, d), 8,41 (1H, d), 11,61-11,98 (1H, m); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 393$.



Промежуточное соединение 15. трет-Бутил-4-(6-метоксикарбонил-3-пиридил)пиперазин-1-карбоксилат.

Ruphos Pd G3 (4,07 г, 4,86 ммоль) добавляли к дегазированной смеси метил-5-бромпиридин-2-карбоксилата (промежуточного соединения 19, 30 г, 138,87 ммоль), трет-бутил-пиперазин-1-карбоксилата (27,2 г, 145,81 ммоль), Cs₂CO₃ (90 г, 277,73 ммоль) в 1,4-диоксане (200 мл) и смесь перемешивали при 110°C в течение 6 ч в атмосфере N₂. Затем смесь охлаждали до комнатной температуры, разбавляли водой, экстрагировали этилацетатом (150 мл×3). Объединенные органические слои высушивали над безводным Na₂SO₄ и фильтровали. К данному фильтрату добавляли 3-(диэтилтриамино)пропил-функционализированный силикагель (12 г, загрузка 1,3 ммоль/г) и смесь перемешивали при к.т. в течение 1 ч. Смесь фильтровали, и фильтрат концентрировали до ~100 мл. Желтое кристаллическое твердое вещество отфильтровывали, промывали эфиром и высушивали под вакуумом с получением трет-бутил-4-(6-метоксикарбонил-3-пиридил)пиперазин-1-карбоксилата (промежуточного соединения 15, 26,36 г, 82 ммоль, 59,1%) в виде желтого твердого вещества.

¹H ЯМР (500 МГц, ХЛОРОФОРМ-d) 1,50 (9H, s), 3,31-3,42 (4H, m), 3,56-3,68 (4H, m), 3,98 (3H, s), 8,04 (1H, d), 8,37 (1H, d); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 322.

Промежуточное соединение 24. трет-Бутил-4-[6-(метилкарбамоил)-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилат.

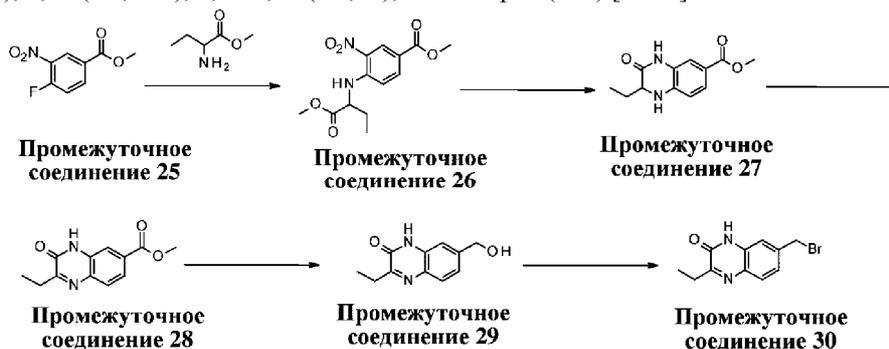
Метиламин (100 мл, 1155,26 ммоль, 40% в воде) добавляли к раствору трет-бутил-4-(6-метоксикарбонил-3-пиридил)пиперазин-1-карбоксилата (промежуточного соединения 15, 36 г, 112,02 ммоль) в MeOH (100 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4 ч с получением белой суспензии. Смесь концентрировали, остаток разделяли между насыщ. раствором NH₄Cl и DCM, слои разделяли. Водный слой экстрагировали с помощью DCM, органические слои объединяли, промывали солевым раствором, высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали с получением трет-бутил-4-[6-(метилкарбамоил)-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилата (промежуточного соединения 24, 35,9 г, 100%) в виде желтого твердого вещества.

¹H ЯМР (500 МГц, ХЛОРОФОРМ-d) 1,49 (9H, s), 3,02 (3H, d), 3,26-3,35 (4H, m), 3,58-3,67 (4H, m), 7,23 (1H, dd), 7,81 (1H, br d), 8,07 (1H, d), 8,16 (1H, d); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 321.

Промежуточное соединение 13. Карбоксилат N-метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамида.

HCl (4 M в диоксане, 150 мл, 600,00 ммоль) добавляли к суспензии трет-бутил-4-[6-(метилкарбамоил)-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилата (промежуточного соединения 24, 35,9 г, 112,05 ммоль) в MeOH (50 мл), и полученную оранжевую суспензию перемешивали при к.т. в течение 4 ч. Приблизительно 80 мл растворителя удаляли при пониженном давлении и смесь разбавляли эфиром и гексанами (200 мл, 1/1). Твердое вещество собирали посредством фильтрации, промывали гексанами, высушивали и высушивали под вакуумом с получением N-метил-5-пиперазин-1-ил-пиридин-2-карбоксамида, соли 2HCl (промежуточного соединения 13, 37,0 г, 100%) в виде желтого твердого вещества.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 2,79 (3H, d), 3,22 (4H, br s), 3,53-3,67 (4H, m), 7,51 (1H, dd), 7,91 (1H, d), 8,33 (1H, d), 8,50 (1H, br s), 9,19-9,49 (2H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 221.



Промежуточное соединение 26. Метил-4-(1-метоксикарбонилпропиламино)-3-нитробензоат.

Гидрокарбонат натрия (27,0 г, 321,39 ммоль) частями добавляли к перемешиваемой смеси метил-4-

фтор-3-нитробензоата (промежуточного соединения 25, 16 г, 80,35 ммоль) и метил-2-аминобутаноата, HCl (14,81 г, 96,42 ммоль) в THF (100 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Реакционную смесь гасили посредством добавления воды, экстрагировали этилацетатом. Объединенный органический слой промывали насыщенным водн. раствором NaHCO₃, органический слой высушивали над MgSO₄ и концентрировали до сухого состояния с получением метил-4-(1-метоксикарбонилпропиламино)-3-нитробензоата (промежуточного соединения 26, 22,86 г, 96%) в виде ярко-желтого твердого вещества.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 0,91 (3H, t), 1,75-2,12 (2H, m), 3,75 (3H, s), 3,85 (3H, s), 4,63-4,82 (1H, m), 7,15 (1H, d), 8,00 (1H, dd), 8,52-8,76 (2H, m).

Промежуточное соединение 27. Метил-2-этил-3-оксо-2,4-дигидро-1H-хиноксалин-6-карбоксилат.

Pd/C (4,15 г, 3,90 ммоль) частями добавляли к перемешиваемому раствору метил-4-(1-метоксикарбонилпропиламино)-3-нитробензоата (промежуточного соединения 26, 23,1 г, 77,97 ммоль) в MeOH (300 мл) и полученную взвесь перемешивали в атмосфере H₂ при комнатной температуре в течение 30 ч. Метанол удаляли под вакуумом, добавляли 150 мл DMF и смесь перемешивали в течение 10 мин. Палладиевый катализатор отфильтровывали на целите, промывали с помощью 50 мл DMF (материал обладает очень низкой растворимостью в органических растворителях, таких как MeOH/DCM/EtOAc). Фильтрат концентрировали в Genevac с получением метил-2-этил-3-оксо-2,4-дигидро-1H-хиноксалин-6-карбоксилата (промежуточного соединения 27, 15,80 г, 87%) в виде серого твердого вещества. Материал анализировали посредством ЯМР и применяли на следующей стадии без очистки.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 0,91 (3H, t), 1,63-1,73 (2H, m), 3,75 (3H, s), 3,90 (1H, td), 6,71 (1H, d), 6,84 (1H, s), 7,33 (1H, d), 7,41 (1H, dd), 10,39 (1H, s); масса/заряд (ES⁺) [M]⁺ = 235.

Промежуточное соединение 28. Метил-2-этил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-карбоксилат.

DDQ (15,87 г, 69,92 ммоль) добавляли к суспензии метил-2-этил-3-оксо-2,4-дигидро-1H-хиноксалин-6-карбоксилата (промежуточного соединения 27, 15,6 г, 66,59 ммоль) в 1,4-диоксане (150 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Смесь медленно добавляли к насыщенному водн. раствору NaHCO₃ (~500 мл) и перемешивали при комнатной температуре в течение 20 мин. Осадок фильтровали, промывали водой (100 мл) и высушивали с получением метил-2-этил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-карбоксилата в виде грязно-белого твердого вещества (промежуточного соединения 28, 11,40 г, 73,7%).

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 1,23 (3H, t), 2,83 (2H, q), 3,89 (3H, s), 7,73-7,86 (2H, m), 7,89 (1H, d), 12,45 (1H, s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 233.

Промежуточное соединение 29. 3-Этил-7-(гидроксиэтил)-1H-хиноксалин-2-он.

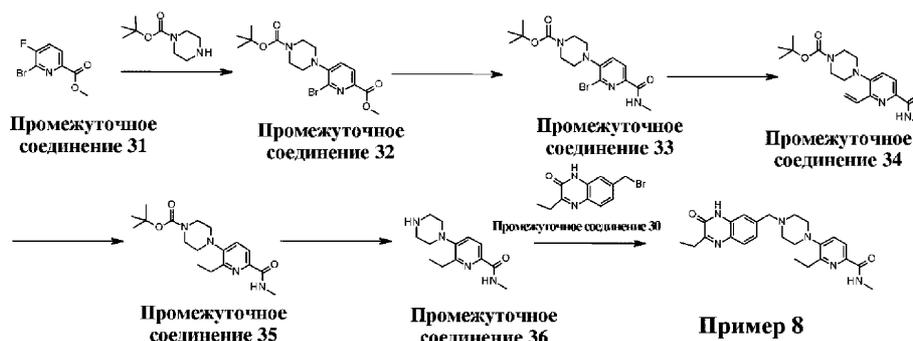
Алюмогидрид лития, 2 М в THF (49,1 мл, 98,17 ммоль) по каплям добавляли к взвеси метил-2-этил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-карбоксилата (промежуточного соединения 28, 11,4 г, 49,09 ммоль) в тетрагидрофуране (350 мл) при 0°C в течение 50 мин в атмосфере азота. Полученную смесь перемешивали при 0°C в течение 1,5 ч. Реакционную смесь медленно выливали в 1 М водн. HCl (300 мл) при 0°C. Реакционную смесь экстрагировали этилацетатом (~300 мл×2), затем экстрагировали с помощью DCM/метанола (5:1) (150 мл×3). Объединенные органические слои концентрировали до 300 мл и разбавляли эфиром (200 мл) с получением суспензии. Твердое вещество собирали посредством фильтрации, промывали эфиром, высушивали под вакуумом с получением 3-этил-7-(гидроксиэтил)-1H-хиноксалин-2-она (промежуточного соединения 29, 8,00 г, 80%).

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 1,22 (3H, t), 2,80 (2H, q), 4,59 (2H, s), 5,19-5,61 (1H, m), 7,19 (1H, dd), 7,28 (1H, s), 7,66 (1H, d), 12,28 (1H, br s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 205.

Промежуточное соединение 30. 7-(Бромметил)-3-этил-1H-хиноксалин-2-он.

Бромоводород (60 мл, 48 вес.% в воде) добавляли к 3-этил-7-(гидроксиэтил)-1H-хиноксалин-2-ону (промежуточному соединению 29, 7,8 г, 38,19 ммоль) (с получением прозрачного коричневого раствора) и смесь перемешивали при 80°C в течение 8 ч, реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, выливали в 150 мл ледяной воды с получением грязно-белого осадка. Твердое вещество фильтровали под вакуумом и промывали водой и затем диэтиловым эфиром, и высушивали с получением 7-(бромметил)-3-этил-1H-хиноксалин-2-она в виде бежевого твердого вещества (промежуточного соединения 30, 11,10 г, 84%) с 80% чистотой.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 1,20 (3H, t), 2,79 (2H, q), 4,79 (2H, s), 7,27-7,38 (2H, m), 7,69 (1H, d), 12,34 (1H, br s); масса/заряд (ES⁺) [M]⁺ = 267,0.



Промежуточное соединение 32. трет-Бутил-4-(2-бром-6-метоксикарбонил-3-пиридил)пиперазин-1-карбоксилат.

Смесь трет-бутилпиперазин-1-карбоксилата (промежуточного соединения 31, 2,57 г, 13,80 ммоль), метил-6-бром-5-фторпиридин-2-карбоксилата (1,9 г, 8,12 ммоль) и карбоната калия (1,459 г, 10,55 ммоль) в DMF (20 мл) перемешивали при 110°C в течение 5 ч, результат LCMS указывал на полное превращение. Смесь охлаждали до к.т., разбавляли с помощью DCM и воды, слои разделяли. Водный слой дважды экстрагировали с помощью DCM и объединенные органические слои высушивали над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле, градиент элюирования 0-50% EtOAc в гексанах. Фракции, содержащие продукт, концентрировали при пониженном давлении до сухого состояния с получением трет-бутил-4-(2-бром-6-метоксикарбонил-3-пиридил)пиперазин-1-карбоксилата (промежуточного соединения 32, 2,200 г, 67,7%) в виде светло-желтого твердого вещества.

¹H ЯМР (500 МГц, ХЛОРОФОРМ-d) 1,50 (9H, s), 3,05-3,20 (4H, m), 3,58-3,72 (4H, m), 3,98 (3H, s), 7,31 (1H, d), 8,06 (1H, d); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 400.

Промежуточное соединение 33. трет-Бутил-4-[2-бром-6-(метилкарбамоил)-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилат.

В герметично закрытый сосуд для работы под давлением загружали трет-бутил-4-(2-бром-6-метоксикарбонил-3-пиридил)пиперазин-1-карбоксилат (промежуточное соединение 32, 2,2 г, 5,50 ммоль) и метиламин (22 мл, 176,72 ммоль) (33 вес.% в этаноле) и смесь нагревали до 60°C в течение 2 ч, результат LCMS указывал на полное превращение. Смесь концентрировали и полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле, градиент элюирования 0-80% EtOAc в гексанах. Фракции, содержащие продукт, концентрировали при пониженном давлении до сухого состояния с получением трет-бутил-4-[2-бром-6-(метилкарбамоил)-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилата (промежуточного соединения 33, 2,200 г, 100%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР (500 МГц, ХЛОРОФОРМ-d) 1,50 (9H, s), 3,02 (3H, d), 3,05-3,14 (4H, m), 3,56-3,74 (4H, m), 7,36 (1H, d), 7,68 (1H, br d), 8,11 (1H, d); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 399.

Промежуточное соединение 34. трет-Бутил-4-[6-(метилкарбамоил)-2-винил-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилат.

Смесь трет-бутил-4-[2-бром-6-(метилкарбамоил)-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилата (промежуточного соединения 33, 200 мг, 0,50 ммоль), трибутил(винил)станнана (0,161 мл, 0,55 ммоль) и цикла XPhos Pd 2-го поколения (19,71 мг, 0,03 ммоль) в 1,4-диоксане (5 мл) перемешивали при 100°C в атмосфере N₂ в течение 2,5 ч, результат LCMS указывал на полное превращение. Смесь разбавляли с помощью DCM, промывали насыщ. NH₄Cl, органический слой высушивали (безводный Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле, градиент элюирования 0-80% EtOAc в гексанах. Фракции, содержащие продукт, концентрировали при пониженном давлении до сухого состояния с получением трет-бутил-4-[6-(метилкарбамоил)-2-винил-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилата (промежуточного соединения 34, 174 мг, 100%) в виде белого твердого вещества. Масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 347.

Промежуточное соединение 35. трет-Бутил-4-[2-этил-6-(метилкарбамоил)-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилат.

Pd/C (53,5 мг, 0,05 ммоль) (10 вес.% в пересчете на сухое вещество, влажный при загрузке) добавляли к раствору трет-бутил-4-[6-(метилкарбамоил)-2-винил-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилата (промежуточного соединения 34, 174 мг, 0,50 ммоль) MeOH (6 мл). Колбу дегазировали и повторно заполняли H₂ (из баллона). Смесь перемешивали при к.т. в течение ночи. Результат LCMS указывал на отсутствие завершения реакции. Добавляли дополнительное количество Pd/C (53,5 мг, 0,05 ммоль) и полученную смесь перемешивали при к.т. в течение 5 ч в атмосфере H₂. Смесь фильтровали через слой целита, промывали метанолом, фильтрат концентрировали до сухого состояния с получением трет-бутил-4-[2-этил-6-(метилкарбамоил)-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилата (промежуточного соединения 35, 172 мг, 98%) в виде бесцветного остатка.

¹H ЯМР (500 МГц, ХЛОРОФОРМ-d) 1,37 (3H, t), 1,51 (9H, s), 2,82-2,95 (6H, m), 3,05 (3H, d), 3,57-

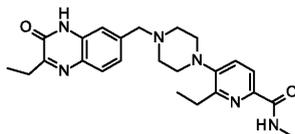
3,73 (4H, m), 7,39 (1H, d), 7,93-8,13 (2H, m); масса/заряд (ES^+) $[M]^+ = 348$.

Промежуточное соединение 36. 6-Этил-N-метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамид.

Смесь трет-бутил-4-[2-этил-6-(метилкарбамоил)-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилата (промежуточного соединения 35, 172 мг, 0,49 ммоль) в HCl (4 М в диоксане, 8 мл, 32,00 ммоль) перемешивали при к.т. в течение 1 ч с получением белой суспензии. Смесь разбавляли эфиром и твердое вещество отфильтровывали и высушивали под вакуумом с получением 6-этил-N-метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамид, 2HCl (промежуточного соединения 36, 159 мг, 100%) в виде светло-желтого твердого вещества.

