

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202491502** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2024.10.08

(22) Дата подачи заявки
2022.12.20

(51) Int. Cl. *A61K 31/336* (2006.01)
A61K 31/495 (2006.01)
A61K 31/498 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61K 41/00 (2006.01)

(54) **СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ ОПУХОЛЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА И НЕЙРОБЛАСТОМ**

(31) **63/292,029**

(32) **2021.12.21**

(33) **US**

(86) **PCT/EP2022/086913**

(87) **WO 2023/118085 2023.06.29**

(71) Заявитель:
АСТРАЗЕНЕКА АБ (SE)

(72) Изобретатель:
Хамерлик Петра (GB)

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

(57) Настоящее изобретение относится к способам лечения опухоли головного мозга или нейробластомы у нуждающегося в этом пациента, при этом способ включает введение пациенту терапевтически эффективного количества замещенных соединений на основе азахинолона, характеризующихся активностью ингибитора поли(ADP-рибоза)полимеразы (PARP).

202491502
A1

202491502
A1

СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ ОПУХОЛЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА И НЕЙРОБЛАСТОМ

[0001] Настоящее изобретение относится к способам лечения опухоли головного мозга или нейробластомы у нуждающегося в этом пациента, при этом способ включает введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора поли(ADP-рибоза)полимеразы (PARP), который представляет собой замещенные соединения на основе азахинолона. Опухоли головного мозга и нейробластомы могут характеризоваться фенотипом, дефектным в отношении синдрома сцепленной с X-хромосомой альфа-талассемии с умственной отсталостью (ATRX). Ингибитор PARP может быть введен пациенту в комбинации с алкилирующим химиотерапевтическим препаратом и/или ионизирующим излучением.

[0002] Существующие в настоящее время терапевтические стратегии для лечения опухолей головного мозга, таких как глиомы, включают хирургическую резекцию, ионизирующее излучение и применение алкилирующих химиотерапевтических препаратов, таких как темозоломид (TMZ). К сожалению, многие из этих опухолей головного мозга, такие как глиобластома (GBM), ассоциированы с крайне неблагоприятным клиническим прогнозом. Хирургические, инструментальные технологии, диагностические и радио/химиотерапевтические стратегии медленно развивались с течением времени, но это не привело к значительному повышению выживаемости пациентов. Соответственно, существует необходимость в новых стратегиях лечения опухолей головного мозга, таких как GBM.

[0003] Для классификации глиом применяли несколько молекулярных маркеров. Глиомы могут быть классифицированы на основании того, содержат ли они мутации в гене изоцитратдегидрогеназы (IDH) 1 и/или 2 (Hartmann et al. 2009) и/или содержат ли они мутацию в гене синдрома сцепленной с X-хромосомой альфа-талассемии с умственной отсталостью (ATRX) (Haase et al. 2018). Генетические изменения в гене ATRX ассоциированы также с подгруппой пациентов с неблагоприятным исходом среди пациентов с нейробластомой (George et al. 2020). Кроме того, применяли метилирование промотора MGMT в качестве маркера для прогнозирования благоприятного исхода у пациентов с GBM, которые подвергались химиотерапии алкилирующими средствами (Weller et al. 2010).

[0004] Темозоломид (TMZ) представляет собой стандартное средство лечения (SOC) при химиотерапии GBM (Stupp et al., 2014; Stupp et al., 2010). Что касается механизма действия, TMZ обеспечивает метилирование ДНК в конкретном положении, что приводит к образованию аддуктов ДНК, которые, если не произойдет их репарации,

приводят к одно- и двухнитевым разрывам ДНК, блокировке клеточного цикла и апоптозу (Singh et al., 2021). Важно отметить, что PARP (особенно PARP1) являются ключевыми ферментами, участвующими в ранних стадиях процесса повреждения и репарации ДНК (DDR) в ответ на одно- и двухнитевые разрывы. Фактически, одной из ключевых функций PARP1 является участие в процессе эксцизионной репарации оснований (BER), который требуется для удаления аддуктов ДНК, производимых TMZ, и рекрутирования последующих факторов для репарации этого повреждения. В различных исследованиях изучали преимущество комбинации ингибиторов PARP (PARPi) и TMZ (Gupta et al., 2018; Higuchi et al., 2020; Murai et al., 2014).

[0005] Ионизирующее излучение (IR) индуцирует одно-и двухнитевые разрывы ДНК, которые приводят к блокировке клеточного цикла и гибели клеток (Reisz et al., 2014). Важно то, что PARP1 участвует в репарации данных типов повреждения ДНК. В различных исследованиях изучали преимущество комбинации PARPi и IR (Jannetti et al., 2020). Наряду с повышением чувствительности глиом к облучению, также было описано, что PARPi обеспечивает повышение чувствительности эпендимомы к облучению (van Vuurden et al., 2011).

[0006] Примеры ингибиторов PARP и механизм их действия изложены, например, в WO 2004/080976.

[0007] PARP1 и PARP2 представляют собой наиболее широко изученные PARP с точки зрения их роли в репарации повреждений ДНК. PARP1 активируется разрывами, представляющими собой повреждение ДНК, и осуществляет катализ добавления цепей поли(ADP-рибоза) (PAR) к целевым белкам. Данная посттрансляционная модификация, известная как парилирование, опосредует рекрутирование дополнительных факторов репарации ДНК в очаги повреждения ДНК.

[0008] После завершения выполнения данной роли, представляющей собой рекрутирование, аутопарилирование PARP запускает высвобождение связанной PARP из ДНК с обеспечением доступа других белков репарации ДНК для завершения репарации. Таким образом, связывание PARP с поврежденными сайтами, ее каталитическая активность и ее последующее высвобождение из ДНК представляют собой важные стадии ответа раковой клетки на повреждение ДНК, вызванное химиотерапевтическими средствами и лучевой терапией (Bai 2015).

[0009] Считается, что ингибиторы PARP, характеризующиеся улучшенной селективностью в отношении PARP1, могут привести к улучшенной эффективности и сниженной токсичности по сравнению с другими ингибиторами PARP1/2, применяющимися в клинической практике. Также считается, что селективное выраженное

ингибирование PARP1 будет приводить к блокированию PARP1 на ДНК, приводящему к двухнитевым разрывам ДНК (DSB) посредством коллапса вилок репликации в S-фазе.

[0010] Таким образом, в данной области техники существует необходимость в разработке ингибиторов PARP, которые могут быть применены для безопасного и эффективного лечения опухолей головного мозга и нейроblastомы как в качестве средств монотерапии, так и в комбинации с алкилирующим химиотерапевтическим препаратом и ионизирующим излучением. Такие ингибиторы PARP могут проявлять селективность в отношении PARP1.

[0011] Заявитель обнаружил, что азахинолоны, описанные в данном документе, неожиданно характеризуются ингибирующей активностью в отношении PARP, и, таким образом, могут быть пригодными для лечения заболеваний и состояний, при которых функция PARP имеет фармакологическое значение. Кроме того, азахинолоны, описанные в данном документе, характеризуются неожиданно высокой селективностью в отношении PARP1 по сравнению с другими представителями семейства PARP, такими как PARP2, PARP3, PARP5a и PARP6.