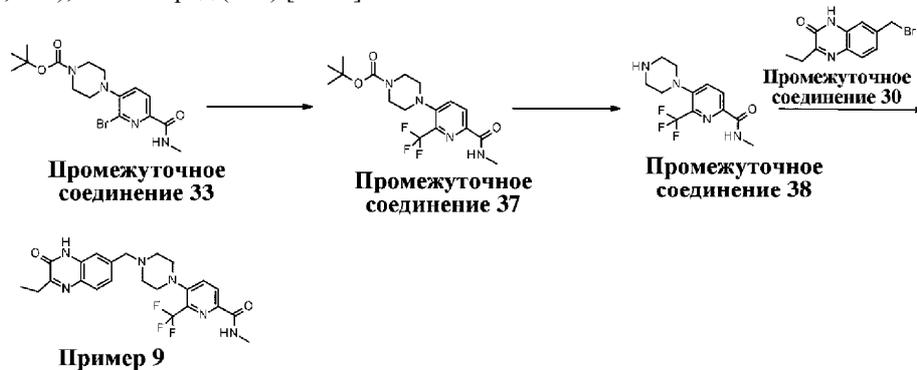
1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) δ 1,31 (3H, t), 2,74-,86 (5H, m), 3,00-3,14 (4H, m), 3,24 (4H, br s), 7,57 (1H, d), 7,82 (1H, d), 8,43 (1H, br d), 9,20 (2H, br s); масса/заряд (ES^+) $[M+H]^+ = 249$.

Пример 8. 6-Этил-5-[4-[(2-этил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид.



DIPEA (0,203 мл, 1,17 ммоль) добавляли к суспензии 6-этил-N-метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамид, 2HCl (промежуточного соединения 36, 75 мг, 0,23 ммоль) и 7-(бромметил)-3-этил-1H-хиноксалин-2-она (промежуточного соединения 30, 69,3 мг, 0,23 ммоль) в ацетонитриле (3 мл). Полученную смесь перемешивали при 60°C в течение 3 ч, результат LCMS указывал на полное превращение. Смесь охлаждали до к.т., концентрировали, остаток очищали с помощью колонки Gilson с обращенной фазой (элюировали с помощью 0-95% ACN/вода/0,1%TFA, цикл 15 мин, собирали с 5 по 9 мин). Фракции, содержащие продукт, концентрировали и затем остаток растворяли в метаноле и DCM. 300 мг карбоната тетраалкиламмония, связанного с полимером (40-90 меш, 2,5-3,5 ммоль/г), и смесь перемешивали при к.т. в течение 10 мин. Затем смесь фильтровали и промывали метанолом. Фильтрат концентрировали, повторно растворяли в смеси вода/CAN и данную смесь лиофилизировали до сухого состояния с получением 6-этил-5-[4-[(2-этил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид (примера 8, 60,0 мг, 59,1%) в виде светло-желтого твердого вещества.

1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) δ 1,22 (3H, t), 1,30 (3H, t), 2,54-2,69 (2H, m), 2,72-2,86 (7H, m), 2,93 (4H, br s), 3,26 (2H, s), 3,64 (2H, s), 7,17-7,33 (2H, m), 7,52 (1H, d), 7,69 (1H, br d), 7,80 (1H, d), 8,40 (1H, br d), 12,25 (1H, br s); масса/заряд (ES^+) $[M+H]^+ = 435$.



Пример 9

Промежуточное соединение 37. трет-Бутил-4-[6-(метилкарбамоил)-2-(трифторметил)-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилат.

К хорошо перемешанной смеси фторида серебра(I) (176 мг, 1,39 ммоль) в DMF (2 мл) добавляли триметил(трифторметил)силан (0,247 мл, 1,67 ммоль) при комнатной температуре. Смесь перемешивали в течение 20 мин, затем добавляли медный порошок (133 мг, 2,09 ммоль). После перемешивания в течение 4 ч реакционная смесь приобретала голубой цвет (индикатор образования $CuCF_3$). К смеси добавляли трет-бутил-4-(2-бром-6-метоксикарбонил-3-пиридил)пиперазин-1-карбоксилат (промежуточное соединение 33, 150 мг, 0,38 ммоль) и полученную темную смесь перемешивали при 90°C в течение 18 ч с получением коричневой суспензии. Результат LCMS указывал на полное превращение. Смесь разбавляли этилацетатом, и твердое вещество отфильтровывали. Фильтрат промывали водой, затем промывали соевым раствором. Органический слой высушивали над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле, градиент элюирования 0-70% EtOAc в гексанах. Фракции, содержащие продукт, концентрировали при пониженном давлении до сухого состояния с получением трет-бутил-4-[6-(метилкарбамоил)-2-(трифторметил)-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилата (промежуточного соединения 37, 146 мг, 100%) в виде желтого остатка.

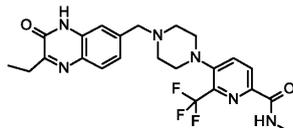
1H ЯМР (500 МГц, ХЛОРОФОРМ-d) 1,50 (9H, s), 2,93-3,03 (4H, m), 3,05 (3H, d), 3,55-3,69 (4H, m), 7,71 (1H, d), 7,81 (1H, br d), 8,33 (1H, d); масса/заряд (ES^+) $[M+H]^+ = 389$.

Промежуточное соединение 38. N-Метил-5-пиперазин-1-ил-6-(трифторметил)пиридин-2-карбоксамид.

Смесь трет-бутил-4-[6-(метилкарбамоил)-2-(трифторметил)-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилата (промежуточного соединения 37, 146 мг, 0,38 ммоль) в HCl (4 М в диоксане, 8 мл, 32,00 ммоль) перемешивали при к.т. в течение 2 ч. Результат LCMS указывал на полное превращение. Растворитель концентрировали до объема 2 мл, смесь разбавляли эфиром/гексанами (15 мл, 5/1). Твердое вещество отфильтровывали и высушивали под вакуумом с получением N-метил-5-пиперазин-1-ил-6-(трифторметил)-пиридин-2-карбоксамид, 2HCl (промежуточного соединения 38, 127 мг, 94%) в виде розового твердого вещества.

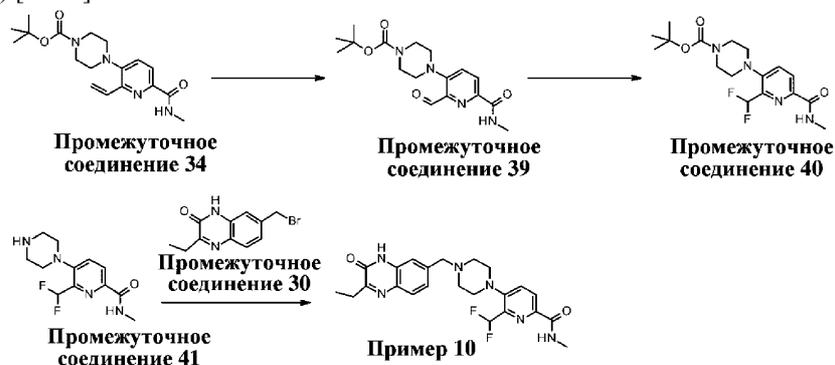
^1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) δ 2,83 (3H, d), 3,21 (8H, br s), 8,09 (1H, d), 8,23 (1H, d), 8,46 (1H, br d), 9,08 (2H, br d); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 289$.

Пример 9. 5-[4-[(2-Этил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метил-6-(трифторметил)пиридин-2-карбоксамид



DIPEA (0,121 мл, 0,69 ммоль) добавляли к суспензии N-метил-5-пиперазин-1-ил-6-(трифторметил)-пиридин-2-карбоксамид, 2HCl (промежуточного соединения 38, 50 мг, 0,14 ммоль) и 7-(бромметил)-3-этилхиноксалин-2(1H)-она (промежуточного соединения 30, 46,2 мг, 0,14 ммоль) в ацетонитриле (3 мл) и смесь перемешивали при 60°C в течение 3 ч. Смесь охлаждали до к.т., концентрировали, остаток очищали с помощью колонки Gilson с обращенной фазой (элюировали с помощью 0-95% ACN/вода/0,1% TFA). Фракции, содержащие продукт, концентрировали при комнатной температуре. Затем остаток растворяли в метаноле и DCM, после чего добавляли 250 мг карбоната тетраалкиламмония, связанного с полимером (40-90 меш, 2,5-3,5 ммоль/г), и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин. Затем твердое вещество отфильтровывали, промывали метанолом, и фильтрат концентрировали с получением твердого вещества. Затем данное твердое вещество повторно растворяли в смеси вода/ CH_3CN и лиофилизировали до сухого состояния с получением 5-[4-[(2-этил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метил-6-(трифторметил)пиридин-2-карбоксамид (примера 9, 40,0 мг, 60,9%) в виде белого твердого вещества.

^1H ЯМР (500 МГц, ХЛОРОФОРМ- d) 1,40 (3H, t), 2,70 (4H, br s), 2,98-3,08 (5H, m), 3,12 (4H, br s), 3,72 (2H, br s), 7,29-7,32 (1H, m), 7,37 (1H, dd), 7,74 (1H, d), 7,79-7,88 (2H, m), 8,33 (1H, d), 11,06 (1H, br s); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 475$.



Промежуточное соединение 39. трет-Бутил-4-[2-формил-6-(метилкарбамоил)-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилат.

Тetraоксид осмия в H_2O (0,050 мл, 6,35 мкмоль) добавляли к раствору трет-бутил-4-[6-(метилкарбамоил)-2-винил-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилата (промежуточного соединения 34, 110 мг, 0,32 ммоль), 2,6-лутидина (0,074 мл, 0,64 ммоль) и перйодата натрия (272 мг, 1,27 ммоль) в THF (5 мл)/воде (1 мл)/трет-бутаноле (0,304 мл, 3,18 ммоль) и смесь перемешивали при к.т. в течение ночи с получением желтой суспензии. Результат LCMS и TLC указывал на полное превращение. Реакционную смесь разбавляли водой и экстрагировали этилацетатом. После концентрирования полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле, градиент элюирования 0-100% EtOAc в гексанах. Фракции, содержащие продукт, концентрировали при пониженном давлении до сухого состояния с получением трет-бутил-4-[2-формил-6-(метилкарбамоил)-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилата (промежуточного соединения 39, 100 мг, 90%) в виде желтого твердого вещества.

^1H ЯМР (500 МГц, ХЛОРОФОРМ- d) 1,50 (9H, s), 3,07 (3H, d), 3,14-3,29 (4H, m), 3,66-3,79 (4H, m), 7,49 (1H, d), 7,86 (1H, br d), 8,28 (1H, d), 10,10 (1H, s). масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 349$.

Промежуточное соединение 40. трет-Бутил-4-[2-(дифторметил)-6-(метилкарбамоил)-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилат.

трет-Бутил-4-[2-формил-6-(метилкарбамоил)-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилат (промежуточное соединение 39, 99 мг, 0,28 ммоль) в CH_2Cl_2 (2 мл) охлаждали до 0°C , добавляли DAST (0,710 мл, 0,71 ммоль) (1 М в DCM) и полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Результат TLC и LCMS указывал на полное превращение. Реакционную смесь гасили посредством добавления по каплям насыщ. раствора NaHCO_3 и экстрагировали с помощью DCM. Объединенные органические слои высушивали над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали с получением неочищенного продукта. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле, градиент элюирования 0-100% EtOAc в гексанах. Фракции, содержащие продукт, концентрировали при пониженном давлении до сухого состояния с получением трет-бутил-4-[2-(дифторметил)-6-(метилкарбамоил)-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилат (промежуточное соединение 40, 94 мг, 89%) в виде грязно-белого твердого вещества.

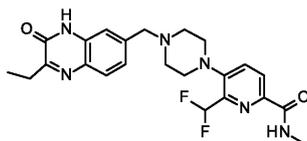
^1H ЯМР (500 МГц, ХЛОРОФОРМ-d) δ 1,51 (9H, s), 2,89-3,03 (4H, m), 3,06 (3H, d), 3,54-3,73 (4H, m), 6,82-7,16 (1H, m), 7,64 (1H, d), 7,94 (1H, br d), 8,29 (1H, d); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 371$.

Промежуточное соединение 41. 6-(Дифторметил)-N-метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамид.

Смесь трет-бутил-4-[2-(дифторметил)-6-(метилкарбамоил)-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилата (промежуточного соединения 40, 92 мг, 0,25 ммоль) в 4 М HCl в 1,4-диоксане (6 мл, 24,00 ммоль) перемешивали при к.т. в течение 1,5 ч с получением оранжевой суспензии, смесь разбавляли эфиром, фильтровали, твердое вещество повторно растворяли в метаноле, концентрировали до сухого состояния с получением 6-(дифторметил)-N-метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамид, 2HCl (промежуточного соединения 41, 56,0 мг, 65,7%) в виде оранжевого твердого вещества.

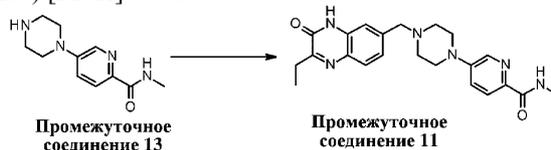
^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 2,83 (3H, d), 3,03-3,23 (5H, m), 3,30 (4H, br s), 7,06-7,49 (1H, m), 7,92 (1H, d), 8,13 (1H, d), 8,43 (1H, br d), 9,00 (2H, br d); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 271$.

Пример 10. 6-(Дифторметил)-5-[4-[(2-этил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид

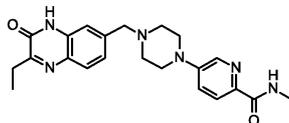


DIPEA (0,127 мл, 0,73 ммоль) добавляли к суспензии 6-(дифторметил)-N-метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамид, 2HCl (промежуточного соединения 41, 50 мг, 0,15 ммоль) и 7-(бромметил)-3-этилхиноксалин-2(1H)-он (промежуточного соединения 30, 48,6 мг, 0,15 ммоль) в ацетонитриле (3 мл). Полученную смесь перемешивали при 60°C в течение 3 ч, результат LCMS указывал на полное превращение. Смесь концентрировали, и остаток очищали с помощью колонки Gilson с обращенной фазой (элюировали с помощью 0-95% ACN/вода/0,1%TFA). Фракции, содержащие продукт, концентрировали при комнатной температуре. Затем остаток растворяли в метаноле и DCM, после чего добавляли 250 мг карбоната тетраалкиламмония, связанного с полимером (40-90 меш, 2,5-3,5 ммоль/г), и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин. Затем твердое вещество отфильтровывали, промывали метанолом и фильтрат концентрировали с получением твердого вещества. Затем данное твердое вещество повторно растворяли в смеси вода/ CH_3CN и лиофилизировали до сухого состояния с получением 6-(дифторметил)-5-[4-[(2-этил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид (примера 10, 50,0 мг, 75%) в виде желтого твердого вещества.

^1H ЯМР (500 МГц, ХЛОРОФОРМ-d) δ 1,40 (3H, t), 2,72 (4H, br s), 2,97-3,17 (9H, m), 3,73 (2H, s), 6,84-7,15 (1H, m), 7,32 (1H, s), 7,37 (1H, d), 7,64 (1H, d), 7,83 (1H, d), 7,95 (1H, br d), 8,29 (1H, d), 11,32-11,62 (1H, m); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 457$.



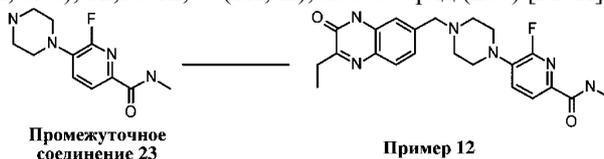
Пример 11. 5-[4-[(2-Этил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид



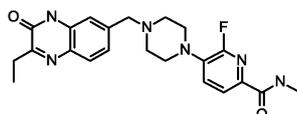
Во флакон объемом 20 мл добавляли 7-(бромметил)-3-этилхиноксалин-2(1H)-он (промежуточное соединение 30, 0,147 г, 0,55 ммоль) и N-метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамид, 2HCl (промежуточное соединение 13, 0,161 г, 0,55 ммоль). Флакон герметично закрывали, вакуумировали и повторно заполняли с помощью N_2 . Ацетонитрил (3 мл) и DIPEA (0,481 мл, 2,75 ммоль) добавляли во флакон и помещали в термостат, предварительно нагретый до 70°C . Реакционную смесь перемешивали при той же

температуре в течение 2 ч и охлаждали до комнатной температуры. Объем реакционной смеси уменьшали до 1/3 от ее исходного объема под вакуумом и добавляли водный раствор NaHCO_3 (2 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин, фильтровали и твердое вещество промывали водой (50 мл). Неочищенный продукт очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле с применением 0-30% MeOH в DCM с получением 5-[4-[(2-этил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида (примера 11, 93,0 мг, 41,6%) в виде светло-желтого твердого вещества.

^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6) δ 1,22 (3H, t), 2,52-2,60 (4H, m), 2,73-2,85 (5H, m), 3,30 (4H, m, перекрывается с пиком для воды пик), 3,62 (2H, s), 7,22-7,31 (2H, m), 7,39 (1H, dd), 7,69 (1H, d), 7,83 (1H, d), 8,23-8,31 (1H, m), 8,39 (1H, br d), 12,13-12,36 (1H, m); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 407$.

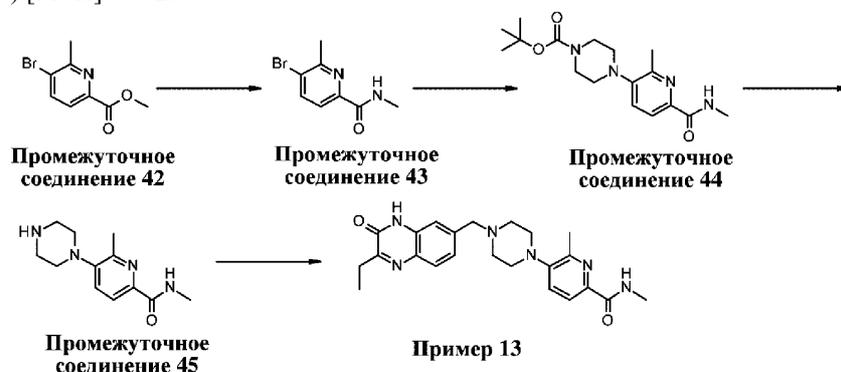


Пример 12. 5-[4-[(2-Этил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-фтор-N-метилпиридин-2-карбоксамид



7-(Бромметил)-3-этилхиноксалин-2(1H)-он (промежуточное соединение 30, 150 мг, 0,56 ммоль) добавляли к 6-фтор-N-метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамиду (промежуточному соединению 23, 60 мг, 0,25 ммоль) и DIPEA (0,270 мл, 1,55 ммоль) в NMP (2 мл). Полученную смесь перемешивали при 80°C в течение 2 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной HPLC (колонка: XBridge Shield RP18 OBD, 5 мкм, 19×150 мм; подвижная фаза А: вода (10 ммоль/л NH_4HCO_3 , 0,1% $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$), подвижная фаза В: ACN ; скорость потока: 20 мл/мин; градиент: от 28 до 38% В за 8 мин; 254; 220 нм; RT: 8,02 мин). Фракции, содержащие требуемое соединение, выпаривали до сухого состояния с получением 5-[4-[(2-этил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-фтор-N-метилпиридин-2-карбоксамида (примера 12, 9 мг, 42,9%) в виде белого твердого вещества.

^1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD) δ 1,33 (3H, t), 2,65-2,72 (4H, m), 2,87-2,95 (5H, m), 3,26-3,30 (4H, m), 3,71 (2H, s), 7,33-7,41 (2H, m), 7,52 (1H, dd), 7,76 (1H, d), 7,90 (1H, dd); ^{19}F ЯМР (376 МГц, CD_3OD) δ -73,40; масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 425$.



Промежуточное соединение 43. 5-Бром-N,6-диметилпиколинамид.

2 М раствор метиламина в THF (20 мл, 40,00 ммоль) добавляли к метил-5-бром-6-метилпиколинату (промежуточное соединение 42, 2,0 г, 8,69 ммоль) и полученную смесь перемешивали при 80°C в течение 18 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали посредством хроматографии с обращенной фазой, градиент элюирования 5-80% MeOH в воде (0,1% NH_4HCO_3). Очищенные фракции выпаривали до сухого состояния с получением 5-бром-N,6-диметилпиколинамида (промежуточного соединения 43, 1,5 г, 75%) в виде бледно-желтого твердого вещества.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 2,65 (3H, s), 2,82 (3H, d), 7,75 (1H, d), 8,17 (1H, d), 8,57-8,76 (1H, m); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 229$.

Промежуточное соединение 44. трет-Бутил-4-(2-метил-6-(метилкарбамоил)пиридин-3-ил)пиперазин-1-карбоксилат.

5-Бром-N,6-диметилпиколинамид (промежуточное соединение 43, 1,0 г, 4,37 ммоль) добавляли к трет-бутил-пиперазин-1-карбоксилату (0,894 г, 4,80 ммоль), BINAP (0,272 г, 0,44 ммоль), $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (0,098 г, 0,44 ммоль) и Cs_2CO_3 (3,56 г, 10,91 ммоль) в толуоле (20 мл) в атмосфере азота. Полученную смесь перемешивали при 80°C в течение 16 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали посредством хроматографии с обращенной фазой, градиент элюирования

5-30% MeOH в воде (0,4% HCO₂H). Очищенные фракции выпаривали до сухого состояния с получением трет-бутил-4-(2-метил-6-(метилкарбамоил)пиридин-3-ил)пиперазин-1-карбоксилата (промежуточного соединения 44, 1,2 г, 82%) в виде коричневого твердого вещества.

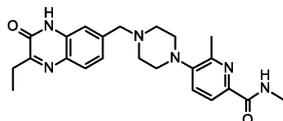
¹H ЯМР (300 МГц, CD₃OD) δ 1,50 (9H, s), 2,58 (3H, s), 2,92-3,00 (7H, m), 3,62 (4H, m), 7,50 (1H, d), 7,88 (1H, d); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 335.

Промежуточное соединение 45. N,6-Диметил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамид.

трет-Бутил-4-(2-метил-6-(метилкарбамоил)пиридин-3-ил)пиперазин-1-карбоксилат (промежуточное соединение 44, 1,18 г, 3,53 ммоль) добавляли к 4 М раствору HCl в 1,4-диоксане (10 мл, 329,15 ммоль). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Осадок собирали посредством фильтрации, промывали петролейным эфиром (5 мл×2), Et₂O (5 мл×2) и высушивали под вакуумом с получением N,6-диметил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамида (промежуточного соединения 45, 0,77 г, 81%) в виде желтого твердого вещества.

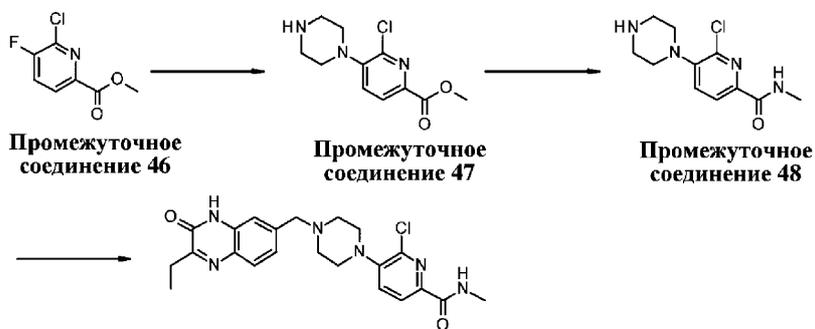
¹H ЯМР (300 МГц, CD₃OD) δ 2,86 (3H, s), 3,02 (3H, s), 3,42-3,54 (8H, m), 8,29 (2H, d); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 235.

Пример 13. 5-[4-[(2-Этил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамид



7-(Бромметил)-3-этилхиноксалин-2(1H)-он (промежуточное соединение 30, 100 мг, 0,37 ммоль) добавляли к N,6-диметил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамиду (промежуточному соединению 45, 90 мг, 0,33 ммоль) и DIPEA (0,36 мл, 2,05 ммоль) в NMP (2 мл). Полученную смесь перемешивали при 80°C в течение 2 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной HPLC (колонка: XBridgePrep OBD C18, 30×150 мм, 5 мкм; подвижная фаза А: вода (10 ммоль/л NH₄HCO₃), подвижная фаза В: ACN; скорость потока: 60 мл/мин; градиент: от 30 до 40% В за 7 мин; 254; 220 нм; RT: 6,43 мин). Фракции, содержащие требуемое соединение, выпаривали до сухого состояния с получением 5-[4-[(2-этил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамид (примера 13, 68,7 мг, 43,6%) в виде грязно-белого твердого вещества.

¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD) δ 1,33 (3H, t), 2,55 (3H, s), 2,71 (4H, s), 2,87-2,99 (5H, m), 3,05 (4H, t), 3,73 (2H, s), 7,35 (1H, s), 7,38 (1H, d), 7,49 (1H, d), 7,77 (1H, d), 7,87 (1H, d); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 421.



Пример 14

Промежуточное соединение 47. Метил-6-хлор-5-(пиперазин-1-ил)пиколинат.

Пиперазин (1,0 г, 11,61 ммоль) добавляли к метил-6-хлор-5-фторпиколинату (промежуточному соединению 46, 1,0 г, 5,28 ммоль) в MeCN (30 мл). Полученную смесь перемешивали при 80°C в течение 18 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали посредством хроматографии с обращенной фазой, градиент элюирования 5-60% MeCN в воде (0,1% NH₄HCO₃). Очищенные фракции выпаривали до сухого состояния с получением метил-6-хлор-5-(пиперазин-1-ил)пиколината (промежуточного соединения 47, 1,28 г, 95%) в виде красного масла.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 2,81-2,91 (4H, m), 3,04-3,08 (4H, m), 3,85 (3H, s), 7,61 (1H, d), 8,00 (1H, d) (NH протон не показан); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 256.

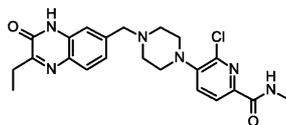
Промежуточное соединение 48. 6-Хлор-N-метил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамид.

2 М раствор метиламина в THF (40 мл, 80,00 ммоль) добавляли к метил-6-хлор-5-(пиперазин-1-ил)пиколинату (промежуточному соединению 47, 1,26 г, 4,93 ммоль). Полученную смесь перемешивали при 80°C в течение 18 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали посредством хроматографии с обращенной фазой, градиент элюирования 5-60% MeCN в воде (0,1% NH₄HCO₃). Очищенные фракции выпаривали до сухого состояния с получением 6-хлор-N-метил-6-(пиперазин-1-ил)пиколинамида (промежуточного соединения 48, 1,12 г, 89%) в виде бледно-желтого масла.

¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ 2,79 (3H, d), 2,85-2,89 (4H, m), 2,97-3,02 (4H, m), 7,63 (1H, d), 7,94

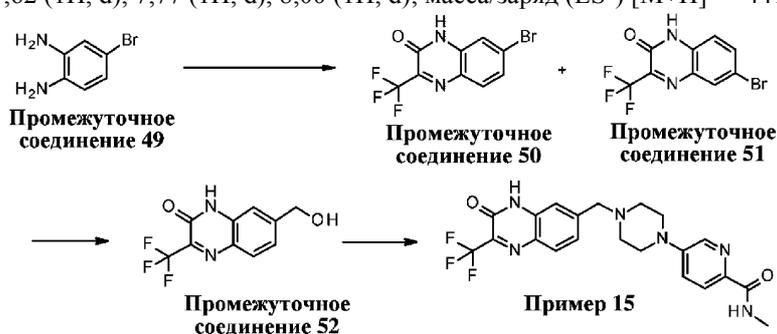
(1H, d), 8,45 (1H, q) (Piperazine-NH протон не показан); масса/заряд (ES^+) $[M+H]^+ = 255$.

Пример 14. 6-Хлор-5-[4-[(2-этил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид



7-(Бромметил)-3-этилхиноксалин-2(1H)-он (промежуточное соединение 30, 200 мг, 0,75 ммоль) добавляли к 6-хлор-N-метил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамиду (промежуточному соединению 48, 100 мг, 0,39 ммоль) и DIPEA (0,358 мл, 2,05 ммоль) в NMP (2 мл). Полученную смесь перемешивали при 80°C в течение 2 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной HPLC (колонка: XBridgePrep OBD C18, 30×150 мм, 5 мкм; подвижная фаза А: вода (10 ммоль/л NH_4HCO_3), подвижная фаза В: АСN; скорость потока: 60 мл/мин; градиент: от 30 до 40% В за 8 мин; 254; 220 нм; RT: 7,3 мин). Фракции, содержащие требуемое соединение, выпаривали до сухого состояния с получением 6-хлор-5-[4-[(2-этил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид (примера 14, 52,6 мг, 30,4%) в виде белого твердого вещества.

1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD) δ 1,33 (3H, t), 2,71 (4H, s), 2,87-2,96 (5H, m), 3,23 (4H, s), 3,73 (2H, s), 7,33-7,41 (2H, m), 7,62 (1H, d), 7,77 (1H, d), 8,00 (1H, d); масса/заряд (ES^+) $[M+H]^+ = 441$.



Промежуточное соединение 50. 7-Бром-3-(трифторметил)хиноксалин-2(1H)-он.

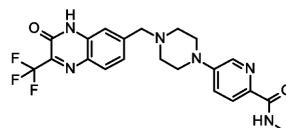
4-Бромбензол-1,2-диамин (промежуточное соединение 49, 0,9 г, 4,81 ммоль) добавляли к метил-3,3,3-трифтор-2-оксопропаноату (0,9 г, 5,77 ммоль) в толуоле (10 мл). Полученную смесь перемешивали при 100°C в течение 60 мин. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле, градиент элюирования 0-50% EtOAc в петролейном эфире. Очищенные фракции выпаривали до сухого состояния с получением региоизомерной смеси 7-бром-3-(трифторметил)хиноксалин-2(1H)-она и 6-бром-3-(трифторметил)хиноксалин-2(1H)-она (промежуточного соединения 50 и промежуточного соединения 51, 1,28 г, 45,4%) в виде грязно-белого твердого вещества. Смесь региоизомеров разделяли и 1H ЯМР спектр не интерпретировали; масса/заряд (ES^+) $[M+H]^+ = 295$.

Промежуточное соединение 52. 7-(Гидроксиметил)-3-(трифторметил)хиноксалин-2(1H)-он.

$Pd(Ph_3P)_4$ (0,3 г, 0,26 ммоль) добавляли к смеси 7-бром-3-(трифторметил)хиноксалин-2(1H)-она, и 6-бром-3-(трифторметил)хиноксалин-2(1H)-она (промежуточного соединения 50 и промежуточного соединения 51, 1,2 г, 2,05 ммоль), и (трибутилстаннил)метанола (1,2 г, 3,74 ммоль) в 1,4-диоксане (40 мл). Полученную смесь перемешивали при 100°C в течение 18 ч в атмосфере азота. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали посредством хроматографии с обращенной фазой, градиент элюирования 5-50% MeCN в воде (0,1% HCO_2H). Очищенные фракции выпаривали до сухого состояния с получением 7-(гидроксиметил)-3-(трифторметил)хиноксалин-2(1H)-она (промежуточного соединения 52, 0,32 г, 64,0%) в виде грязно-белого твердого вещества.

1H ЯМР (300 МГц, $DMSO-d_6$) δ 4,63 (2H, d), 5,52 (1H, t), 7,30 (1H, dd), 7,38 (1H, d), 7,83 (1H, d), 13,05 (1H, s); масса/заряд (ES^+) $[M+H]^+ = 245$.

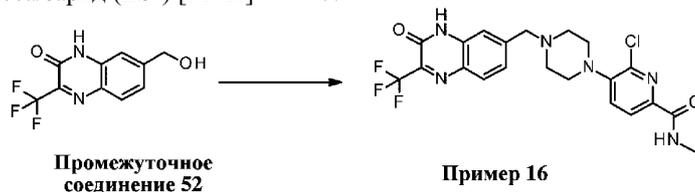
Пример 15. N-Метил-5-[4-[[3-оксо-2-(трифторметил)-4Н-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]пиридин-2-карбоксамид



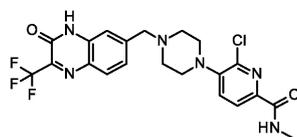
Раствор 33% HBr в AcOH (3 мл, 18,23 ммоль) добавляли к 7-(гидроксиметил)-3-(трифторметил)-хиноксалин-2(1H)-ону (промежуточному соединению 52, 111 мг, 0,45 ммоль). Полученную смесь перемешивали при 80°C в течение 1 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении. DIEA (0,5 мл, 2,86 ммоль) и N-метил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамид (промежуточное соединение 13, 100 мг, 0,45 ммоль) добавляли к вышеуказанной смеси в NMP (3 мл). Полученную смесь перемешивали при

80°C в течение 1 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной HPLC (колонка: XBridge Prep OBD C18, 30×150 мм, 5 мкм; подвижная фаза А: вода (10 ммоль/л NH₄HCO₃), подвижная фаза В: ACN; скорость потока: 60 мл/мин; градиент: от 22 до 32 В за 7 мин; 254; 220 нм; RT: 5,77. Фракции, содержащие требуемое соединение, выпаривали до сухого состояния с получением N-метил-5-[4-[[3-оксо-2-(трифторметил)-4Н-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]пиридин-2-карбоксамида (примера 15, 44,0 мг, 21,71%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 2,55-2,62 (m, 4H), 2,78 (d, 3H), 3,34-3,38 (t, 4H), 3,69 (s, 2H), 7,34-7,44 (m, 3H), 7,80-7,91 (m, 2H), 8,27 (d, 1H), 8,36 - 8,41 (m, 1H), 12,97 (s, 1H); ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-d₆) δ -68,36; масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 447.

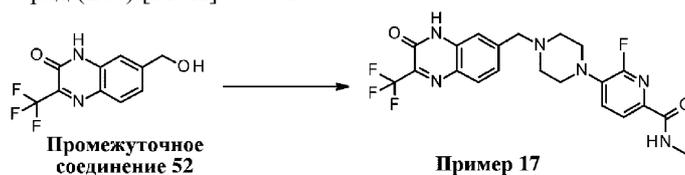


Пример 16. 6-Хлор-N-метил-5-[4-[[3-оксо-2-(трифторметил)-4Н-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]пиридин-2-карбоксамида

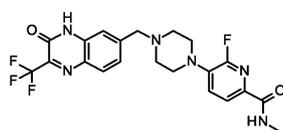


33% НВг в АсОН (3 мл, 18,23 ммоль) добавляли к 7-(гидроксиметил)-3-(трифторметил)хиноксалин-2(1H)-ону (промежуточному соединению 52, 43,1 мг, 0,18 ммоль). Полученную смесь перемешивали при 80°C в течение 1 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении. DIPEA (0,5 мл, 2,86 ммоль) и 6-хлор-N-метил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамид (промежуточное соединение 48, 45 мг, 0,18 ммоль) добавляли к вышеуказанной смеси в NMP (5 мл). Полученную смесь перемешивали при 80°C в течение 1 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной HPLC (колонка: XBridge Prep OBD C18, 30×150 мм, 5 мкм; подвижная фаза А: вода (10 ммоль/л NH₄HCO₃), подвижная фаза В: ACN; скорость потока: 60 мл/мин; градиент: от 10 до 50 В за 7 мин; 254; 220 нм; RT: 6,75. Фракции, содержащие требуемое соединение, выпаривали до сухого состояния с получением 6-хлор-N-метил-5-[4-[[3-оксо-2-(трифторметил)-4Н-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]пиридин-2-карбоксамида (примера 16, 22,00 мг, 25,9%) в виде грязно-белого твердого вещества.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 2,56-2,64 (s, 4H), 2,79 (d, 3H), 3,09-3,17 (m, 4H), 3,71 (s, 2H), 7,36-7,42 (m, 2H), 7,67 (d, 1H), 7,88 (d, 1H), 7,94 (d, 1H), 8,39-8,44 (m, 1H), 12,89 (s, 1H); ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO) δ -68,41; масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 481.