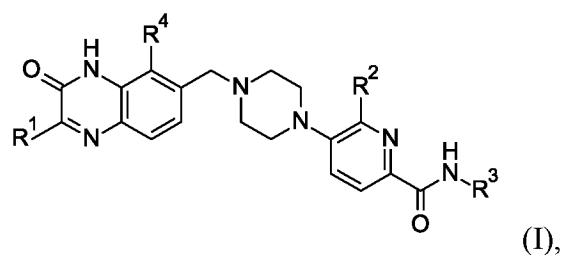
[0012] Заявитель дополнительно обнаружил, что азахинолоны, описанные в данном документе, неожиданно способны проникать через гематоэнцефалический барьер (BBB), что делает их применимыми для лечения опухолей головного мозга, таких как глиомы.

[0013] Заявитель продемонстрировал, что ингибитор PARP с такими свойствами может быть применен в лечении глиом с применением моделей *in vitro* и *in vivo*. Как описано в настоящем документе, было продемонстрировано, что ингибитор PARP характеризуется сильной активностью в качестве монотерапии в мутантной по ATRX клеточной линии, как на фоне наличия мутации в IDH1, так и на фоне IDH1 дикого типа.

[0014] В первом аспекте заявитель представляет способ лечения опухоли головного мозга или нейроblastомы у нуждающегося в этом пациента, при этом способ включает введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора поли(ADP-рибоза)полимеразы (PARP),

[0015] где опухоль головного мозга или нейроblastома характеризуются фенотипом, дефектным в отношении синдрома сцепленной с X-хромосомой альфа-талассемии с умственной отсталостью (ATRХ),

[0016] где ингибитор PARP представляет собой соединение формулы (I):



где

R^1 независимо выбран из H, C_{1-4} алкила, C_{3-6} циклоалкила, C_{1-4} фторалкила и C_{1-4} алкилокси;

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;

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

или его фармацевтически приемлемую соль.

[0017] В некоторых вариантах осуществления опухоль головного мозга или нейробластома дополнительно характеризуются фенотипом, дефектным в отношении изоцитратдегидрогеназы 1 или 2 (IDH1 или IDH2) (например, она классифицируется как IDH1- и/или IDH2-мутантная). В других вариантах осуществления опухоль головного мозга или нейробластома не предусматривают IDH1- или IDH2-фенотип (например, они классифицируются как характеризующиеся IDH1 дикого типа и/или IDH1 дикого типа).

[0018] В некоторых вариантах осуществления опухоль головного мозга или нейробластома характеризуются метилированием промотора Об-метилгуанин-ДНК-метилтрансферазы (MGMT).

[0019] В некоторых вариантах осуществления способ предусматривает перед введением ингибитора PARP дополнительную стадию диагностики пациента на предмет наличия опухоли головного мозга или нейробластомы, характеризующихся дефектным в отношении ATRX фенотипом. В других вариантах осуществления у пациента, подвергаемого лечению, ранее были диагностированы опухоль головного мозга или нейробластома, характеризующиеся дефектным в отношении ATRX фенотипом. Способы диагностики пациента описаны в данном документе и могут, например, включать проведение анализа клеток, полученных из опухоли головного мозга или нейробластомы или из спинномозговой жидкости (CSF) пациента.

[0020] Заявитель также продемонстрировал, что ингибиторы PARP, раскрытые в данном документе, проявляют синергетическую противоопухолевую активность при применении в комбинации с алкилирующими химиотерапевтическими средствами, в том числе темозоломидом (TMZ) и VAL-083, и/или с ионизирующим излучением.

[0021] Таким образом, в некоторых вариантах осуществления ингибитор PARP вводят пациенту в комбинации с

- i) алкилирующим химиотерапевтическим средством и/или
- ii) радиотерапевтическим средством.

[0022] Во втором аспекте заявитель представляет способ лечения опухоли головного мозга или нейроblastомы у нуждающегося в этом пациента, при этом способ включает введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора поли(ADP-рибоза)полимеразы (PARP) и

- i) алкилирующего химиотерапевтического средства и/или
- ii) радиотерапевтического средства, применяемого в дозе, составляющей 10 Гр или выше,

где ингибитор PARP представляет собой соединение формулы I, как определено в первом аспекте.

[0023] В некоторых вариантах осуществления опухоль головного мозга или нейроblastома характеризуются

- (i) фенотипом, дефектным в отношении синдрома сцепленной с X-хромосомой альфа-талассемии с умственной отсталостью (ATRX);
- (ii) фенотипом, дефектным в отношении изоцитратдегидрогеназы 1 или 2 (IDH1 или IDH2), и/или
- (iii) метилированием промотора O⁶-метилгуанин-ДНК-метилтрансферазы (MGMT).

[0024] В некоторых вариантах осуществления алкилирующее химиотерапевтическое средство представляет собой темозоломид (TMZ) или диангидрогалактитол (VAL-083).

[0025] Как описано в настоящем документе, было продемонстрировано, что комбинация ингибитора PARP по настоящему изобретению и TMZ обеспечивает преимущество в отношении противоопухолевого действия без необходимости высоких доз TMZ. Это является преимуществом, поскольку предполагается, что комбинированная терапия, включающая ингибитор PARP, может быть применена для лечения опухолей головного мозга и нейроblastом при сниженных дозах алкилирующего химиотерапевтического средства, что может с успехом обеспечить эффективное лечение рака со снижением токсических побочных эффектов, ассоциированных с химиотерапией. Подобным образом было продемонстрировано, что применение ингибитора PARP по настоящему изобретению обеспечивает эффективное лечение глиом в комбинации со сниженной клинически значимой дозой ионизирующего излучения, что позволяет предположить, что эффективное лечение рака может быть достигнуто со снижением токсических побочных эффектов, ассоциированных с лучевой терапией.

[0026] Таким образом, в некоторых вариантах осуществления TMZ вводят

(i) в дозе, составляющей менее приблизительно 200 мг/м^2 , в дозе, составляющей менее приблизительно 150 мг/м^2 , менее приблизительно 125 мг/м^2 или менее приблизительно 100 мг/м^2 ;

(ii) в дозе, составляющей от приблизительно 50 до 200 мг/м^2 , в дозе, составляющей от приблизительно 75 до 150 мг/м^2 , или в дозе, составляющей от приблизительно 75 мг/м^2 до 125 мг/м^2 .

[0027] В некоторых вариантах осуществления VAL-083 вводят

(i) в дозе, составляющей менее приблизительно 50 мг/м^2 , в дозе, составляющей менее приблизительно 40 мг/м^2 , менее приблизительно 30 мг/м^2 или менее приблизительно 20 мг/м^2 ;

(ii) в дозе, составляющей от приблизительно 10 до 50 мг/м^2 , в дозе, составляющей от приблизительно 10 до 40 мг/м^2 , или в дозе, составляющей от приблизительно 10 мг/м^2 до 30 мг/м^2 .

[0028] Как более подробно описано в данном документе, перечисленные дозы TMZ и VAL-083 представляют собой, как правило, суточные дозы.

[0029] В некоторых вариантах осуществления радиотерапевтическое средство применяют

(i) в дозе, составляющей менее приблизительно 60 Гр, менее приблизительно 55 Гр, менее приблизительно 50 Гр, менее приблизительно 45 Гр или менее приблизительно 40 Гр, или

(ii) в дозе, составляющей от приблизительно 20 Гр до приблизительно 60 Гр, от приблизительно 20 Гр до приблизительно 55 Гр, от приблизительно 20 Гр до приблизительно 50 Гр, от приблизительно 20 Гр до приблизительно 45 Гр или от приблизительно 20 Гр до приблизительно 40 Гр, от приблизительно 30 Гр до приблизительно 60 Гр, от приблизительно 30 Гр до приблизительно 55 Гр, от приблизительно 30 Гр до приблизительно 50 Гр, от приблизительно 30 Гр до приблизительно 45 Гр, от приблизительно 30 Гр до приблизительно 40 Гр.

[0030] Как более подробно описано в данном документе, ионизирующее излучение применяют, как правило, в виде фракционной лучевой терапии.

[0031] В некоторых вариантах осуществления опухоль головного мозга представляет собой глиому или эпендимому. В некоторых вариантах осуществления опухоль головного мозга представляет собой глиому. Глиома может представлять собой глиому у взрослых или глиому у детей и может быть глиомой высокой степени злокачественности или глиомой низкой степени злокачественности. В некоторых вариантах осуществления глиома представляет собой глиому у детей. В некоторых

вариантах осуществления глиома представляет собой глиому высокой степени злокачественности, такую как глиома, выбранная из перечня, состоящего из олигодендроглиомы, анапластической астроцитомы, глиобластомы и диффузной срединной глиомы. В некоторых вариантах осуществления глиома представляет собой глиобластому.

[0032] Как дополнительно продемонстрировано в данном документе, ингибитор PARP по настоящему изобретению в комбинации с ионизирующим излучением показал лечебное действие в отношении модели клеточной линии H3K27M-мутантной диффузной срединной глиомы. H3K27M-мутантные диффузные срединные глиомы представляют собой опухоли головного мозга высокой степени злокачественности у детей, ассоциированные с неблагоприятным прогнозом, и их лечение с помощью существующих в настоящее время терапевтических стратегий представляет сложность. Данные, продемонстрированные в данном документе, подтверждают потенциал применения ингибиторов PARP по настоящему изобретению в способах лечения этих трудноизлечимых глиом.

[0033] Таким образом, в некоторых вариантах осуществления глиома представляет собой H3K27M-мутантную глиому.

[0034] Также представлен ингибитор PARP для применения в способе лечения опухоли головного мозга или нейробластомы у пациента, при этом способ включает введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора PARP, где опухоль головного мозга или нейробластома характеризуются фенотипом, дефектным в отношении синдрома сцепленной с X-хромосомой альфа-талассемии с умственной отсталостью (ATRX), и где ингибитор PARP представляет собой соединение формулы I, как определено в первом аспекте.

[0035] Также представлен ингибитор PARP для применения в способе лечения опухоли головного мозга или нейробластомы у пациента, при этом способ включает введение (например, отдельное, последовательное или одновременное) пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора PARP и

i) алкилирующего химиотерапевтического средства и/или

ii) ионизирующего излучения, применяемого в дозе, составляющей 10 Гр или выше,

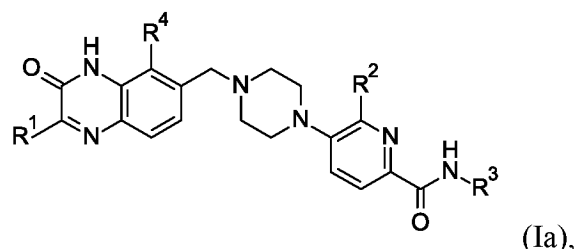
где

[0036] ингибитор PARP представляет собой соединение формулы I, как определено в первом аспекте.

[0037] Также представлено алкилирующее химиотерапевтическое средство для применения в способе лечения опухоли головного мозга или нейробластомы у пациента,

при этом способ включает введение (например, отдельное, последовательное или одновременное) субъекту алкилирующего химиотерапевтического средства и терапевтически эффективного количества ингибитора PARP, где ингибитор PARP представляет собой соединение формулы I, как определено в первом аспекте.

[0038] В одном аспекте приведенных выше вариантов осуществления соединение формулы (I) представляет собой соединение формулы (Ia):



где

R¹ независимо выбран из H, C₁₋₄алкила, C₁₋₄фторалкила и C₁₋₄алкилокси;

R² независимо выбран из H, галогена, C₁₋₄алкила и C₁₋₄фторалкила, и

R³ представляет собой H или C₁₋₄алкил;

R⁴ представляет собой галоген или C₁₋₄алкил,

или его фармацевтически приемлемую соль.

[0039] В одном аспекте приведенных выше вариантов осуществления R¹ формулы (I) или формулы (Ia) выбран из любого из метила, этила, изопропила, циклопропила, 1,1-дифторэтила, 1-фторэтила, трифторметила, дифторметила и метокси. В конкретном аспекте R¹ представляет собой метил или этил.

[0040] В одном аспекте приведенных выше вариантов осуществления R² формулы (I) или формулы (Ia) выбран из любого из H, хлора, фтора, метила и дифторметила. В одном аспекте R² представляет собой фтор или метил.

[0041] В одном аспекте приведенных выше вариантов осуществления R³ формулы (I) или формулы (Ia) представляет собой метил или этил.

[0042] В одном аспекте приведенных выше вариантов осуществления R⁴ формулы (I) или формулы (Ia) выбран из любого из хлора, фтора и метила. В конкретном аспекте R⁴ представляет собой фтор.

[0043] В одном аспекте приведенных выше вариантов осуществления предусмотрены соединения формулы (I) или формулы (Ia), где R¹ представляет собой C₁₋₄алкил, R² представляет собой галоген, R³ представляет собой C₁₋₄алкил, R⁴ представляет собой галоген или C₁₋₄алкил, или его фармацевтически приемлемая соль.

[0044] В дополнительном аспекте предусмотрено соединение формулы (I) или формулы (Ia) в форме свободного основания.

[0045] В одном аспекте предусмотрены соединение формулы (I), которое представляет собой 5-[4-[(2-этил-5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамид, или его фармацевтически приемлемая соль.

[0046] В одном аспекте предусмотрены соединение формулы (I), которое представляет собой 6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид, или его фармацевтически приемлемая соль.

[0047] В одном аспекте предусмотрены соединение формулы (I), которое представляет собой кристаллическую форму В 6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид, или его фармацевтически приемлемая соль.

[0048] В одном аспекте предусмотрены соединение формулы (I), которое представляет собой кристаллическую форму D 6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид, или его фармацевтически приемлемая соль.

[0049] В одном аспекте предусмотрено соединение формулы (I), которое представляет собой мезилат 6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид, необязательно в виде кристаллической формы С.

[0050] Дополнительные аспекты будут очевидны для специалиста в данной области техники после прочтения данного описания.