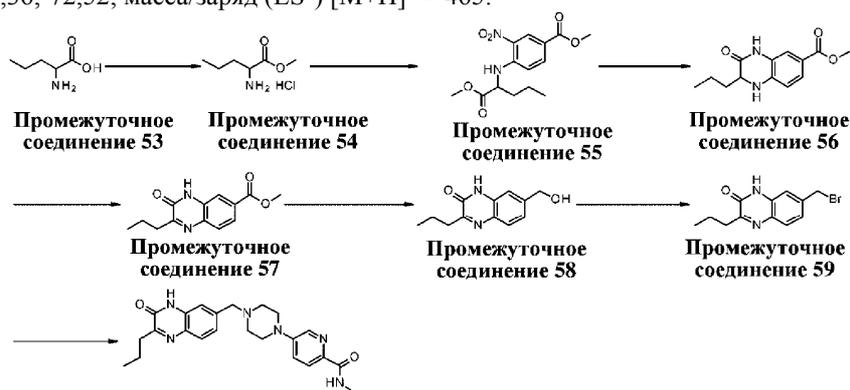
Пример 17. 6-Фтор-N-метил-5-[4-[[3-оксо-2-(трифторметил)-4Н-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]пиридин-2-карбоксамида



33% НВг в АсОН (3 мл, 55,25 ммоль) добавляли к 7-(гидроксиметил)-3-(трифторметил)хиноксалин-2(1H)-ону (промежуточному соединению 52, 102 мг, 0,42 ммоль). Полученную смесь перемешивали при 80°C в течение 1 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении. 6-Фтор-N-метил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамид (промежуточное соединение 23, 100 мг, 0,42 ммоль) и DIPEA (0,5 мл, 2,86 ммоль) добавляли к вышеуказанной смеси в NMP (5 мл). Полученную смесь перемешивали при 80°C в течение 1 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной HPLC (колонка: XBridge Prep OBD C18, 30×150 мм, 5 мкм; подвижная фаза А: вода (10 ммоль/л NH₄HCO₃), подвижная фаза В: ACN; скорость потока: 60 мл/мин; градиент: от 15 до 40 В за 8 мин; 254; 220 нм; RT: 7,2. Фракции, содержащие требуемое соединение, выпаривали до сухого состояния с получением 6-фтор-N-метил-5-[4-[[3-оксо-2-(трифторметил)-4Н-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]пиридин-2-карбоксамида (примера 17, 66,0 мг, 33,9%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 2,55-2,69 (m, 4H), 2,77 (d, 3H), 3,15-3,23 (m, 4H), 3,69 (s, 2H), 7,33-

7,46 (m, 2H), 7,58 (dd, 1H), 7,78-7,93 (m, 2H), 8,37-8,42 (m, 1H), 12,99 (s, 1H); ^{19}F ЯМР (376 МГц, DMSO- d_6) δ -68,36,-72,52; масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 465$.



Пример 18

Промежуточное соединение 54. Гидрохлорид метил-2-аминопентаноата.

SOCl_2 (17 мл, 232,94 ммоль) по каплям добавляли к 2-аминопентановой кислоте (промежуточному соединению 53, 10,0 г, 85,36 ммоль) в MeOH (200 мл) при 0°C . Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении с получением гидрохлорида метил-2-аминопентаноата (промежуточного соединения 54, 15,78 г, 110%) в виде белого твердого вещества.

^1H ЯМР (DMSO- d_6 , 400 МГц) δ 0,88 (3H, t), 1,19-1,51 (2H, m), 1,67-1,83 (2H, m), 3,74 (3H, s), 3,89-3,93 (1H, m), 8,64 (3H, s); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 132$.

Промежуточное соединение 55. Метил-4-(1-метокси-1-оксопентан-2-иламино)-3-нитробензоат.

Бикарбонат натрия (20,0 г, 238,08 ммоль) добавляли к гидрохлориду метил-2-аминопентаноата (промежуточному соединению 54, 15,57 г, 92,88 ммоль) и метил-4-фтор-3-нитробензоату (9,0 г, 45,19 ммоль) в THF (160 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Реакционную смесь разбавляли EtOAc (150 мл) и последовательно промывали водой (100 мл \times 1), насыщенным NaHCO_3 (100 мл \times 1) и насыщенным соевым раствором (100 мл \times 1). Органический слой высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и выпаривали с получением метил-4-(1-метокси-1-оксопентан-2-иламино)-3-нитробензоата (промежуточного соединения 55, 14,09 г, 100%) в виде желтого масла.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 0,89 (3H, t), 1,26-1,41 (2H, m), 1,84-1,94 (2H, m), 3,73 (3H, s), 3,83 (3H, s), 4,68-4,75 (1H, m), 7,12 (1H, d), 8,00 (1H, d), 8,60 (1H, d), 8,63 (1H, d); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 311$.

Промежуточное соединение 56. Метил-3-оксо-2-пропил-1,2,3,4-тетрагидрохиноксалин-6-карбоксилат.

$\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ (20 вес.%, 1,58 г, 2,25 ммоль) добавляли к метил-4-((1-метокси-1-оксопентан-2-ил)амино)-3-нитробензоату (промежуточному соединению 55, 14,05 г, 45,28 ммоль) в MeOH (300 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в атмосфере H_2 в течение 30 ч. Реакционную смесь фильтровали. Осадок промывали с помощью DMF (100 мл) и фильтрат выпаривали до сухого состояния с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт промывали с помощью DCM (10 мл) и высушивали под вакуумом с получением метил-3-оксо-2-пропил-1,2,3,4-тетрагидрохиноксалин-6-карбоксилата (промежуточного соединения 56, 9,12 г, 81%) в виде белого твердого вещества.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 0,87 (3H, t), 1,32-1,46 (2H, m), 1,57-1,64 (2H, m), 3,74 (3H, s), 3,88-3,93 (1H, m), 6,70 (1H, d), 6,83 (1H, d), 7,32 (1H, d), 7,40 (1H, dd), 10,38 (1H, s); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 249$.

Промежуточное соединение 57. Метил-3-оксо-2-пропил-3,4-дигидрохиноксалин-6-карбоксилат.

DDQ (9,42 г, 41,50 ммоль) добавляли к метил-3-оксо-2-пропил-1,2,3,4-тетрагидрохиноксалин-6-карбоксилату (промежуточному соединению 56, 9,12 г, 36,73 ммоль) в 1,4-диоксане (200 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. Реакционную смесь разбавляли насыщенным NaHCO_3 (200 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 0,5 ч. Осадок собирали посредством фильтрации, промывали водой (1000 мл) и высушивали под вакуумом с получением метил-3-оксо-2-пропил-3,4-дигидрохиноксалин-6-карбоксилата (промежуточного соединения 57, 7,86 г, 87%) в виде грязно-белого твердого вещества.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 0,98 (3H, t), 1,68-1,80 (2H, m), 2,75-,83 (2H, m), 3,89 (3H, s), 7,73-7,85 (2H, m), 7,88 (1H, d), 12,45 (1H, s); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 247$.

Промежуточное соединение 58. 7-(Гидроксиметил)-3-пропилхиноксалин-2(1H)-он.

1 М раствор DIBAL-H в THF (100 мл, 100,00 ммоль) по каплям добавляли к метил-3-оксо-2-пропил-3,4-дигидрохиноксалин-6-карбоксилату (промежуточному соединению 57, 7,81 г, 31,71 ммоль) в THF

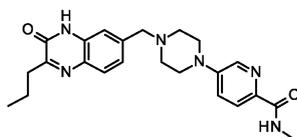
(200 мл) при 0°C. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. Реакционную смесь гасили с помощью MeOH (5 мл) и насыщенного водного раствора тетрагидрат тартрата монокалия-мононатрия (20 мл), органический слой выпаривали с получением 7-(гидроксиметил)-3-пропилхиноксалин-2(1H)-она (промежуточного соединения 58, 1,2 г, 17,34%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 0,97 (3H, t), 1,36-1,77 (2H, m), 2,71-2,79 (2H, m), 4,59 (2H, s), 5,39 (1H, s), 7,18 (1H, dd), 7,27 (1H, d), 7,65 (1H, d), 12,30 (1H, s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 219.

Промежуточное соединение 59. 7-(Бромметил)-3-пропилхиноксалин-2(1H)-он.

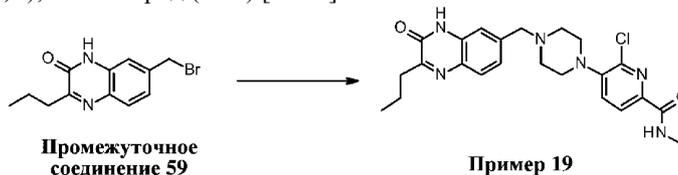
33% HBr в AcOH (74,6 мкл, 1,37 ммоль) добавляли к 7-(гидроксиметил)-3-пропилхиноксалин-2(1H)-ону (промежуточному соединению 58, 300 мг, 1,37 ммоль). Полученную смесь перемешивали при 80°C в течение 1 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении с получением 7-(бромметил)-3-пропилхиноксалин-2(1H)-она (промежуточного соединения 59, 600 мг, 155%) в виде коричневого твердого вещества (неочищенный продукт не являлся чистым и содержал AcOH и другие примеси. Продукт использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ¹H ЯМР спектр не являлся чистым и его не интерпретировали; масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 282.

Пример 18. N-Метил-5-[4-[(3-оксо-2-пропил-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]пиридин-2-карбоксамид

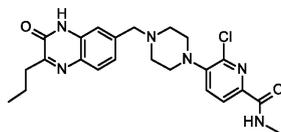


DIPEA (200 мкл, 1,15 ммоль) добавляли к 7-(бромметил)-3-пропилхиноксалин-2(1H)-ону (промежуточному соединению 59, 200 мг, 0,71 ммоль) и N-метил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамиду (промежуточному соединению 13, 80 мг, 0,36 ммоль) в NMP (3 мл). Полученную смесь перемешивали при 80°C в течение 1 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной HPLC (колонка: XBridge Shield RP18 OBD, 19×250 мм, 10 мкм; подвижная фаза А: вода (10 ммоль/л NH₄HCO₃, 0,1% NH₃·H₂O), подвижная фаза В: ACN; скорость потока: 20 мл/мин; градиент: от 38 до 50 В за 7 мин; 254/220 нм; RT: 6,20. Фракции, содержащие требуемое соединение, выпаривали до сухого состояния с получением N-метил-5-[4-[(3-оксо-2-пропил-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]пиридин-2-карбоксамид (примера 18, 71,0 мг, 46,5%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 0,97 (3H, t), 1,66-1,80 (2H, m), 2,55-2,61 (4H, m), 2,73-2,85 (5H, m), 3,33-3,40 (4H, m), 3,62 (2H, s), 7,19-7,31 (2H, m), 7,40 (1H, dd), 7,68 (1H, d), 7,83 (1H, d), 8,27 (1H, d), 8,35-8,45 (1H, m), 12,26 (1H, s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 421.

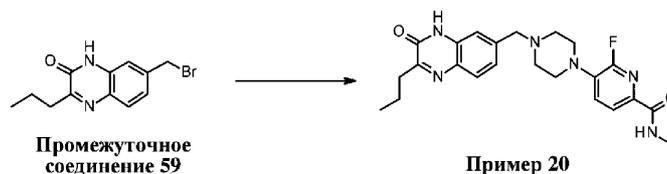


Пример 19. 6-Хлор-N-метил-5-[4-[(3-оксо-2-пропил-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]пиридин-2-карбоксамид

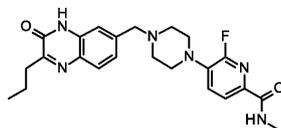


DIPEA (200 мкл, 1,15 ммоль) добавляли к 7-(бромметил)-3-пропилхиноксалин-2(1H)-ону (промежуточному соединению 59, 200 мг, 0,71 ммоль) и 6-хлор-N-метил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамиду (промежуточному соединению 48, 80 мг, 0,31 ммоль) в NMP (3 мл). Полученную смесь перемешивали при 80°C в течение 1 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной HPLC (колонка: XBridge Shield RP18 OBD, 19×250 мм, 10 мкм; подвижная фаза А: вода (0,1% HCO₂H), подвижная фаза В: ACN; скорость потока: 20 мл/мин; градиент: от 18 до 30 В за 7 мин; 254/220 нм; RT: 5,93. Фракции, содержащие требуемое соединение, выпаривали до сухого состояния с получением 6-хлор-N-метил-5-[4-[(3-оксо-2-пропил-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]пиридин-2-карбоксамид (примера 19, 52,0 мг, 36,4%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 0,97 (3H, t), 1,66-1,79 (2H, m), 2,55-2,65 (4H, m), 2,71-2,85 (5H, m), 3,06-3,12 (4H, m), 3,64 (2H, s), 7,20-7,32 (2H, m), 7,64-7,72 (2H, m), 7,94 (1H, d), 8,40-8,50 (1H, m), 12,27 (1H, s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 455.

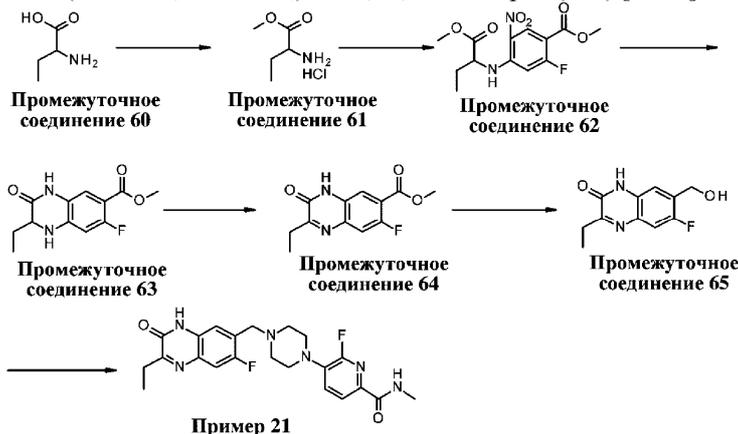


Пример 20. 6-Фтор-N-метил-5-[4-[(3-оксо-2-пропил-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]пиридин-2-карбоксамид



DIPEA (500 мкл, 2,86 ммоль) добавляли к 7-(бромметил)-3-пропилхиноксалин-2(1H)-ону (промежуточному соединению 59, 200 мг, 0,71 ммоль) и 6-фтор-N-метил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамиду, 2 HCl (промежуточному соединению 23, 100 мг, 0,32 ммоль) в NMP (3 мл). Полученную смесь перемешивали при 80°C в течение 1 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной HPLC (колонка: SunFire C18 OBD Prep, 100 Å, 5 мкм, 19×250 мм; подвижная фаза А: вода (0,1% HCO₂H), подвижная фаза В: ACN; скорость потока: 25 мл/мин; градиент: от 10 до 20 В за 13 мин; 254/220 нм; RT: 12,13. Фракции, содержащие требуемое соединение, выпаривали до сухого состояния с получением 6-фтор-N-метил-5-[4-[(3-оксо-2-пропил-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]пиридин-2-карбоксамид (примера 20, 71,0 мг, 50,4%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 0,97 (3H, t), 1,66-1,78 (2H, m), 2,54-2,60 (4H, m), 2,71-2,83 (5H, m), 3,14-3,25 (4H, m), 3,62 (2H, s), 7,19-7,33 (2H, m), 7,57 (1H, dd), 7,68 (1H, d), 7,85 (1H, dd), 8,37-5,43 (1H, m), 12,27 (1H, s); ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-d₆) δ -72,51; масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 439.



Промежуточное соединение 61. Гидрохлорид метил-2-аминобутаноата.

SOCl₂ (17 мл, 232,94 ммоль) по каплям добавляли к 2-аминомасляной кислоте (промежуточному соединению 60, 10,0 г, 96,97 ммоль) в MeOH (100 мл) при 0°C. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении с получением гидрохлорида метил-2-аминобутаноата (промежуточного соединения 61, 14,84 г, 100%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 0,91 (3H, t), 1,75-1,95 (2H, m), 3,73 (3H, s), 3,93 (1H, t), 8,72 (3H, s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 118.

Промежуточное соединение 62. Метил-2-фтор-4-(1-метокси-1-оксобутан-2-иламино)-5-нитробензоат.

DIPEA (4,02 мл, 23,03 ммоль) добавляли к метил-2,4-дифтор-5-нитробензоату (1,0 г, 4,61 ммоль) и гидрохлориду метил-2-аминобутаноата (промежуточному соединению 61, 0,707 г, 4,61 ммоль) в NMP (10 мл). Полученную смесь перемешивали при к.т. в течение 5 ч. Неочищенный продукт очищали посредством хроматографии с обращенной фазой, градиент элюирования 5-80% MeCN в воде (0,1% NH₄HCO₃). Очищенные фракции выпаривали до сухого состояния с получением метил-2-фтор-4-(1-метокси-1-оксобутан-2-иламино)-5-нитробензоата (промежуточного соединения 62, 1,2 г, 83%) в виде черного твердого вещества.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 0,88 (3H, t), 1,78-2,03 (2H, m), 3,75 (3H, s), 3,83 (3H, s), 4,73-4,80 (1H, m), 7,06 (1H, d), 8,66-8,72 (2H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 315.

Промежуточное соединение 63. Метил-2-этил-7-фтор-3-оксо-1,2,3,4-тетрагидрохиноксалин-6-карбоксамид.