[0051] Хорошо известно, что блокирование сердечного ионного канала, кодируемого геном человека, родственным гену ether-à-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) характеризуются низкой активностью в отношении hERG, что обеспечивает их преимущество. В одном аспекте соединение формулы (I) характеризуется значением IC₅₀, составляющим более 10 мкМ. В другом аспекте соединение формулы I характеризуется значением IC₅₀, составляющим более 20 мкМ.

[0052] Для минимизации рисков проявления нецелевых эффектов необходимо, чтобы молекулы лекарственного средства обладали селективностью в отношении конкретной мишени. Соединения формулы I характеризуются 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) характеризуются более высокой селективностью в отношении

PARP1 по сравнению с PARP2, что обеспечивает их преимущество. В одном аспекте соединение формулы (I) характеризуется селективностью в отношении PARP1, в 10 раз превышающей селективность в отношении PARP2. В другом аспекте соединение формулы (I) характеризуется селективностью в отношении PARP1, в 100 раз превышающей селективность в отношении PARP2.

[0053] В одном аспекте пациент является гетерозиготным по одной или нескольким вариациям, таким как мутации и полиморфизмы, в BRCA1 и/или BRCA2 или их регуляторе. Выявление вариации в BRCA1 и BRCA2 является хорошо известным из уровня техники и описано, например, в EP 699754, EP 705903, Neuhausen and Ostrander 1997; Chappnis and Foulkes 2002; Janatova et al., 2003; Jancarkova 2003. Определение амплификации гена, кодирующего BRCA2-связывающий фактор EMSY, описано в Hughes-Davies, et al. (Hughes-Davies, et al 2003).

[0054] Мутации и полиморфизмы, ассоциированные с раком, могут быть выявлены на уровне нуклеиновой кислоты посредством выявления наличия вариантной последовательности нуклеиновой кислоты или на уровне белка посредством выявления наличия вариантного (т. е. мутантного или аллельного варианта) полипептида.

Определения

[0055] Алкильные группы и фрагменты представляют собой линейную или разветвленную цепь, например, C₁₋₈алкил, C₁₋₆алкил, C₁₋₄алкил или C₅₋₆алкил. Примеры алкильных групп представляют собой метил, этил, n-пропил, изопропил, n-бутил, трет-бутил, n-пентил, n-гексил, n-гептил и n-октил, например, метил или n-гексил.

[0056] Циклоалкильные группы представляют собой насыщенные циклические алкильные группы. C₃₋₆циклоалкил представляет собой насыщенную циклическую алкильную группу, содержащую от 3 до 6 атомов углерода. Примеры C₃₋₆циклоалкила включают циклопропил, циклобутил, циклопентил и циклогексил. C₃₋₆циклоалкил предусматривает C₃₋₅циклоалкил и C₃₋₄циклоалкил.

[0057] Фторалкильные группы представляют собой алкильные группы, в которых один или несколько атомов Н 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-), 1-фторэтил (CH₃CHF-) и 2-фторэтил (CH₂FCH₂-).

[0058] Галоген означает фтор, хлор, бром и йод. В одном аспекте галоген представляет собой фтор или хлор.

[0059] Алкилоксигруппы представляют собой алкильные группы, которые присоединены к остальной части молекулы посредством атома кислорода. Примеры подходящих C₁-алкилоксигрупп включают метокси, этокси, n-пропокси, изопропокси, n-бутокси, втор-бутокси и трет-бутокси.

[0060] В настоящем описании, если не указано иное, используемый в данном документе термин “фармацевтически приемлемый” относится к таким соединениям, материалам, композициям и/или лекарственным формам, которые по результатам тщательной медицинской оценки являются подходящими для применения в контакте с тканями людей и животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции или другой проблемы или осложнения в соответствии с разумным соотношением польза/риск.

[0061] 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, обеспечивает положительный клинический ответ). Эффективное количество активного ингредиента для применения в фармацевтической композиции будет варьироваться в зависимости от конкретного состояния, подлежащего лечению, тяжести состояния, продолжительности лечения, характера сопутствующей терапии, применяемого(применяемых) конкретного(конкретных) активного(активных) ингредиента(ингредиентов), применяемого(применяемых) конкретного(конкретных) фармацевтически приемлемого(приемлемых) вспомогательного(вспомогательных) вещества(веществ)/носителя(носителей) и подобных факторов, находящихся в пределах знаний и опыта лечащего врача.

[0062] Используемый в данном документе термин “осуществление лечения”, если не указано иное, означает обращение вспять, облегчение, подавление течения, задержку прогрессирования, задержку начала или предупреждение нарушения или состояния, по отношению к которому применяется такой термин, или одного или нескольких симптомов такого нарушения или состояния. Используемый в данном документе термин “лечение”, если не указано иное, относится к процессу осуществления лечения, при этом определение термина “осуществление лечения” приведено непосредственно выше. Термин “осуществление лечения” также предусматривает лечение субъекта с применением адьюванта и неоадьюванта. 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 при таком лечении.

[0063] Соединения формулы (I) или формулы (Ia) могут образовывать стабильные фармацевтически приемлемые соли 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, fumarat, глутамат, гликолят, гемисульфат, 2-гидроксиэтилсульфонат, гептаноат, гексаноат, гидрохлорид, гидробромид, гидройодид, гидроксималеат, лактат, малат, малеат, метансульфонат (мезилат), меглумин, 2-нафталинсульфонат, нитрат, оксалат, памоат, персульфат, фенилацетат, фосфат, дифосфат, пикрат, пивалат, пропионат, хинат, салицилат, стеарат, сукцинат, сульфамат, сульфанилат, сульфат, тартрат, тозилат (п-толуолсульфонат), трифторацетат и ундеканат. Предпочтительными являются нетоксичные физиологически приемлемые соли, хотя другие соли также могут быть пригодными, например, при выделении или очистке продукта.

[0064] 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 посредством лиофилизации, или посредством обмена анионов имеющейся соли на другой анион в подходящей ионообменной смоле.

[0065] Соединения формулы (I) или формулы (Ia) могут содержать более чем один хиральный центр, и следует понимать, что настоящая заявка охватывает все отдельные стереоизомеры, энантиомеры и диастереоизомеры, а также их смеси. Таким образом, следует понимать, что, поскольку соединения формулы I могут существовать в оптически активных или рацемических формах благодаря одному или нескольким асимметрическим атомам углерода, настоящая заявка включает в своем определении любую такую оптически активную или рацемическую форму, которая обладает упомянутой выше активностью. Настоящая заявка охватывает все такие стереоизомеры, обладающие активностью, определенной в данном документе.

[0066] Таким образом, по всему тексту настоящего описания, где упоминается соединение формулы (I) или формулы (Ia), следует понимать, что термин “соединение” включает диастереоизомеры, смеси диастереоизомеров и энантиомеры, которые являются ингибиторами PARP1.

[0067] Также следует понимать, что определенные соединения формулы (I) или формулы (Ia) 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 предусматривает как сольватированные (например, гидратированные) формы свободной формы соединения, так и сольватированные (например, гидратированные) формы соли соединения.