Метил-2-фтор-4-((1-метокси-1-оксобутан-2-ил)амино)-5-нитробензоат (промежуточное соединение

62, 1,15 г, 3,66 ммоль) добавляли к 20 вес.% Pd(OH)₂ (500 мг, 0,71 ммоль) в MeOH (300 мл) и этилацетату (50 мл) в атмосфере водорода. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 дней. Реакция не протекала до завершения. Реакционную смесь фильтровали. Органический слой выпаривали с получением неочищенного продукта, метил-2-этил-7-фтор-3-оксо-1,2,3,4-тетрагидрохиноксалин-6-карбоксилата (промежуточного соединения 63, 0,780 г, 85%), в виде коричневой смолы. Неочищенный продукт непосредственно применяли на следующей стадии без дополнительной очистки. Неочищенный продукт не являлся чистым, и спектр ¹H ЯМР не интерпретировали; масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 253.

Промежуточное соединение 64. Метил-2-этил-7-фтор-3-оксо-3,4-дигидрохиноксалин-6-карбоксилат.

Метил-2-этил-7-фтор-3-оксо-1,2,3,4-тетрагидрохиноксалин-6-карбоксилат (промежуточное соединение 63, 760 мг, 3,01 ммоль) добавляли к DDQ (821 мг, 3,62 ммоль) в DCM (20 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакция протекала до завершения. Полученную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением коричневого твердого вещества. Насыщенный водн. раствор NaHCO₃ (10 мл) добавляли к твердому веществу и перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Осадок фильтровали и промывали дополнительным количеством водн. раствора NaHCO₃ (10 мл×5). Твердое вещество высушивали под вакуумом с получением метил-2-этил-7-фтор-3-оксо-3,4-дигидрохиноксалин-6-карбоксилата (промежуточного соединения 64, 750 мг, 99%) в виде коричневого твердого вещества.

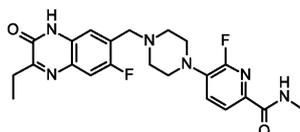
¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ 1,20 (3H, t), 2,82 (2H, q), 3,87 (3H, s), 7,65 (1H, d), 7,76 (1H, d), 12,42 (1H, s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 251.

Промежуточное соединение 65. 3-Этил-6-фтор-7-(гидроксиметил)хиноксалин-2(1H)-он.

1 M раствор гидрида диизобутилалюминия в THF (15,35 мл, 15,35 ммоль) частями добавляли к метил-2-этил-7-фтор-3-оксо-3,4-дигидрохиноксалин-6-карбоксилату (промежуточному соединению 64, 640 мг, 2,56 ммоль) в THF (300 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Реакция протекала до завершения. Реакционную смесь гасили насыщенным водным раствором тартрата калия-натрия (20 мл) и MeOH (10 мл) при 0°C. Полученную смесь перемешивали в течение 1 ч при комнатной температуре. Реакционную смесь фильтровали и промывали с помощью THF (50 мл×3). Органический слой выпаривали до сухого состояния с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали посредством хроматографии с обращенной фазой, градиент элюирования 5-60% MeOH в воде (0,4% HCO₂H). Очищенные фракции выпаривали до сухого состояния с получением 3-этил-6-фтор-7-(гидроксиметил)хиноксалин-2(1H)-она (промежуточного соединения 65, 110 мг, 19,37%) в виде грязно-белого твердого вещества.

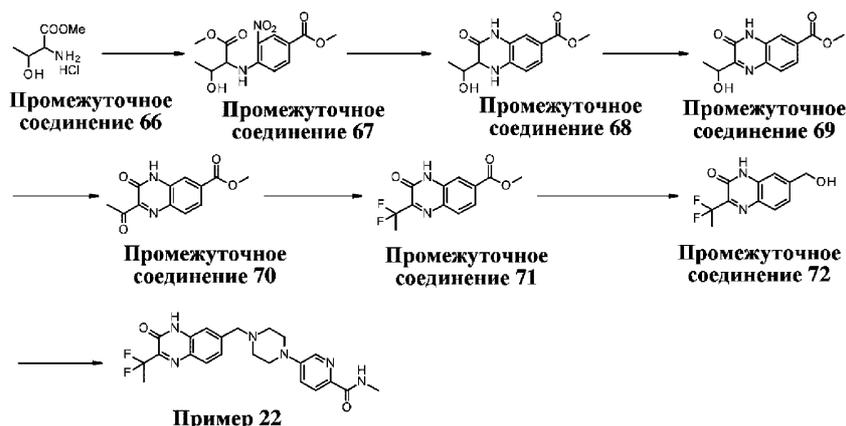
¹H ЯМР(400 МГц, DMSO-d₆) δ 1,21 (3H, t), 2,80 (2H, q), 4,63 (2H, d), 5,49 (1H, t), 7,41 (1H, d), 7,49 (1H, d), 12,36 (1H, s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 223.

Пример 21. 5-[4-[(2-Этил-7-фтор-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-фтор-N-метилпиридин-2-карбоксамид



3-Этил-6-фтор-7-(гидроксиметил)хиноксалин-2(1H)-он (промежуточное соединение 65, 50 мг, 0,23 ммоль) добавляли к 33% HBr в AcOH (2 мл, 12,15 ммоль). Полученную смесь перемешивали при 80°C в течение 2 ч. Реакционную смесь выпаривали под вакуумом с получением 7-(бромметил)-3-этил-6-фторхиноксалин-2(1H)-она (неочищенного продукта). Продукт непосредственно применяли на следующей стадии без дополнительной очистки. DIPEA (0,196 мл, 1,13 ммоль) добавляли к 7-(бромметил)-3-этил-6-фторхиноксалин-2(1H)-ону и 6-фтор-N-метил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамиду (промежуточному соединению 23, 70 мг, 0,29 ммоль) в NMP (2 мл). Полученную смесь перемешивали при 80°C в течение 2 ч. Полученную смесь очищали посредством препаративной HPLC (колонка: Sunfire Prep C18, 30×150 мм, 5 мкм; подвижная фаза А: вода (0,1% HCO₂H), подвижная фаза В: ACN; скорость потока: 60 мл/мин; градиент: от 10 до 35 В за 8 мин; 254/220 нм; RT: 7,37. Фракции, содержащие требуемое соединение, выпаривали до сухого состояния с получением 5-[4-[(2-этил-7-фтор-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-фтор-N-метилпиридин-2-карбоксамид (примера 21, 55,0 мг, 53,7%) в виде грязно-белого твердого вещества.

¹H ЯМР(400 МГц, DMSO-d₆) δ 1,21 (3H, t), 2,61 (4H, m), 2,73-2,85 (5H, m), 3,18 (4H, m), 3,68 (2H, s), 7,38 (1H, d), 7,51-7,61 (2H, m), 7,84 (1H, dd), 8,13 (0,29H, s), 8,38 (1H, m), 12,29 (1H, s); ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-d₆) δ -72,53, -124,31; масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 443.



Промежуточное соединение 67. Метил-4-(3-гидрокси-1-метокси-1-оксобутан-2-иламино)-3-нитробензоат.

DIPEA (8,77 мл, 50,22 ммоль) добавляли к метил-4-фтор-3-нитробензоату (2,0 г, 10,04 ммоль) и гидрохлориду метил-2-амино-3-гидроксибутаноата (промежуточному соединению 66, 2,04 г, 12,05 ммоль) в DMF (20 мл). Полученную смесь перемешивали при к.т. в течение 16 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью EtOAc (100 мл) и последовательно промывали насыщенным водным раствором NH_4Cl (100 мл \times 1) и соевым раствором (100 мл \times 4). Органический слой высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и выпаривали с получением требуемого продукта, метил-4-((3-гидрокси-1-метокси-1-оксобутан-2-ил)амино)-3-нитробензоата (промежуточного соединения 67, 2,9 г, 92%), в виде желтого твердого вещества.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 1,15-1,27 (3H, m), 3,64-3,74 (3H, m), 3,83 (3H, s), 4,08-4,44 (1H, m), 4,61-4,72 (1H, m), 5,39-5,60 (1H, m), 7,03-7,15 (1H, m), 7,90-8,03 (1H, m), 8,62-8,69 (1H, m), 8,73-8,89 (1H, m); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 313$.

Промежуточное соединение 68. Метил-2-(1-гидроксиэтил)-3-оксо-1,2,3,4-тетрагидрохиноксалин-6-карбоксилат.

20% $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ (0,648 г, 0,92 ммоль) добавляли к метил-4-((3-гидрокси-1-метокси-1-оксобутан-2-ил)амино)-3-нитробензоату (промежуточному соединению 67, 2,88 г, 9,22 ммоль) в MeOH (300 мл) в атмосфере водорода. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Реакция протекала до завершения. Реакционную смесь фильтровали через целит. Органический слой выпаривали с получением метил-2-(1-гидроксиэтил)-3-оксо-1,2,3,4-тетрагидрохиноксалин-6-карбоксилата (промежуточного соединения 68, 2,290 г, 99%) в виде серого твердого вещества.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 1,07 (3H, m), 2,81 (1H, d), 3,72 (1H, m), 3,74 (3H, s), 4,78 (1H, d), 6,70-6,86 (2H, m), 7,27 (1H, d), 7,37 (1H, dd), 10,38 (1H, d); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 251$.

Промежуточное соединение 69. Метил-2-(1-гидроксиэтил)-3-оксо-3,4-дигидрохиноксалин-6-карбоксилат.

DDQ (2,265 г, 9,98 ммоль) добавляли к метил-2-(1-гидроксиэтил)-3-оксо-1,2,3,4-тетрагидрохиноксалин-6-карбоксилату (промежуточному соединению 68, 2,27 г, 9,07 ммоль) в DCM (100 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакция протекала до завершения. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением коричневого твердого вещества. Насыщенный водн. раствор NaHCO_3 (100 мл) добавляли к твердому веществу и перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Осадок фильтровали и промывали дополнительным количеством водн. раствора NaHCO_3 (30 мл \times 3). Твердое вещество высушивали под вакуумом с получением метил-2-(1-гидроксиэтил)-3-оксо-3,4-дигидрохиноксалин-6-карбоксилата (промежуточного соединения 69, 2,24 г, 99%) в виде серого твердого вещества.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 1,40 (3H, d), 3,88 (3H, s), 4,94 (1H, q), 7,69 (1H, dd), 7,77 (1H, d), 7,90 (1H, d) (2 протона не показаны); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 249$.

Промежуточное соединение 70. Метил-2-ацетил-3-оксо-3,4-дигидрохиноксалин-6-карбоксилат.

Периодат Десса-Мартина (2,56 г, 6,04 ммоль) добавляли к метил-2-(1-гидроксиэтил)-3-оксо-3,4-дигидрохиноксалин-6-карбоксилату (промежуточному соединению 69, 1,0 г, 4,03 ммоль) в DCM (30 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционную смесь выпаривали с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали посредством хроматографии с обращенной фазой, градиент элюирования 5-30% MeCN в воде (0,4% HCO_2H). Очищенные фракции выпаривали до сухого состояния с получением метил-2-ацетил-3-оксо-3,4-дигидрохиноксалин-6-карбоксилата (промежуточного соединения 70, 0,62 г, 62,5%) в виде бледно-желтого твердого вещества.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 2,58 (3H, s), 3,91 (3H, s), 7,84 (1H, dd), 7,91-8,03 (2H, m), 12,86 (1H, s); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 247$.

Промежуточное соединение 71. Метил-2-(1,1-дифторэтил)-3-оксо-3,4-дигидрохиноксалин-6-карбоксилат.

BAST (1,35 мл, 7,31 ммоль) добавляли к метил-2-ацетил-3-оксо-3,4-дигидрохиноксалин-6-карбоксилату (промежуточному соединению 70, 600 мг, 2,44 ммоль) в DCM (20 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Реакционную смесь выпаривали с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали посредством хроматографии с обращенной фазой, градиент элюирования 5-30% MeCN в воде (0,4% HCO₂H). Очищенные фракции выпаривали до сухого состояния с получением метил-2-(1,1-дифторэтил)-3-оксо-3,4-дигидрохиноксалин-6-карбоксилата (промежуточного соединения 71, 174 мг, 26,6%) в виде грязно-белого твердого вещества.

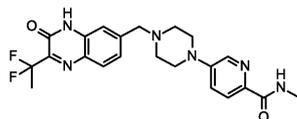
¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 2,07 (3H, t), 3,91 (3H, s), 7,84 (1H, dd), 7,92-7,99 (2H, m), 12,90 (1H, s); ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-d₆) δ -93,26; масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 269.

Промежуточное соединение 72. 3-(1,1-Дифторэтил)-7-(гидроксиметил)хиноксалин-2(1H)-он.

Раствор 1 М гидроида диизобутилалюминия в THF (2,39 мл, 2,39 ммоль) добавляли к метил-2-(1,1-дифторэтил)-3-оксо-3,4-дигидрохиноксалин-6-карбоксилату (промежуточному соединению 71, 160 мг, 0,60 ммоль) в THF (50 мл) при 0°C. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Реакционную смесь гасили насыщенным водным раствором тартрата калия-натрия (3 мл) и MeOH (1 мл) при 0°C. Полученную смесь перемешивали в течение 1 ч. Реакционную смесь фильтровали и промывали с помощью THF (10 мл×3). Органический слой выпаривали с получением неочищенного продукта, 3-(1,1-дифторэтил)-7-(гидроксиметил)хиноксалин-2(1H)-она (промежуточного соединения 72, 120 мг, 84%). Продукт непосредственно применяли на следующей стадии без дополнительной очистки.

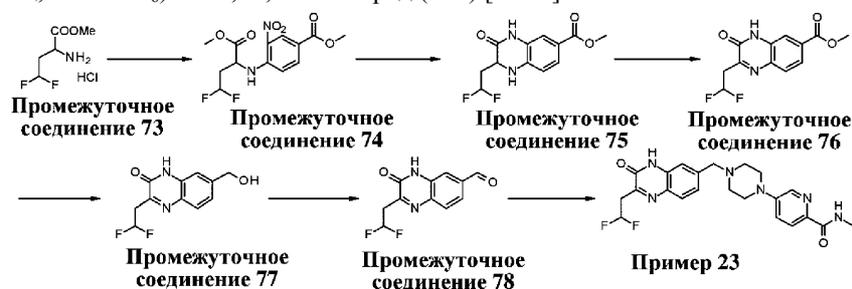
¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 2,06 (3H, t), 4,63 (2H, s), 5,47 (1H, s), 7,26 (1H, dd), 7,35 (1H, d), 7,78 (1H, d), 12,75 (1H, br s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 241.

Пример 22. 5-[4-[[2-(1,1-Дифторэтил)-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид



3-(1,1-Дифторэтил)-7-(гидроксиметил)хиноксалин-2(1H)-он (промежуточное соединение 72, 60 мг, 0,25 ммоль) добавляли к 33% HBr в уксусной кислоте (2 мл, 12,15 ммоль). Полученную смесь перемешивали при 80°C в течение 2 ч. Реакционную смесь выпаривали под вакуумом с получением 7-(бромметил)-3-(1,1-дифторэтил)хиноксалин-2(1H)-она (неочищенного продукта). Продукт непосредственно применяли на следующей стадии без дополнительной очистки. DIPEA (0,218 мл, 1,25 ммоль) добавляли к 7-(бромметил)-3-(1,1-дифторэтил)хиноксалин-2(1H)-ону (неочищенному продукту) и N-метил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамиду (промежуточному соединению 13, 60 мг, 0,27 ммоль) в NMP (3 мл). Полученную смесь перемешивали при 80°C в течение 1 ч. Реакционную смесь концентрировали и очищали посредством препаративной HPLC (колонка: XBridge Shield RP18 OBD, 30×150 мм, 5 мкм; подвижная фаза А: вода (0,05% NH₃H₂O), подвижная фаза В: ACN; скорость потока: 60 мл/мин; градиент: от 13 до 33 В за 7 мин; 254; 220 нм; RT: 5,70. Фракции, содержащие требуемое соединение, выпаривали до сухого состояния с получением 5-[4-[[2-(1,1-дифторэтил)-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид (примера 22, 47,8 мг, 43,2%) в виде желтого твердого вещества.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 2,06 (3H, t), 2,52-2,62 (4H, m), 2,78 (3H, d), 3,30-3,40 (4H, m), 3,67 (2H, s), 7,32-7,42 (3H, m), 7,80-7,86 (2H, m), 8,27 (1H, d), 8,34-8,42 (1H, m), 12,70 (1H, s); ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-d₆) δ -92,74; масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 443.



Промежуточное соединение 74. Метил-4-(4,4-дифтор-1-метокси-1-оксобутан-2-иламино)-3-нитробензоат.

DIPEA (8,77 мл, 50,22 ммоль) добавляли к метил-4-фтор-3-нитробензоату (2,0 г, 10,04 ммоль) и гидрохлориду метил-2-амино-4,4-дифторбутаноата (промежуточному соединению 73, 2,0 г, 10,55 ммоль) в DMF (20 мл). Полученную смесь перемешивали при 40°C в течение 8 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью EtOAc (100 мл) и последовательно промывали насыщенным NH₄Cl (100 мл×1) и соевым раствором (100 мл×4). Органический слой высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и выпаривали с полу-

чением требуемого продукта, метил-4-((4,4-дифтор-1-метокси-1-оксобутан-2-ил)амино)-3-нитробензоата (промежуточного соединения 74, 2,5 г, 74,9%), в виде желтого твердого вещества.

^1H ЯМР (300 МГц, DMSO- d_6) δ 2,50-2,76 (2H, m), 3,71 (3H, s), 3,82 (3H, s), 4,95 (1H, q), 6,22 (1H, tt), 7,18 (1H, d), 7,99 (1H, dd), 8,63 (1H, d), 8,66 (1H, d); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 333$.

Промежуточное соединение 75. Метил-2-(2,2-дифторэтил)-3-оксо-1,2,3,4-тетрагидрохиноксалин-6-карбоксилат.