[0068] Предполагается, что формула (I) или формула (Ia), описанные в данном документе, охватывают все изотопы составляющих их атомов. Например, H (или водород) предусматривает любую изотопную форму водорода, в том числе ^1H , ^2H (D) и ^3H (T); C предусматривает любую изотопную форму углерода, в том числе ^{12}C , ^{13}C и ^{14}C ; O предусматривает любую изотопную форму кислорода, в том числе ^{16}O , ^{17}O и ^{18}O ; N предусматривает любую изотопную форму азота, в том числе ^{13}N , ^{14}N и ^{15}N ; F предусматривает любую изотопную форму фтора, в том числе ^{19}F и ^{18}F , и т. д. В одном аспекте соединения формулы I содержат изотопы атомов, предусмотренные в данном документе, в количествах, соответствующих их содержанию в природе. Однако, в определенных случаях может быть необходимо обогащать один или несколько атомов в конкретном изотопе, который обычно присутствует 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, является обогащенным радиоактивным изотопом, например, ^3H и ^{14}C , то соединение может быть пригодным в анализах распределения лекарственного средства и/или субстрата в тканях. Следует понимать, что настоящая заявка охватывает все такие изотопные формы.

[0069] Соединения формулы (I) или формулы (Ia) 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 лекарственной форме. В зависимости от нарушения и пациента, подлежащих лечению, композиции могут быть введены при различных дозах.

[0070] Фармацевтические составы на основе соединения формулы (I) или формулы (Ia), 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, 2011).

[0071] Фармацевтические составы на основе соединения формулы (I) или формулы (Ia), описанного выше, в целях удобства могут быть введены в стандартной лекарственной форме, и они могут быть получены посредством любого из способов, хорошо известных в области фармацевтики, например, как описано в Remington's Pharmaceutical Sciences, 17-ое издание, Mack Publishing Company, Easton, PA. (1985).

[0072] 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 лекарственной формы. Твердые лекарственные формы для перорального введения предусматривают таблетки, двустворчатые капсулы с твердой оболочкой и мягкие эластичные желатиновые (SEG) капсулы. Такие двустворчатые капсулы с твердой оболочкой можно получать, например, посредством заполнения соединением формулы (I) желатиновой или гидроксипропилметилцеллюлозной (HPMC) оболочки.

[0073] Состав сухой оболочки, как правило, содержит желатин в концентрации от приблизительно 40% до 60% вес/вес, смягчитель 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 наполнения жидкостью содержит твердое лекарственное средство, которое было растворено, солюбилизировано 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.

[0074] Подходящие суточные дозы соединений формулы (I) или формулы (Ia) или их фармацевтически приемлемой соли при осуществлении терапевтического лечения людей составляют приблизительно 0,0001-100 мг/кг веса тела.

[0075] 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 мг до 1000 мг.

Молекулярные маркеры

[0076] Опухоли головного мозга, такие как глиомы и нейробластомы, могут быть охарактеризованы на основании их генетической и молекулярной классификации.

[0077] В некоторых вариантах осуществления опухоль головного мозга или нейробластома характеризуются фенотипом, дефектным в отношении синдрома сцепленной с X-хромосомой альфа-талассемии с умственной отсталостью (ATRX).

[0078] Ген ATRX у людей охватывает почти 300 т. п. н. полосы q21.1 длинного плеча X-хромосомы. Данный ген, содержащий 36 экзонов, кодирует белок из 2492 аминокислот с молекулярным весом, составляющим 282586 кДа, хотя были идентифицированы подвергнутые альтернативному сплайсингу варианты транскрипта. Ген ATRX человека в базе данных NCBI Entrez Gene представлен как ген с ID 546. Данный белок содержит АТФазный/геликазный домен и домен, называемый ADD (ATRX-DNMT3-DNMT3L, ADDATRX), который связывается с гистоном H3. Аминокислотная последовательность наиболее длинной изоформы ATRX человека представлена в виде эталонной последовательности NCBI: NP_000480.3.

[0079] Сообщалось, что инактивирующие мутации в гене ATRX в глиоме распределяются равномерно по всему гену и встречаются в 7% глиобластом (GBM) у взрослых и в 14-31% GBM у детей (Jiao et al. 2012). Сообщалось, что утрата функции ATRX способствует росту опухоли и нарушает репарацию ДНК путем негомологичного соединения концов в глиоме (Koschmann et al. 2017).

[0080] При использовании в данном документе термин “опухоль головного мозга или нейробластома, характеризующиеся фенотипом, дефектным в отношении ATRX” означает, что в раковых клетках активность ATRX снижена или устранена. Активность ATRX, как правило, удаляется или устраняется посредством мутации в гене ATRX. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления опухоль головного мозга или нейробластома, характеризующиеся фенотипом, дефектным в отношении ATRX, содержат раковые клетки с мутацией в гене ATRX. Такие мутации в раковых клетках, как правило, являются гетерозиготными, при этом раковые клетки содержат одну мутантную копию гена ATRX и одну копию дикого типа.

[0081] В некоторых вариантах осуществления опухоль головного мозга или нейробластома характеризуются фенотипом, дефектным в отношении

изоцитратдегидрогеназы (IDH) 1 и/или 2. В некоторых вариантах осуществления опухоль головного мозга или нейроblastома характеризуются фенотипом, дефектным в отношении IDH1. В некоторых вариантах осуществления опухоль головного мозга или нейроblastома характеризуются фенотипом, дефектным в отношении IDH2. В некоторых вариантах осуществления опухоль головного мозга или нейроblastома характеризуются фенотипом, дефектным в отношении IDH1 и IDH2. В некоторых вариантах осуществления опухоль головного мозга или нейроblastома не предусматривают фенотип, дефектный в отношении IDH1 (т. е. характеризуются IDH1 дикого типа). В некоторых вариантах осуществления опухоль головного мозга или нейроblastома не предусматривают фенотип, дефектный в отношении IDH2 (т. е. характеризуются IDH2 дикого типа). В некоторых вариантах осуществления опухоль головного мозга или нейроblastома не предусматривают фенотип, дефектный в отношении IDH1 или IDH2 (т. е. характеризуются IDH1 и IDH2 дикого типа).

[0082] Мутации в IDH1 и IDH2 преобладают в злокачественных новообразованиях человека. Мутации IDH1 и IDH2 определяют в более чем 80% случаев глиомы II/III степени по классификации Всемирной организации здравоохранения (WHO). Мутации IDH1 и IDH2, которые ассоциированы с раком, имеют тенденцию к локализации в остатке аргинина, который имеет решающее значение для распознавания изоцитрата и каталитической активности ферментов (R132 для IDH1, R140 или R172 для IDH2). Снижение или устранение каталитической активности этих ферментов влияет на способность клеток противодействовать активным формам кислорода (Cohen et al. 2013). Ген IDH1 человека в базе данных NCBI Entrez Gene представлен как ген с ID 3417, а ген IDH2 человека в базе данных NCBI Entrez Gene представлен как ген с ID 3418. Аминокислотная последовательность IDH1 человека представлена в виде эталонной последовательности NCBI: NP_001269315.1, а аминокислотная последовательность IDH2 человека представлена в виде эталонной последовательности NCBI: NP_001276839.1.