20% Pd(OH) $_2$ /C (0,465 г, 0,66 ммоль) добавляли к метил-4-((4,4-дифтор-1-метокси-1-оксобутан-2-ил)амино)-3-нитробензоату (промежуточному соединению 74, 2,2 г, 6,62 ммоль) в MeOH (300 мл) в атмосфере водорода. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Реакционную смесь фильтровали через целит. Фильтрат выпаривали с получением метил-2-(2,2-дифторэтил)-3-оксо-1,2,3,4-тетрагидрохиноксалин-6-карбоксилата (промежуточного соединения 75, 1,64 г, 92%) в виде желтого твердого вещества.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 2,24-2,32 (2H, m), 3,76 (3H, s), 4,10-4,18 (1H, m), 6,27 (1H, tt), 6,73 (1H, d), 6,89 (1H, s), 7,37 (1H, d), 7,44 (1H, dd), 10,58 (1H, s); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 271$.

Промежуточное соединение 76. Метил-2-(2,2-дифторэтил)-3-оксо-3,4-дигидрохиноксалин-6-карбоксилат.

DDQ (1,478 г, 6,51 ммоль) добавляли к метил-2-(2,2-дифторэтил)-3-оксо-1,2,3,4-тетрагидрохиноксалин-6-карбоксилату (промежуточному соединению 75, 1,6 г, 5,92 ммоль) в DCM (100 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Полученную смесь удаляли при пониженном давлении с получением коричневого твердого вещества. Насыщенный водн. раствор NaHCO $_3$ (100 мл) добавляли к твердому веществу и перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Осадок фильтровали и промывали дополнительным количеством водн. раствора NaHCO $_3$ (30 мл \times 3). Твердое вещество высушивали под вакуумом с получением метил-2-(2,2-дифторэтил)-3-оксо-3,4-дигидрохиноксалин-6-карбоксилата (промежуточного соединения 76, 1,58 г, 99%) в виде грязно-белого твердого вещества.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 3,46 (2H, td), 3,90 (3H, s), 6,57 (1H, t), 7,79-7,92 (3H, m), 12,68 (1H, s); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 269$.

Промежуточное соединение 77. 3-(2,2-Дифторэтил)-7-(гидроксиметил)хиноксалин-2(1H)-он.

1 M раствор гидрида диизобутилалюминия в THF (22,37 мл, 22,37 ммоль) частями добавляли к метил-2-(2,2-дифторэтил)-3-оксо-3,4-дигидрохиноксалин-6-карбоксилату (промежуточному соединению 76, 1,0 г, 3,73 ммоль) в THF (100 мл) при 0°C. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Реакционную смесь гасили насыщенным водным раствором тартрата калия-натрия (20 мл) и MeOH (10 мл) при 0°C. Полученную смесь перемешивали в течение 1 ч. Реакционную смесь фильтровали и промывали с помощью THF (30 мл \times 3). Органический слой выпаривали с получением 3-(2,2-дифторэтил)-7-(гидроксиметил)хиноксалин-2(1H)-она (0,72 г, 80%) в виде красного твердого вещества (неочищенного продукта). Неочищенный продукт очищали посредством хроматографии с обращенной фазой, градиент элюирования 5-60% MeOH в воде (0,4% HCO $_2$ H). Очищенные фракции выпаривали до сухого состояния с получением 3-(2,2-дифторэтил)-7-(гидроксиметил)хиноксалин-2(1H)-она (промежуточного соединения 77, 500 мг, 69,4%) в виде красного твердого вещества.

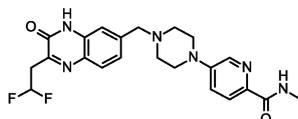
^1H ЯМР (300 МГц, DMSO- d_6) δ 3,42 (2H, td), 4,61 (2H, s), 5,42 (1H, brs), 6,56 (1H, tt), 7,23 (1H, dd), 7,32 (1H, d), 7,71 (1H, d), 12,55 (1H, s); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 241$.

Промежуточное соединение 78. 2-(2,2-Дифторэтил)-3-оксо-3,4-дигидрохиноксалин-6-карбальдегид.

Периодат Десса-Мартина (530 мг, 1,25 ммоль) добавляли к 3-(2,2-дифторэтил)-7-(гидроксиметил)хиноксалин-2(1H)-ону (промежуточному соединению 77, 200 мг, 0,83 ммоль) в DCM (5 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Полученную смесь выпаривали с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали посредством хроматографии с обращенной фазой, градиент элюирования 5-30% MeCN в воде (0,4% HCO=H). Очищенные фракции выпаривали до сухого состояния с получением 2-(2,2-дифторэтил)-3-оксо-3,4-дигидрохиноксалин-6-карбальдегида (промежуточного соединения 78, 160 мг, 81%) в виде желтого твердого вещества.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 3,47 (2H, td), 6,58 (1H, tt), 7,77-7,85 (2H, m), 7,90-,98 (1H, m), 10,09 (1H, s), 12,79 (1H, s); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 239$.

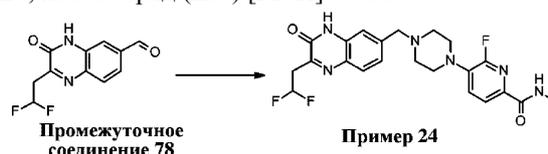
Пример 23. 5-[4-[[2-(2,2-Дифторэтил)-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид



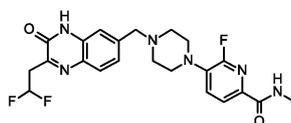
Изопропоксид титана (65,6 мг, 0,23 ммоль) добавляли к 2-(2,2-дифторэтил)-3-оксо-3,4-дигидрохиноксалин-6-карбальдегиду (промежуточному соединению 78, 55 мг, 0,23 ммоль) и N-метил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамиду (промежуточному соединению 13, 60 мг, 0,23 ммоль) в THF (2 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 мин. Добавляли триацетоксибор-

гидрид натрия (196 мг, 0,92 ммоль). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакционную смесь гасили с помощью MeOH (0,1 мл). Реакционную смесь выпаривали с получением неочищенного продукта, который очищали посредством препаративной HPLC (колонка: XBridge Shield RP18 OBD, 30×150 мм, 5 мкм; подвижная фаза А: вода (0,05% NH₃H₂O), подвижная фаза В: АСN; скорость потока: 60 мл/мин; градиент: от 13 до 33 В за 7 мин; 254; 220 нм; RT: 5,70. Фракции, содержащие требуемое соединение, выпаривали до сухого состояния с получением 5-[4-[[2-(2,2-дифторэтил)-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид (примера 23, 8,76 мг, 8,57%) в виде желтого твердого вещества.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 2,56 (4H, m), 2,78 (3H, d), 3,32-3,48 (6H, m), 3,64 (2H, s), 6,55 (1H, tt), 7,27-7,33 (2H, m), 7,39 (1H, dd), 7,73 (1H, d), 7,83 (1H, d), 8,26 (1H, d), 8,37 (1H, m), 12,49 (1H, s); ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-d₆) δ -114,29; масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 443.



Пример 24. 5-[4-[[2-(2,2-Дифторэтил)-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]-6-фтор-N-метилпиридин-2-карбоксамид



Изопропоксид титана (59,7 мг, 0,21 ммоль) добавляли к 2-(2,2-дифторэтил)-3-оксо-3,4-дигидрохиноксалин-6-карбальдегиду (промежуточному соединению 78, 50 мг, 0,21 ммоль) и 6-фтор-N-метил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамиду (промежуточному соединению 23, 50,0 мг, 0,21 ммоль) в THF (2 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 мин. Добавляли триацетоксисборгидрид натрия (178 мг, 0,84 ммоль). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакция протекала до завершения. Реакционную смесь гасили с помощью MeOH (0,1 мл). Реакционную смесь выпаривали с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной HPLC (колонка: Sunfire Prep C18, 30×150, 5 мкм; подвижная фаза А: вода (0,1% HCO₂H), подвижная фаза В: АСN; скорость потока: 60 мл/мин; градиент: от 2 до 27 В за 7 мин; 254/220 нм; RT: 6,78. Фракции, содержащие требуемое соединение, выпаривали до сухого состояния с получением 5-[4-[[2-(2,2-дифторэтил)-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]-6-фтор-N-метилпиридин-2-карбоксамид (примера 24, 21,72 мг, 22,13%) в виде желтого твердого вещества.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 2,54-2,61 (4H, m), 2,76 (3H, d), 3,14-3,22 (4H, m), 3,41 (2H, td), 3,64 (2H, s), 6,39-6,71 (1H, m), 7,26-7,33 (2H, m), 7,57 (1H, dd), 7,73 (1H, d), 7,82-7,86 (1H, m), 8,13 (0,16H, s), 8,37 (1H, m), 12,49 (1H, s); ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-d₆) δ -72,52, -114,29; масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 461.



Промежуточное соединение 80. Метил-4-(4-фтор-1-метокси-1-оксобутан-2-иламино)-3-нитробензоат.

DIPEA (8,77 мл, 50,22 ммоль) добавляли к метил-4-фтор-3-нитробензоату (2,0 г, 10,04 ммоль) и гидрохлориду метил-2-амино-4-фторбутаноата (промежуточному соединению 79, 1,81 г, 10,55 ммоль) в DMF (20 мл). Полученную смесь перемешивали при 40°C в течение 8 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью EtOAc (100 мл) и последовательно промывали насыщенным NH₄Cl (100 мл×1) и соевым раствором (100 мл×4). Органический слой высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и выпаривали с получением требуемого продукта, метил-4-((4-фтор-1-метокси-1-оксобутан-2-ил)амино)-3-нитробензоата (промежуточного соединения 80, 2,5 г, 79%), в виде желтого твердого вещества.

¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ 2,25-2,35 (1H, m), 2,35-2,45 (1H, m), 3,71 (3H, s), 3,82 (3H, s), 4,36-4,58 (1H, m), 4,56-4,74 (1H, m), 4,84 (1H, q), 7,14 (1H, d), 7,99 (1H, dd), 8,63 (1H, d), 8,67 (1H, d); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 315.

Промежуточное соединение 81. Метил-2-(2-фторэтил)-3-оксо-1,2,3,4-тетрагидрохиноксалин-6-карбоксилат.

20% Pd(OH)₂/C (0,547 г, 0,78 ммоль) добавляли к метил-4-((4-фтор-1-метокси-1-оксобутан-2-ил)амино)-3-нитробензоату (промежуточному соединению 80, 2,45 г, 7,80 ммоль) в MeOH (300 мл) в атмосфере водорода. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Реакция протекала до завершения. Реакционную смесь фильтровали через целит. Фильтрат выпаривали с получением метил-2-(2-фторэтил)-3-оксо-1,2,3,4-тетрагидрохиноксалин-6-карбоксилата (промежуточного соединения 81, 1,9 г, 97%) в виде серого твердого вещества.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 1,91-2,19 (2H, m), 3,75 (3H, s), 4,03 (1H, m), 4,49-4,73 (2H, m), 6,73 (1H, d), 6,91 (1H, d), 7,35 (1H, d), 7,42 (1H, dd), 10,46 (1H, s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 253.

Промежуточное соединение 82. Метил-2-(2-фторэтил)-3-оксо-3,4-дигидрохиноксалин-6-карбоксилат.

DDQ (1,83 г, 8,07 ммоль) добавляли к метил-2-(2-фторэтил)-3-оксо-1,2,3,4-тетрагидрохиноксалин-6-карбоксилату (промежуточному соединению 81, 1,85 г, 7,33 ммоль) в DCM (100 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Полученную смесь удаляли при пониженном давлении с получением коричневого твердого вещества. Водн. насыщенный раствор NaHCO₃ (100 мл) добавляли к твердому веществу и перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Осадок фильтровали и промывали дополнительным количеством водн. раствора NaHCO₃ (30 мл×3). Твердое вещество высушивали под вакуумом с получением метил-2-(2-фторэтил)-3-оксо-3,4-дигидрохиноксалин-6-карбоксилата (промежуточного соединения 82, 1,8 г, 98%) в виде серого твердого вещества.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 3,23 (2H, dt), 3,89 (3H, s), 4,90 (2H, dt), 7,76-7,85 (2H, m), 7,88 (1H, d), 12,55 (1H, s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 251.

Промежуточное соединение 83. 3-(2-Фторэтил)-7-(гидроксиметил)хиноксалин-2(1H)-он.

1 M раствор гидрида диизобутилалюминия в THF (15,99 мл, 15,99 ммоль) частями добавляли к метил-2-(2-фторэтил)-3-оксо-3,4-дигидрохиноксалин-6-карбоксилату (промежуточному соединению 82, 1,0 г, 4,00 ммоль) в THF (100 мл) при 0°C. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Реакционную смесь гасили насыщенным водным раствором тартрата калия-натрия (20 мл) и MeOH (10 мл) при 0°C. Полученную смесь перемешивали в течение 1 ч. Реакционную смесь фильтровали и промывали с помощью THF (30 мл×3). Органический слой выпаривали с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали посредством хроматографии с обращенной фазой, градиент элюирования 5-60% MeOH в воде (0,4% HCO₂H). Очищенные фракции выпаривали до сухого состояния с получением 3-(2-фторэтил)-7-(гидроксиметил)хиноксалин-2(1H)-она (промежуточного соединения 83, 0,49 г, 55,2%) в виде коричневого твердого вещества.

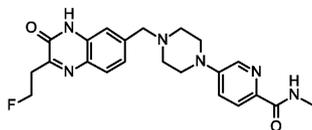
¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ 3,20 (2H, dt), 4,60 (2H, d), 4,90 (2H, dt), 5,41 (1H, t), 7,21 (1H, dd), 7,30 (1H, d), 7,68 (1H, d), 12,42 (1H, s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 223.

Промежуточное соединение 84. 2-(2-Фторэтил)-3-оксо-3,4-дигидрохиноксалин-6-карбальдегид.

Периодат Десса-Мартина (229 мг, 0,54 ммоль) добавляли к 3-(2-фторэтил)-7-(гидроксиметил)-хиноксалин-2(1H)-ону (промежуточному соединению 83, 100 мг, 0,45 ммоль) в DCM (3 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционную смесь выпаривали с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали посредством хроматографии с обращенной фазой, градиент элюирования 5-30% MeCN в воде (0,4% HCO₂H). Очищенные фракции выпаривали до сухого состояния с получением 2-(2-фторэтил)-3-оксо-3,4-дигидрохиноксалин-6-карбальдегида (промежуточного соединения 84, 93 мг, 94%) в виде желтого твердого вещества.

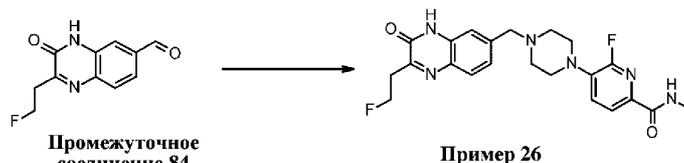
¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ 3,20-3,28 (2H, m), 4,90 (2H, dt), 7,74-7,80 (2H, m), 7,91 (1H, d), 10,06 (1H, s), 12,66 (1H, s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 221.

Пример 25. 5-[4-[[2-(2-Фторэтил)-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид

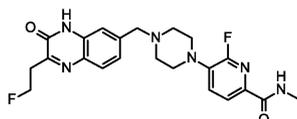


Изопропоксид титана (64,5 мг, 0,23 ммоль) добавляли к 2-(2-фторэтил)-3-оксо-3,4-дигидрохиноксалин-6-карбальдегиду (промежуточному соединению 84, 50 мг, 0,23 ммоль) и N-метил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамиду (промежуточному соединению 13, 50,0 мг, 0,23 ммоль) в THF (3 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 мин. Добавляли триацетоксиборгидрид натрия (192 мг, 0,91 ммоль). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Вышеуказанное повторяли с другой партией, и две партии объединяли для осуществления очистки. Объединенную реакционную смесь очищали посредством препаративной HPLC (колонка: XBridgePrep OBD C18, 30×150 мм, 5 мкм; подвижная фаза А: вода (10 ммоль/л NH₄HCO₃), подвижная фаза В: ACN; скорость потока: 60 мл/мин; градиент: от 20 до 35 В за 7 мин; 254/210 нм; RT: 6,38. Фракции, содержащие требуемое соединение, выпаривали до сухого состояния с получением 5-[4-[[2-(2-фторэтил)-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид (примера 25, 4,83 мг, 2,54%) в виде белого твердого вещества.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 2,53-2,59 (4H, m), 2,78 (3H, d), 3,17 (1H, t), 3,23 (1H, t), 3,32-3,38 (4H, m), 3,63 (2H, s), 4,83 (1H, t), 4,95 (1H, t), 7,25-7,32 (2H, m), 7,39 (1H, dd), 7,71 (1H, d), 7,83 (1H, d), 8,26 (1H, d), 8,37 (1H, d), 12,36 (1H, s); ^{19}F ЯМР (376 МГц, DMSO- d_6) δ -217,70; масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 425$.

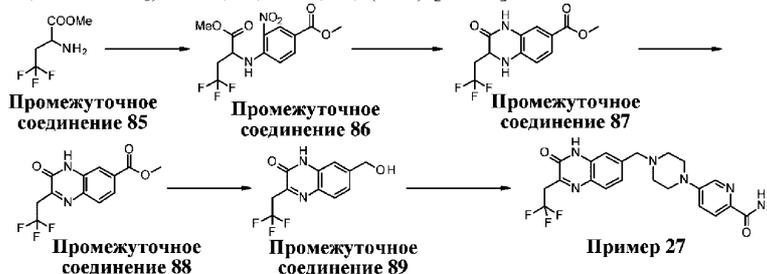


Пример 26. 6-Фтор-5-[4-[[2-(2-фторэтил)-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид



Изопропоксид титана (90 мг, 0,32 ммоль) добавляли к 2-(2-фторэтил)-3-оксо-3,4-дигидрохиноксалин-6-карбальдегиду (промежуточному соединению 84, 70 мг, 0,32 ммоль) и 6-фтор-N-метил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамиду (промежуточному соединению 23, 76 мг, 0,32 ммоль) в THF (3 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 мин. Добавляли триацетоксигорбидрид натрия (269 мг, 1,27 ммоль). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакционную смесь гасили с помощью MeOH (0,1 мл). Реакционную смесь выпаривали с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной HPLC (колонка: XBridge Prep OBD C18, 30×150 мм, 5 мкм; подвижная фаза А: вода (10 ммоль/л NH_4HCO_3), подвижная фаза В: ACN; скорость потока: 60 мл/мин; градиент: от 28 до 35 В за 8 мин; 254/210 нм; RT: 7. Фракции, содержащие требуемое соединение, выпаривали до сухого состояния с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт дополнительно очищали посредством препаративной HPLC (колонка: Xselect CSH OBD 30×150 мм, 5 мкм, п; подвижная фаза А: вода (0,1% HCO_2H), подвижная фаза В: ACN; скорость потока: 60 мл/мин; градиент: от 5 до 20 В за 7 мин; 254; 220 нм; RT: 6,83. Фракции, содержащие требуемое соединение, выпаривали до сухого состояния с получением 6-фтор-5-[4-[[2-(2-фторэтил)-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид (примера 26, 3,79 мг, 2,65%) в виде желтого твердого вещества.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 2,55-2,60 (4H, m), 2,76 (3H, d), 3,14-3,25 (6H, m), 3,63 (2H, s), 4,89 (2H, dt), 7,24-7,31 (2H, m), 7,57 (1H, dd), 7,70 (1H, d), 7,84 (1H, d), 8,24 (0,174H, s), 8,38 (1H, d), 12,37 (1H, s); ^{19}F ЯМР (376 МГц, DMSO- d_6) δ -72,51, -217,71; (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 443$.



Промежуточное соединение 86. Метил-3-нитро-4-(4,4,4-трифтор-1-метокси-1-оксобутан-2-иламино)бензоат.

DIPEA (8,77 мл, 50,22 ммоль) добавляли к метил-4-фтор-3-нитробензоату (2,0 г, 10,04 ммоль) и гидрохлориду метил-2-амино-4,4,4-трифторбутаноата (промежуточному соединению 85, 2,2 г, 10,55 ммоль) в DMF (20 мл). Полученную смесь перемешивали при 50°C в течение 10 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью EtOAc (100 мл) и последовательно промывали насыщенным водным NH_4Cl (100 мл×1) и соевым раствором (100 мл×4). Органический слой сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и выпаривали с получением требуемого продукта, метил-3-нитро-4-((4,4,4-трифтор-1-метокси-1-оксобутан-2-ил)амино)бензоата (промежуточного соединения 86, 3,0 г, 85%), в виде желтого твердого вещества.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 2,99-3,28 (2H, m), 3,73 (3H, s), 3,84 (3H, s), 5,18 (1H, td), 7,28 (1H, d), 8,01 (1H, dd), 8,65 (1H, d), 8,71 (1H, d); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 351$.

Промежуточное соединение 87. Метил-3-оксо-2-(2,2,2-трифторэтил)-1,2,3,4-тетрагидрохиноксалин-6-карбоксилат.

20% $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ (0,601 г, 0,86 ммоль) добавляли к метил-3-нитро-4-((4,4,4-трифтор-1-метокси-1-оксобутан-2-ил)амино)бензоату (промежуточному соединению 86, 3,0 г, 8,57 ммоль) в MeOH (300 мл) в атмосфере водорода. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Реакционную смесь фильтровали через целит. Фильтрат выпаривали до сухого состояния с получением

метил-3-оксо-2-(2,2,2-трифторэтил)-1,2,3,4-тетрагидрохиноксалин-6-карбоксилата (промежуточного соединения 87, 2,3 г, 93%) в виде грязно-белого твердого вещества.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 2,64-2,83 (2H, m), 3,76 (3H, s), 4,32-4,37 (1H, m), 6,78 (1H, d), 6,90 (1H, d), 7,37 (1H, d), 7,43 (1H, dd), 10,64 (1H, s); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 289$.

Промежуточное соединение 88. Метил-3-оксо-2-(2,2,2-трифторэтил)-3,4-дигидрохиноксалин-6-карбоксилат.

DDQ (1,975 г, 8,70 ммоль) добавляли к метил-3-оксо-2-(2,2,2-трифторэтил)-1,2,3,4-тетрагидрохиноксалин-6-карбоксилату (промежуточному соединению 87, 2,28 г, 7,91 ммоль) в DCM (100 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Полученную смесь удаляли при пониженном давлении с получением коричневого твердого вещества. Водн. насыщенный раствор NaHCO_3 (100 мл) добавляли к твердому веществу и перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Осадок фильтровали и промывали дополнительным количеством водн. раствора NaHCO_3 (30 мл \times 3). Твердое вещество высушивали под вакуумом с получением метил-3-оксо-2-(2,2,2-трифторэтил)-3,4-дигидрохиноксалин-6-карбоксилата (промежуточного соединения 88, 2,2 г, 97%) в виде коричневого твердого вещества.

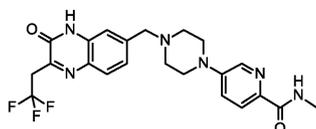
^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 3,88-3,98 (5H, m), 7,81 (1H, dd), 7,86-7,94 (2H, m), 12,75 (1H, s); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 287$.

Промежуточное соединение 89. 7-(Гидроксиметил)-3-(2,2,2-трифторэтил)хиноксалин-2(1H)-он.

1 М раствор гидроксида диизобутилалюминия в THF (20,96 мл, 20,96 ммоль) частями добавляли к метил-3-оксо-2-(2,2,2-трифторэтил)-3,4-дигидрохиноксалин-6-карбоксилату (промежуточному соединению 88, 1,0 г, 3,49 ммоль) в THF (100 мл) при 0°C. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Реакционную смесь гасили насыщенным водным раствором тартрата калия-натрия (20 мл) и MeOH (10 мл) при 0°C. Полученную смесь перемешивали в течение 1 ч. Реакционную смесь фильтровали и промывали с помощью THF (30 мл \times 3). Органический слой выпаривали с получением грязно-белого твердого вещества, которое очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле, градиент элюирования 5-55% MeOH в воде (0,4% HCO_2H). Очищенные фракции выпаривали до сухого состояния с получением 7-(гидроксиметил)-3-(2,2,2-трифторэтил)хиноксалин-2(1H)-она (промежуточного соединения 89, 650 мг, 72,2%) в виде желтого твердого вещества.

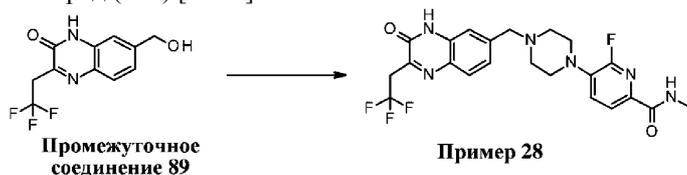
^1H ЯМР (300 МГц, DMSO-d_6) δ 3,88 (2H, q), 4,62 (2H, d), 5,45 (1H, t), 7,24 (1H, dd), 7,33 (1H, d), 7,73 (1H, d), 12,62 (1H, s); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 259$.

Пример 27. N-Метил-5-[4-[[3-оксо-2-(2,2,2-трифторэтил)-4Н-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]пиридин-2-карбоксамид

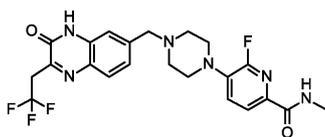


7-(Гидроксиметил)-3-(2,2,2-трифторэтил)хиноксалин-2(1H)-он (промежуточное соединение 89, 50 мг, 0,19 ммоль) добавляли к 33% HBr в AcOH (2 мл, 12,15 ммоль). Полученную смесь перемешивали при 80°C в течение 2 ч. Реакционную смесь выпаривали под вакуумом с получением 7-(бромметил)-3-(2,2,2-трифторэтил)хиноксалин-2(1H)-она (неочищенного продукта). Продукт непосредственно применяли на следующей стадии без дополнительной очистки. DIPEA (0,169 мл, 0,97 ммоль) добавляли к 7-(бромметил)-3-(2,2,2-трифторэтил)хиноксалин-2(1H)-ону (неочищенному продукту) и N-метил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамиду (промежуточному соединению 13, 50 мг, 0,23 ммоль) в NMP (2 мл). Полученную смесь перемешивали при 80°C в течение 1 ч. Реакционную смесь концентрировали, очищали посредством препаративной HPLC (колонка: Sunfire Prep C18, 30 \times 150 мм, 5 мкм; подвижная фаза А: вода (0,1% HCO_2H), подвижная фаза В: ACN; скорость потока: 60 мл/мин; градиент: от 10 до 25 В за 7 мин; 254/220 нм; RT: 6,57. Фракции, содержащие требуемое соединение, выпаривали до сухого состояния с получением N-метил-5-[4-[[3-оксо-2-(2,2,2-трифторэтил)-4Н-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]пиридин-2-карбоксамид (примера 27, 41,5 мг, 46,6%) в виде грязно-белого твердого вещества.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 2,56 (4H, m), 2,78 (3H, d), 3,35 (4H, m), 3,65 (2H, s), 3,88 (2H, q), 7,29-7,42 (3H, m), 7,79 (2H, m), 8,25-8,30 (1H, m), 8,38 (1H, m), 12,60 (1H, br s); ^{19}F ЯМР (376 МГц, DMSO-d_6) δ -61,53; масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 461$.



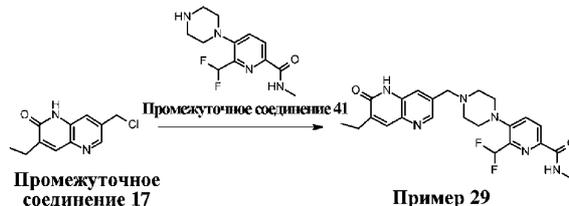
Пример 28. 6-Фтор-N-метил-5-[4-[[3-оксо-2-(2,2,2-трифторэтил)-4Н-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]пиридин-2-карбоксамид



7-(Гидроксиметил)-3-(2,2,2-трифторэтил)хиноксалин-2(1H)-он (промежуточное соединение 89, 60 мг, 0,23 ммоль) добавляли к 33% HBr в AcOH (2 мл, 12,15 ммоль). Полученную смесь перемешивали при 80°C в течение 2 ч. Реакционную смесь выпаривали под вакуумом с получением 7-(бромметил)-3-(2,2,2-трифторэтил)хиноксалин-2(1H)-она (неочищенного продукта). Продукт непосредственно применяли на следующей стадии без дополнительной очистки. DIPEA (0,203 мл, 1,16 ммоль) добавляли к 7-(бромметил)-3-(2,2,2-трифторэтил)хиноксалин-2(1H)-ону (неочищенному продукту) и 6-фтор-N-метил-5-(пиперазин-1-ил)пиридиномиду (промежуточному соединению 23, 60 мг, 0,25 ммоль) в NMP (2 мл). Полученную смесь перемешивали при 80°C в течение 2 ч. Полученную смесь очищали посредством препаративной HPLC (колонка: Sunfire Prep C18, 30x150 мм, 5 мкм; подвижная фаза А: вода (0,1% HCO₂H), подвижная фаза В: ACN; скорость потока: 60 мл/мин; градиент: от 12 до 30 В за 7 мин; 254/220 нм; RT: 6,25. Фракции, содержащие требуемое соединение, выпаривали до сухого состояния с получением 6-фтор-N-метил-5-[4-[[3-оксо-2-(2,2,2-трифторэтил)-4H-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]пиридин-2-карбоксамида (примера 28, 49,0 мг, 43,3%) в виде грязно-белого твердого вещества.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 2,53-2,63 (4H, m), 2,76 (3H, d), 3,15-3,22 (4H, m), 3,65 (2H, s), 3,88 (2H, q), 7,28-7,35 (2H, m), 7,57 (1H, dd), 7,76 (1H, d), 7,84 (1H, dd), 8,17 (0,185H, s), 8,38 (1H, m), 12,57 (1H, s); ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-d₆) δ -61,54, -72,52; масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 479.

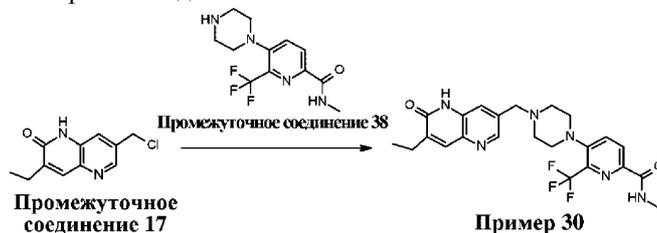
Пример 29. 6-(Дифторметил)-5-[4-[(7-этил-6-оксо-5H-1,5-нафтиридин-3-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида



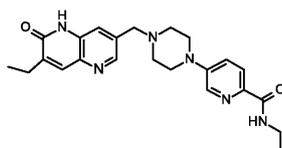
DIPEA (330 мкл, 1,89 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору 7-(хлорметил)-3-этил-1,5-нафтиридин-2(1H)-она, HCl (промежуточного соединения 17, 70 мг, 0,27 ммоль), йодида натрия (4,05 мг, 0,03 ммоль) и 6-(дифторметил)-N-метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамида, 2HCl (промежуточного соединения 41, 102 мг, 0,30 ммоль) в ацетонитриле (2,4 мл) при 20°C и полученный раствор перемешивали при 50°C в течение 3 ч. Растворитель удаляли под вакуумом, добавляли 50 мл воды и затем 3 мл насыщ. NaHCO₃. Смесь экстрагировали этилацетатом. После концентрирования полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле, градиент элюирования 0-30% MeOH в DCM. Фракции, содержащие продукт, концентрировали при пониженном давлении до сухого состояния с получением 6-(дифторметил)-5-[4-[(7-этил-6-оксо-5H-1,5-нафтиридин-3-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида (примера 29, 52,0 мг, 42%) в виде бледно-желтого твердого вещества.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 1,19 (3H, t), 2,54-2,58 (2H, m), 2,63 (4H, br s), 2,84 (3H, d), 3,03 (4H, br t), 3,68 (2H, s), 7,14 (1H, t), 7,62 (1H, d), 7,76 (1H, s), 7,86 (1H, d), 8,10 (1H, d), 8,32-8,45 (2H, m), 11,86 (1H, s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 457.

Пример 30. 5-[4-[(7-Этил-6-оксо-5H-1,5-нафтиридин-3-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метил-6-(трифторметил)пиридин-2-карбоксамида



DIPEA (330 мкл, 1,89 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору 7-(хлорметил)-3-этил-1,5-нафтиридин-2(1H)-она, HCl (промежуточного соединения 17, 70 мг, 0,27 ммоль), йодида натрия (4,05 мг, 0,03 ммоль) и N-метил-5-пиперазин-1-ил-6-(трифторметил)пиридин-2-карбоксамида, 2HCl (промежуточного соединения 38, 107 мг, 0,30 ммоль) в ацетонитриле (2,4 мл) при 20°C и полученный раствор перемешивали при 50°C в течение 3 ч. Растворитель удаляли под вакуумом, добавляли 50 мл воды и затем 3 мл насыщ. NaHCO₃. Смесь экстрагировали этилацетатом. После концентрирования полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле, градиент элюирования 0-30% MeOH в DCM. Фракции, содержащие продукт, концентрировали при пониженном давлении до сухого состояния с получением 5-[4-[(7-этил-6-оксо-5H-1,5-нафтиридин-3-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метил-6-(трифтор-



DIPEA (0,320 мл, 1,83 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору 7-(бромметил)-3-этил-1,5-нафтиридин-2(1H)-она (промежуточного соединения 14, 70 мг, 0,26 ммоль) и N-этил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамид, 2HCl (промежуточного соединения 91, 89 мг, 0,29 ммоль) в ацетонитриле (2 мл) при 20°C и полученный раствор перемешивали при 70°C в течение 3 ч. Растворитель удаляли под вакуумом и добавляли 50 мл воды, затем добавляли 3 мл насыщ. NaHCO₃. Смесь экстрагировали этилацетатом. После концентрирования неочищенный продукт очищали посредством хроматографии с обращенной фазой (колонка: XbridC18), градиент элюирования 20-50% MeCN в воде (с 0,2% NH₄OH). Очищенные фракции выпаривали до сухого состояния с получением N-этил-5-[4-[(7-этил-6-оксо-5H-1,5-нафтиридин-3-ил)метил]пиперазин-1-ил]пиридин-2-карбоксамид (примера 32, 28,0 мг, 25%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) 1,10 (3H, t), 1,19 (3H, t), 2,52-2,55 (2H, m), 2,55-2,59 (4H, m), 3,26-3,30 (2H, m), 3,34 (4H, br d), 3,66 (2H, s), 7,40 (1H, dd), 7,63 (1H, s), 7,76 (1H, s), 7,83 (1H, d), 8,27 (1H, d), 8,36-8,46 (2H, m), 11,74-11,94 (1H, m); масса/заряд (ES⁺) [M]⁺ = 420.

Пример 4. Форма А.

В примере 4 5-[4-[(7-этил-6-оксо-5H-1,5-нафтиридин-3-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид получали в виде частично кристаллического твердого вещества посредством выпаривания раствора метанола/дихлорметана при пониженном давлении. Кристаллический материал, полученный таким образом, характеризовали как кристаллическую форму А.