[0083] При использовании в данном документе термин “опухоль головного мозга или нейроblastома, характеризующиеся фенотипом, дефектным в отношении IDH1 и/или IDH2” означает, что в раковых клетках активность IDH1 и/или IDH2 снижена или устранена. Активность IDH1 или IDH2, как правило, прекращается или устраняется посредством мутации в гене IDH1 или IDH2 соответственно. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления опухоль головного мозга или нейроblastома, характеризующиеся фенотипом, дефектным в отношении IDH1 и/или IDH2, содержат раковые клетки с мутацией в генах IDH1 и/или IDH2. Такие мутации в раковых клетках, как правило, являются гетерозиготными, при этом раковые клетки содержат одну

мутантную копию гена IDH1 и одну копию дикого типа. Мутация в гене IDH1 может представлять собой несинонимичную мутацию в нуклеотиде, кодирующем аминокислотный остаток R132 в IDH1, в то время как мутация в гене IDH2 может представлять собой несинонимичную мутацию в нуклеотиде, кодирующем аминокислотный остаток R140 или R174 в IDH2.

[0084] В некоторых вариантах осуществления опухоль головного мозга или нейробластома характеризуются метилированием промотора O⁶-метилгуанин-ДНК-метилтрансферазы (MGMT).

[0085] Ген MGMT у людей расположен на хромосоме 10q26.3 и кодирует эволюционно высококонсервативный и повсеместно экспрессируемый фермент, участвующий в репарации ДНК. Метилирование промотора гена MGMT индуцирует снижение уровней белка MGMT, и его наблюдали в примерно 50% GBM.

[0086] В некоторых вариантах осуществления способ предусматривает дополнительную стадию диагностики пациента на предмет наличия опухоли головного мозга или нейробластомы, характеризующихся одним или несколькими из вышеописанных молекулярных маркеров (мутация ATRX, мутации IDH и метилирование MGMT). Для установления геномной характеристики этих опухолей и постановки диагноза могут быть применены различные способы. Например, стадия постановки диагноза может включать хирургическое выделение клеток из опухоли и проведение анализа клеток, полученных из опухоли головного мозга или нейробластомы (т. е. биопсию опухоли) пациента. В качестве альтернативы могут быть применены неинвазивные способы. Например, сообщалось о получении бесклеточной циркулирующей опухолевой ДНК из спинномозговой жидкости (CSF) пациентов с опухолями головного мозга и проведении анализа образцов CSF (Martínez-Ricarte et al. 2018).

[0087] Образец, полученный от пациента (например, клетки опухоли и/или образец CSF), может быть оценен на наличие мутации ATRX, мутации IDH1 и/или IDH2 с применением любых способов, известных специалисту в данной области техники. В качестве неограничивающего примера такие способы включают магнитный резонанс, химические анализы (например, высокоэффективную жидкостную хроматографию (HPLC)), секвенирование и ПЦР.

[0088] Для оценки метилирования промотора гена MGMT известны и доступны различные анализы. Подходящие анализы включают анализы, описанные в Mansouri et al. 2019, и включают, например, специфичную в отношении метилирования ПЦР, пиросеквенирование, количественную ПЦР в режиме реального времени с плавлением

высокого разрешения, специфичную в отношении метилирования мультиплексную амплификацию лигированных зондов и иммуногистохимический анализ.

[0089] Также можно охарактеризовать опухоль головного мозга или нейробластому на основании уровня нестабильности генома. Исследования показали, что передача сигналов контрольной точки повреждения ДНК является aberrантно и конститутивно активной в глиомах, что может быть измерено с применением маркеров продолжающегося репликативного стресса ДНК, таких как γ H2AX, фосфорилирование Chk2, Chk1 и Rad17 (Bartkova et al. 2010). В некоторых вариантах осуществления опухоль головного мозга или нейробластома характеризуются высоким уровнем нестабильности генома, что может быть продемонстрировано в том числе высокими (например, более высокими, чем в неопухолевых клетках) уровнями γ H2AX, фосфорилированием Chk2, Chk1 и Rad17.

Терапевтическое применение

[0090] Используемый в данном документе термин “осуществление лечения”, если не указано иное, означает обращение вспять, облегчение, подавление течения, задержку прогрессирования, задержку начала или предупреждение нарушения или состояния, по отношению к которому применяется такой термин, или одного или нескольких симптомов такого нарушения или состояния. Используемый в данном документе термин “лечение”, если не указано иное, относится к процессу осуществления лечения, при этом определение термина “осуществление лечения” приведено непосредственно выше. Термин “осуществление лечения” также предусматривает лечение субъекта (пациента) с применением адъюванта и неоадъюванта. 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 при таком лечении.

[0091] 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, обеспечивает положительный клинический ответ). Эффективное количество активного ингредиента для применения в фармацевтической композиции будет варьироваться в зависимости от конкретного состояния, подлежащего лечению, тяжести состояния, продолжительности лечения, характера сопутствующей терапии, применяемого(применяемых) конкретного(конкретных) активного(активных) ингредиента(ингредиентов), применяемого(применяемых) конкретного(конкретных) фармацевтически

приемлемого(приемлемых) вспомогательного(вспомогательных) вещества(веществ)/носителя(носителей) и подобных факторов, находящихся в пределах знаний и опыта лечащего врача.

[0092] Ингибиторы PARP по настоящему изобретению могут быть составлены в виде фармацевтических композиций для клинического применения и могут содержать фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель или адъювант. Композиция может быть составлена для местного, парентерального, внутривенного, внутримышечного, интратекального, внутриглазного, подкожного, перорального, ингаляционного или трансдермального путей введения, которые могут включать инъекцию. Инъекционные составы могут содержать выбранное соединение в стерильной или изотонической среде.

[0093] Ингибиторы PARP по настоящему изобретению 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 лекарственной форме. В зависимости от нарушения и пациента, подлежащих лечению, композиции могут быть введены при различных дозах.

[0094] Фармацевтические составы на основе ингибиторов PARP, описанные в данном документе, 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, 2011).

[0095] Подходящие суточные дозы ингибиторов PARP, описанных в данном документе, при осуществлении терапевтического лечения людей составляют приблизительно 0,0001-100 мг/кг веса тела.

[0096] Составы для перорального введения являются предпочтительными, 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 мг до 1000 мг. В некоторых вариантах осуществления количество ингибитора PARP, вводимого пациенту, составляет от 10 мг/сутки до 500 мг/сутки, от 20 мг/сутки до 500 мг/сутки или от 40 мг/сутки до 500 мг/сутки, или от 10 мг/сутки до 400 мг/сутки, от 20 мг/сутки до 400 мг/сутки или от 40 мг/сутки до 400 мг/сутки.

Комбинации

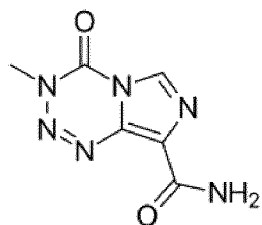
[0097] В некоторых вариантах осуществления способы включают введение ингибитора PARP в комбинации с алкилирующим химиотерапевтическим средством и/или ионизирующим излучением. Такое комбинированное лечение может включать

раздельное, последовательное или одновременное введение ингибитора PARP и алкилирующего химиотерапевтического средства и/или ионизирующего излучения.