В случае низкой степени кристалличности кристаллическую форму А можно было получить посредством суспендирования 20 мг неочищенного образца в 0,20 мл воды, метанола, этанола, ацетона, ацетонитрила, тетрагидрофурана, этилацетата или другого растворителя в течение 1 дня при температуре окружающей среды или 50°C.

Форму А анализировали посредством XRPD, и результаты приведены в виде таблицы ниже (табл. 1) и показаны на фиг. 1.

Таблица 1
Пики XRPD для формы А

Угол (2θ ± 0,2°)	Интенсивность (%)
8,3	100,0
12,4	30,9
19,4	26,5
20,4	25,8
26,3	19,2
21,2	17,4
20,8	14,8
22,8	14,1
16,8	14,0
10,2	13,2
18,4	10,8
11,4	9,9
28,1	8,4
18,0	8,4

25,2	8,2
24,9	6,7
16,5	6,4
17,3	5,3
22,1	4,0
29,3	3,3
24,3	2,7
30,3	2,5
38,2	2,0
33,9	1,4
14,2	1,4
13,7	1,4
33,0	1,3
36,5	1,2
39,2	1,2

Форма А характеризуется тем, что обеспечивает по меньшей мере одно из следующих значений угла 2θ , измеренных с применением $\text{CuK}\alpha$ -излучения: 8,3, 12,4 и 19,4°.

Форму А анализировали с помощью методик термического анализа. Результаты DSC-анализа указывали на то, что форма А характеризуется точкой плавления с началом при 254°C и пиком при 255°C. Репрезентативная кривая DSC для формы А показана на фиг. 2.

Биологические анализы.

Следующие процедуры тестирования можно применять для определения ингибирующих свойств соединения, описанного в данном документе.

Анализы связывания PARP на основе анизотропии флуоресценции.

Рекомбинантный полноразмерный белок PARP1 с меткой 6HIS разбавляли до 6 нМ с помощью 50 мМ Tris pH 8, 0,001% Triton X100, 10 мМ MgCl_2 , 150 мМ NaCl и инкубировали в течение 4 ч с эквивалентным объемом 2 нМ флуоресцентного зонда, разбавленного с помощью 50 мМ Tris pH 8, 0,001% Triton X100, 10 мМ MgCl_2 , 150 мМ NaCl. Конечную концентрацию DMSO зонда поддерживали ниже 1% (об./об.).

Рекомбинантный полноразмерный белок PARP2 разбавляли до 6 нМ с помощью 50 мМ Tris pH 8, 0,001% Triton X100, 10 мМ MgCl_2 , 150 мМ NaCl и инкубировали в течение 4 ч с эквивалентным объемом 2 нМ флуоресцентного зонда, разбавленного с помощью 50 мМ Tris pH 8, 0,001% Triton X100, 10 мМ MgCl_2 , 150 мМ NaCl. Конечную концентрацию DMSO зонда поддерживали ниже 1% (об./об.).

Рекомбинантный полноразмерный белок PARP3 разбавляли до 100 нМ с помощью 50 мМ Tris pH 8, 0,001% Triton X100, 10 мМ MgCl_2 , 150 мМ NaCl и инкубировали в течение 4 ч с эквивалентным объемом 6 нМ флуоресцентного зонда, разбавленного с помощью 50 мМ Tris pH 8, 0,001% Triton X100, 10 мМ MgCl_2 , 150 мМ NaCl. Конечную концентрацию DMSO зонда поддерживали ниже 1% (об./об.).

Рекомбинантный связывающий домен PARP5a разбавляли до 160 нМ с помощью 50 мМ Tris pH 8, 0,001% Triton X100, 10 мМ MgCl_2 , 150 мМ NaCl и инкубировали в течение 4 ч с эквивалентным объемом 6 нМ флуоресцентного зонда, разбавленного с помощью 50 мМ Tris pH 8, 0,001% Triton X100, 10 мМ MgCl_2 , 150 мМ NaCl. Конечную концентрацию DMSO зонда поддерживали ниже 1% (об./об.).

Рекомбинантный полноразмерный белок PARP6 с меткой GST разбавляли до 160 нМ с помощью 50 мМ Tris pH 8, 0,001% Triton X100, 10 мМ MgCl_2 , 150 мМ NaCl и инкубировали в течение 4 ч с эквивалентным объемом 6 нМ флуоресцентного зонда, разбавленного с помощью 50 мМ Tris pH 8, 0,001% Triton X100, 10 мМ MgCl_2 , 150 мМ NaCl. Конечную концентрацию DMSO зонда поддерживали ниже 1% (об./об.).

Флуоресцентную анизотропию зонда при связывании с белками измеряли с применением BMG Pherastar FS® в присутствии тестируемых соединений или контроля с растворителем, и определяли влияние на анизотропию. Рассчитывали процентные значения ингибирования для различных концентраций тестируемого соединения и аппроксимировали относительно четырехпараметрического логистического графика с целью определения значения IC_{50} . При необходимости K_i соединения можно определить на основе значения IC_{50} с применением уравнения Мансона-Родбарда, определение которого представлено в Anal. Biochem. 1980 Sep 1; 107(1):220-39, и на основе известной K_D зонда, связывающегося с соответствующим белком PARP.

Электрофизиологический анализ hERG.

Электрофизиологические показатели (все выполнялось при к.т.) стабильно трансфицированных клеток CHO hKv11.1 регистрировали с применением Nanion Syncropatch 768PE. К тестируемым соединениям, контролям со средой-носителем или положительным контролям добавляли 6 планшетов с соеди-

нениями, каждый с отличной концентрацией, для нанесения на клетки кумулятивных доз (10, 3,167, 1, 0,3167, 0,1, 0,03167 мМ). 600 (?) л соединения ресуспендировали в 90 мкл эталонного буфера (в мМ, 80 NaCl, 4 KCl, 5 CaCl, 1 MgCl, 60 NMDG Cl, 5 моногидрата D-глюкозы, 10 HEPES (pH 7,4 HCL, 298 мОсм) для получения конечной концентрации соединения, составляющей 39,6, 13,2, 4,4, 1,46, 0,48, 0,16 мкМ. Для каждого цикла Nanion Syncropatch 768PE измеряли амплитуду тока в каждой клетке в присутствии внеклеточного раствора (в мМ, 80 NaCl, 4 KCl, 5 CaCl, 1 MgCl, 60 NMDG Cl, 5 моногидрата D-глюкозы, 10 HEPES (pH 7,4 HCL, 298 мОсм), при этом добавление жидкостей осуществляли с применением системы дозирования жидкостей Syncropatch. Добавляли 40 мкл внешнего раствора (в мМ, HBPS, 2 CaCl₂, 1 MgCl₂ (pH 7,4, NaOH) в 384-луночный многоканальный чип для регистрации со средним сопротивлением и заливали внутренний буфер (в мМ, 130 KF, 20 KCl, 1 MgCl₂, 10 EGTA, 10 HEPES, 25 эсцина (все от Sigma-Aldrich; pH 7,2-7,30 с применением 10 М КОН, 320 мОсм) в нижнюю часть планшета. Вносили 20 мкл клеток при плотности 1е6 клеток/мл при поддержании температуры ~9°C в каждую лунку чипа, затем вносили 20 мкл усилителя контакта (в мМ, 80 NaCl, 3 KCl, 10 CaCl, 10 HEPES, 1 MgCl (pH 7,4 NaOH). Осуществляли стадию промывки, при этом оставляли остаточный объем, составляющий 40 мкл. Вносили 40 мкл эталонного буфера для установления стабильного исходного уровня перед добавлением тестируемого соединения, при этом осуществляли стадию удаления 40 мкл через 3 мин, повторяли указанную стадию. Вносили 40 мкл соединения в концентрации 1 (0,16 мкМ), осуществляли регистрацию в режиме "реального времени" для воздействия в течение 3 мин перед удалением 40 мкл. Указанную стадию повторяли для 5 дополнительных последующих планшетов с соединением для проведения анализа кумулятивной кривой. Все данные подвергали вычитанию утечки, 2 импульса до -80 мВ 100 мс при времени задержки 100 мс. Затем вызывали выходящие токи K⁺ посредством перепада напряжения от исходного потенциала, составлявшего -90 до 60 мВ, каждый импульс доставляли с частотой 2 Гц при интервале между импульсами, равном 15 с.

Анализ пролиферации с применением PARP (введение дозы соединения в течение 4 дней).

Клетки DLD1 и BRCA2 (-/-) DLD1 собирали с получением плотности 1,875E4 клеток/мл и 6,25E4 клеток/мл соответственно в полной среде, высевали при 40 мкл/лунка в 384-луночные планшеты (Greiner, Кремсмонстер, Австрия; 781090) с применением Multidrop Combi, затем инкубировали при 37°C, 5% CO₂ в течение ночи. На следующий день (день 1) с применением Multidrop Combi добавляли SYTOX зеленый (5 мкл, 2 мкМ) и сапонин (10 мкл, 0,25% исходный раствор) в планшет дня 0, герметично закрывали планшет с помощью черной клейкой крышки и инкубировали в течение >3 ч при к.т. Клетки визуализировали с применением Cell Insight (Thermo Fisher), оснащенного объективом 4x. Тестируемые соединения добавляли с применением Echo 555 и помещали в инкубатор с поддержанием 37°C, 5% CO₂ и инкубировали в течение 4 дней. В день 5 добавляли SYTOX зеленый (5 мкл, 2 мкМ) и затем сапонин (10 мкл, 0,25% исходный раствор) в планшеты, герметично закрывали планшет с помощью черной клейкой крышки и инкубировали в течение >3 ч при к.т. Клетки считывали с помощью Cell Insight с объективом 4x. Скорость пролиферации определяли в Genedata посредством оценки общего количества клеток, полученного с помощью Cell Insight для планшетов дня 0 и дня 5.

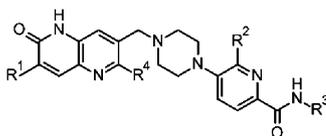
Таблица 2

№ пример а	PARP 1 IC50 (мкМ)	PARP 2 IC50 (мкМ)	PARP 3 IC50 (мкМ)	PARP5 а IC50 (мкМ)	PARP 6 IC50 (мкМ)	Пролиферация BRCA2 -/- DLD-1 в течение 4 дней, IC50 (мкМ)	Пролиферация DLD-1 дикого типа в течение 4 дней, IC50 (мкМ)	hER G IC50 (мкМ)
1	0,003	1,7	4	>100	34	0,010	>30	>40
2	0,004	0,88	9,9	20	14	0,008	>30	>40
3	0,005	1,3	12	>100	14	0,004	>30	22
4	0,004	>1,5	4,7	>100	19	>0,017	>30	>40
5	0,002	0,65	7,1	>100	23	0,006	>30	>40
6	0,003	0,84	9,3	>100	8,2	0,006	>30	>40
7	0,002	1,3	2,6	94	22	4,14		
8	0,003	11	55	93	18	0,011	>19	>40
9	0,009	22	>100	>100	47	0,010	17	>40
10	0,005	17	48	56	26	0,006	>30	>40
11	0,005	4	13	>100	22	0,184	>30	>40
12	0,004	1,6	19	89	11	0,008	>30	>40
13	0,007	8,5	30	>100	30	0,005	>26	>40
14	0,004	2,9	30	50	11	0,006	>30	>40
15	0,011	3,6	35	>100	80	0,090	>30	>40
16	0,007	3,3	74	61	31	0,018	>22	>40
17	0,007	1,7	96	>100	59	0,020	>30	>40
18	0,031	17	>100	>100	>29	4,90	>30	5,2
19	0,015	>100	>100	>100	>29	0,015	>30	21
20	0,014	28	>100	>100	>100	0,016	>24	38
21	0,004	9,5	>100	>100	33	0,016	>30	>40
22	0,006	1	2,6	26	16	0,012	>30	>40

23	0,004	4,4	60	60	>100		4,2	36
24	0,003	5,1	>100	93	>100	0,010	14	37
25	0,002	6	43	>100	>100		>25	>40
26	0,005	6,7	>100	>100	>100	0,005	23	>40
27	0,007	16	>100	71	>100	10,3	>10	26
28	0,006	14	>100	>29	>100	0,027	>30	>40
29	0,004	6,1	9,9	>100	14	0,007	>30	>40
31	0,003	7,6	4,5	>100	10	0,004	>30	>40
32	0,005	3,7	2,6	>100	28			>40
33	0,003	2,1	1,9	>100	10			>40

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы (Ia)



(Ia).

где R¹ представляет собой C₁₋₄алкил,
 R² выбран из H, галогена, C₁₋₄алкила и C₁₋₄фторалкила,
 R³ представляет собой H или C₁₋₄алкил и
 R⁴ представляет собой H;
 или его фармацевтически приемлемая соль.

2. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль по п.1, где R² выбран из дифторметила, трифторметила или метила.

3. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль по п.1, где R² представляет собой H или галоген.

4. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль по п.1, где R¹ представляет собой этил, R² выбран из H, хлора и фтора и R³ представляет собой метил.

5. Соединение по п.1, выбранное из

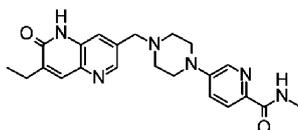
5-[4-[(7-этил-6-оксо-5H-1,5-нафтиридин-3-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид,

5-[4-[(7-этил-6-оксо-5H-1,5-нафтиридин-3-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-фтор-N-метилпиридин-2-карбоксамид,

6-хлор-5-[4-[(7-этил-6-оксо-5H-1,5-нафтиридин-3-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид и

5-[4-[(7-этил-6-оксо-5H-1,5-нафтиридин-3-ил)метил]пиперазин-1-ил]пиридин-2-карбоксамид,
 или его фармацевтически приемлемая соль.

6. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль по п.1, где соединение представляет собой 5-[4-[(7-этил-6-оксо-5H-1,5-нафтиридин-3-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид, имеющий структуру:



или его фармацевтически приемлемая соль.

7. Соединение по п.1, которое выбрано из

6-(дифторметил)-5-[4-[(7-этил-6-оксо-5H-1,5-нафтиридин-3-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид,

5-[4-[(7-этил-6-оксо-5H-1,5-нафтиридин-3-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метил-6-(трифторметил)-пиридин-2-карбоксамид,

5-[4-[(7-этил-6-оксо-5H-1,5-нафтиридин-3-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамид и

N-этил-5-[4-[(7-этил-6-оксо-5H-1,5-нафтиридин-3-ил)метил]пиперазин-1-ил]пиридин-2-карбоксамид,
 или его фармацевтически приемлемая соль.

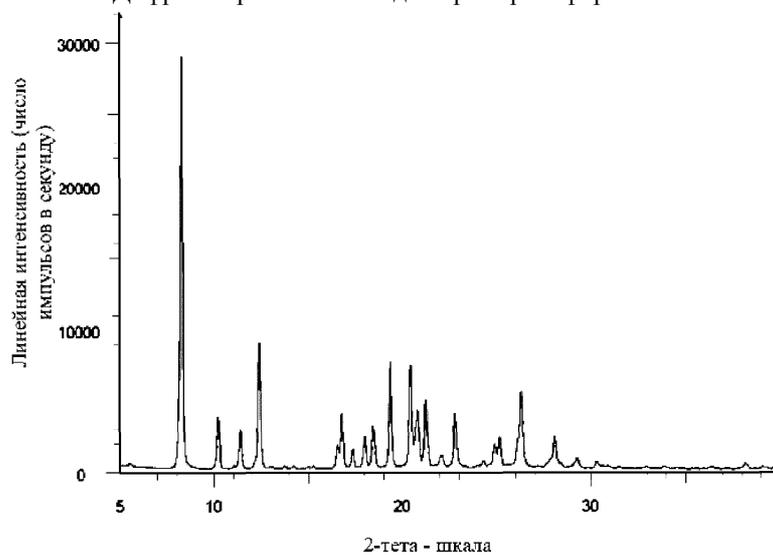
8. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение или его фармацевтически приемлемую соль по любому из пп.1-7 и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый разбавитель, наполнитель или инертный носитель.

9. Применение соединения или его фармацевтически приемлемой соли по любому из пп.1-7 в изготовлении лекарственного препарата для лечения рака у нуждающегося в этом индивидуума.

10. Применение соединения или его фармацевтически приемлемой соли по п.9, где рак выбран из

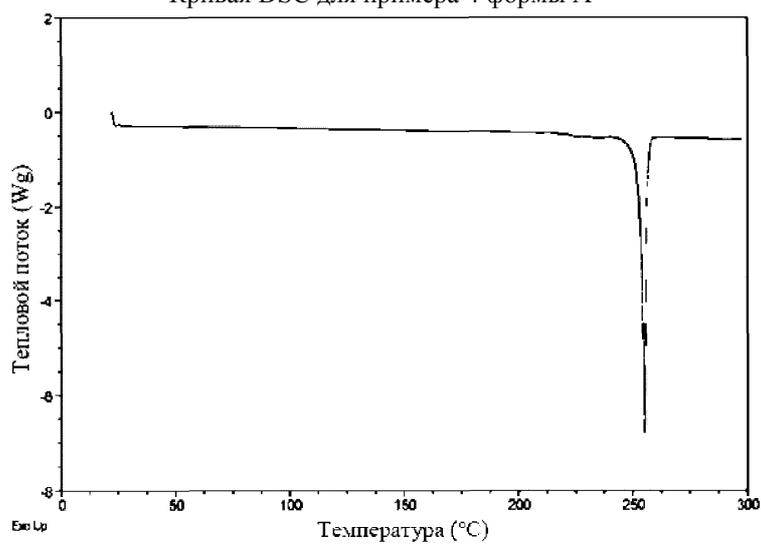
любого из рака молочной железы, рака яичников, рака поджелудочной железы, рака предстательной железы, гемобластоза, рака желудочно-кишечного тракта и рака легких.

Дифрактограмма XPRD для примера 4 формы А



Фиг. 1

Кривая DSC для примера 4 формы А



Фиг. 2



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

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