[0098] Также представлен фармацевтический продукт, содержащий i) ингибитор PARP, определенный в данном документе, и ii) алкилирующее химиотерапевтическое средство. Ингибитор PARP и алкилирующее химиотерапевтическое средство, как правило, присутствуют в отдельных лекарственных формах.

[0099] Алкилирующее химиотерапевтическое средство может представлять собой темозоломид (TMZ).

[0100] TMZ представляет собой стандартное средство лечения (SOC) при химиотерапии GBM (Stupp et al., 2014; Stupp et al., 2010). Лечение может включать введение доз, составляющих 150-200 мг/м²/сутки, в течение 5 дней каждый 28-дневный цикл. Темозоломид характеризуется структурой:



[0101] Таким образом, в некоторых вариантах осуществления способ может включать введение терапевтически эффективного количества ингибитора PARP, описанного в данном документе (например, от 10 мг/сутки до 500 мг/сутки), и введение TMZ в дозе 150-200 мг/м²/сутки. Данное лечение может проходить 28-дневным циклом, где TMZ вводят ежедневно первые 5 дней и затем прекращают введение на оставшиеся дни цикла. Ингибитор PARP можно вводить каждый день 28-дневного цикла или вводить только тогда, когда вводят TMZ (например, только во время первых 5 дней 28-дневного цикла).

[0102] Данные, представленные в данном документе, также демонстрируют, что ингибитор PARP, описанный в данном документе, может обеспечивать преимущество в отношении противоопухолевого действия в моделях *in vitro* и *in vivo* при относительно низких дозах TMZ. Без ограничения какой-либо теорией, предполагается, что ингибиторы PARP, описанные в данном документе, могут обеспечить достижение клинической пользы (например, уменьшение размеров опухоли) при более низкой дозе TMZ (например, более низкой, чем SOC-доза TMZ для лечения рассматриваемого заболевания).

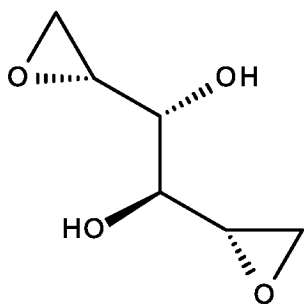
Таким образом, в некоторых вариантах осуществления TMZ вводят в дозе (например, суточной), составляющей менее приблизительно 200 мг/м², менее приблизительно 175 мг/м², менее приблизительно 150 мг/м², менее приблизительно 125 мг/м², менее

приблизительно 100 мг/м², менее приблизительно 75 мг/м² или менее приблизительно 50 мг/м².

[0103] В некоторых вариантах осуществления TMZ вводят в дозе (например, суточной), составляющей от приблизительно 50 до 200 мг/м², от приблизительно 50 до 175 мг/м², от приблизительно 50 до 150 мг/м², от приблизительно 50 до 125 мг/м², от приблизительно 50 до 100 мг/м², от приблизительно 50 до 75 мг/м², от приблизительно 75 до 200 мг/м², от приблизительно 75 до 175 мг/м², от приблизительно 75 до 150 мг/м², от приблизительно 75 до 125 мг/м², от приблизительно 75 до 100 мг/м², от приблизительно 100 до 200 мг/м², от приблизительно 125 до 175 мг/м² или от приблизительно 125 до 150 мг/м².

[0104] Алкилирующее химиотерапевтическое средство может представлять собой диангидрогалактитол (VAL-083). VAL-083 представляет собой алкилирующее средство, проникающее через гематоэнцефалический барьер, которое индуцирует межнитевые поперечные сшивки ДНК и приводит к двухнитевым разрывам ДНК (Jimenez-Alcazar et al., 2021).

[0105] VAL-083 был утвержден в качестве орфанного лекарственного средства для лечения GBM, которая прогрессировала на фоне предыдущей схемы лечения с помощью TMZ. В настоящее время VAL-083 проходит клинические испытания с участием пациентов как с MGMT-метилованной, так и с неметилованной GBM (NCT03050736, NCT02717962 и NCT03138629) и характеризуется структурой:



[0106] VAL-083 в дозе 30 мг/м² в день в комбинации с лучевой терапией был описан как в целом безопасный и хорошо переносимый. VAL-083 вводили в дни 1, 2 и 3 каждый 21 день.

[0107] Таким образом, в некоторых вариантах осуществления способ может включать введение терапевтически эффективного количества ингибитора PARP, описанного в данном документе (например, от 10 мг/сутки до 500 мг/сутки), и введение VAL-083 в дозе 10-50 мг/м²/сутки (например, 30 мг/м²/сутки). Данное лечение может проходить 21-дневным циклом, где VAL-083 вводят ежедневно первые 3 дня и затем

прекращают введение на оставшиеся дни цикла. Ингибитор PARP можно вводить каждый день 21-дневного цикла или вводить только тогда, когда вводят VAL-083 (например, только во время первых 3 дней 21-дневного цикла).

[0108] В некоторых вариантах осуществления VAL-083 вводят в дозе (например, суточной), составляющей менее приблизительно 50 мг/м², менее приблизительно 40 мг/м², менее приблизительно 30 мг/м² или менее приблизительно 20 мг/м².

[0109] В некоторых вариантах осуществления VAL-083 вводят в дозе (например, суточной), составляющей от приблизительно 10 до 50 мг/м², от приблизительно 10 до 40 мг/м² или от приблизительно 10 мг/м² до 30 мг/м².

[0110] В некоторых вариантах осуществления ингибитор PARP, описанный в данном документе, можно вводить в комбинации с ионизирующим излучением (например, для лечения НЗК27М-мутантной глиомы). Ионизирующее излучение можно применять в дополнение к алкилирующему химиотерапевтическому средству или вместо него.

[0111] В определенных вариантах осуществления доза ионизирующего излучения составляет приблизительно 10 Гр, приблизительно 15 Гр, приблизительно 20 Гр, приблизительно 25 Гр, приблизительно 30 Гр, приблизительно 35 Гр, приблизительно 40 Гр, приблизительно 45 Гр, приблизительно 50 Гр, приблизительно 55 Гр, приблизительно 60 Гр, приблизительно 65 Гр, приблизительно 70 Гр, приблизительно 75 Гр, приблизительно 80 Гр, приблизительно 90 Гр или приблизительно 100 Гр. В некоторых вариантах осуществления доза ионизирующего излучения составляет менее приблизительно 100 Гр, менее приблизительно 90 Гр, менее приблизительно 80 Гр, менее приблизительно 70 Гр, менее приблизительно 60 Гр, менее приблизительно 50 Гр, менее приблизительно 45 Гр, менее приблизительно 40 Гр, менее приблизительно 35 Гр, менее приблизительно 30 Гр, менее приблизительно 25 Гр, менее приблизительно 20 Гр. В определенных вариантах осуществления доза при лучевой терапии составляет 10 Гр или выше, более приблизительно 15 Гр, более приблизительно 20 Гр, более приблизительно 25 Гр, более приблизительно 30 Гр, более приблизительно 35 Гр, более приблизительно 40 Гр, более приблизительно 45 Гр, более приблизительно 50 Гр. В некоторых вариантах осуществления доза при лучевой терапии составляет от приблизительно 10 Гр до приблизительно 100 Гр. В некоторых вариантах осуществления доза при лучевой терапии составляет от приблизительно 20 Гр до приблизительно 80 Гр. В некоторых вариантах осуществления доза при лучевой терапии составляет от приблизительно 20 Гр до приблизительно 60 Гр.

[0112] Дозу ионизирующего излучения можно применять в виде фракционной лучевой терапии (т. е. часть общей дозы применяют ежедневно на протяжении нескольких дней/недель). Например, вышеописанные дозы можно применять 20-30 частями на протяжении 4-6 недель.

[0113] Доза применяемого ионизирующего излучения может зависеть от подвергаемой лечению опухоли и/или возраста пациента (например, взрослого или детского). Например, при лечении первичной GBM (характеризующейся IDH дикого типа и ATRX дикого типа) можно применять дозу, составляющую 60 Гр, тогда как при лечении рецидивирующей GBM (которая может быть IDH-мутантной/ATRX-мутантной) можно применять дозу, составляющую 35 Гр.

[0114] Данные, представленные в данном документе, также демонстрируют, что ингибитор PARP, описанный в данном документе, может обеспечивать преимущество в отношении противоопухолевого действия в моделях *in vitro* при относительно низком ионизирующем излучении. Без ограничения какой-либо теорией, предполагается, что ингибиторы PARP, описанные в данном документе, могут обеспечить достижение клинической пользы (например, уменьшение размеров опухоли) при более низкой дозе ионизирующего излучения (например, более низкой, чем SOC-доза ионизирующего излучения для лечения рассматриваемого заболевания).

[0115] Таким образом, в некоторых вариантах осуществления ионизирующее излучение применяют в дозе, составляющей менее приблизительно 60 Гр, менее приблизительно 55 Гр, менее приблизительно 50 Гр, менее приблизительно 45 Гр или менее приблизительно 40 Гр. В некоторых вариантах осуществления ионизирующее излучение применяют в дозе, составляющей от приблизительно 20 Гр до приблизительно 60 Гр, от приблизительно 20 Гр до приблизительно 55 Гр, от приблизительно 20 Гр до приблизительно 50 Гр, от приблизительно 20 Гр до приблизительно 45 Гр или от приблизительно 20 Гр до приблизительно 40 Гр, от приблизительно 30 Гр до приблизительно 60 Гр, от приблизительно 30 Гр до приблизительно 55 Гр, от приблизительно 30 Гр до приблизительно 50 Гр, от приблизительно 30 Гр до приблизительно 45 Гр, от приблизительно 30 Гр до приблизительно 40 Гр.

Заболевания

[0116] Способы, описанные в данном документе, предназначены для лечения опухолей головного мозга и нейробластом.

Примеры опухолей головного мозга, которые можно лечить посредством данных способов, включают глиомы и эпендимомы. В некоторых вариантах осуществления опухоль головного мозга, подвергаемая лечению, представляет собой глиому.

[0117] Глиомы, подходящие для лечения, включают глиомы у взрослых и у детей, а также глиомы высокой степени злокачественности и низкой степени злокачественности. Примеры глиом высокой степени злокачественности включают олигодендроглиому, анапластическую астроцитому, глиобластому и диффузную срединную глиому. Примеры глиом низкой степени злокачественности включают пилоцитарную астроцитому, глиому зрительного пути, тектальную глиому, олигодендроглиому, ганглиоглиому и плеоморфную ксантоастроцитому. В некоторых вариантах осуществления опухоль головного мозга, подвергаемая лечению, представляет собой глиому высокой степени злокачественности.

[0118] В некоторых вариантах осуществления опухоль головного мозга, подвергаемая лечению, представляет собой глиобластому. В некоторых вариантах осуществления опухоль головного мозга, подвергаемая лечению, представляет собой глиобластому, например, глиобластому у взрослых. В некоторых вариантах осуществления опухоль головного мозга, подвергаемая лечению, представляет собой диффузную срединную глиому, например, диффузную срединную глиому у детей. В некоторых вариантах осуществления опухоль головного мозга, подвергаемая лечению, представляет собой НЗК27М-мутантную глиому.

Краткое описание графических материалов

[0119] На фиг. 1 показана порошковая рентгеновская дифрактограмма формы В 6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксиамида.

[0120] На фиг. 2 показана кривая DSC для формы В 6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксиамида.

[0121] На фиг. 3 показана порошковая рентгеновская дифрактограмма формы D 6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксиамида.

[0122] На фиг. 4 показана структура монокристалла формы D 6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксиамида (ORTEP50).

[0123] На фиг. 5 показана порошковая рентгеновская дифрактограмма соли MSA формы С 6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксиамида.

[0124] На фиг. 6 показана кривая DSC для соли MSA формы С 6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксиамида.

[0125] На фиг. 7 показаны графики на основе данных о конфлюэнтности клеток, свидетельствующие о сильной активности ингибитора PARP при использовании в качестве монотерапии в отношении клеток глиомы с мутацией ATRX (SJG2IDH1wt и SJG2IDH1mt), но не в отношении таковых с ATRX дикого типа (U87 IDH1wt и U87 IDH1mt). Показаны иллюстративные графики, планки погрешностей представляют +/- SD.

[0126] На фиг. 8 показаны графики на основе данных о конфлюэнтности клеток, свидетельствующие о потенциации ингибитором PARP эффективности TMZ при применении на изогенных парах U87 IDH1wt (A) и U87 IDH1mt R132H (B). Иллюстративные графики показаны в 3 биологических повторностях, планки погрешностей представляют +/- SD.

[0127] На фиг. 9 показаны графики на основе данных о жизнеспособности клеток, свидетельствующие о потенциации ингибитором PARP эффективности TMZ при применении на изогенных парах SJ-G2 IDH1wt (A) и SJ-G2 IDH1mt R132H (B). Показаны иллюстративные графики, планки погрешностей представляют +/- SD.

[0128] На фиг. 10 показаны противоопухолевая эффективность (A) и изменение веса тела (B) модели ксенотрансплантата U87MG, которой вводили i) среду-носитель; ii) только соединение **20** (3 мг/кг QD); iii) TMZ в более низкой дозе (6,25 мг/кг QD в дни 1-5 и 29-33); iv) TMZ в более высокой дозе (25 мг/кг QD в дни 1-5 и 29-33) и v) комбинацию соединения **20** и TMZ в более низкой дозе.

[0129] На фиг. 11 показаны графики на основе данных о конфлюэнтности клеток, свидетельствующие о потенциации ингибитором PARP эффективности VAL-083 при применении на изогенных парах U87 IDH1wt (A) и U87 IDH1mt R132H (B). Показаны иллюстративные графики, планки погрешностей представляют +/- SD.

[0130] На фиг. 12 показаны графики на основе данных о конфлюэнтности клеток, свидетельствующие о потенциации ингибитором PARP эффективности VAL-083 при применении на изогенных парах SJ-G2 IDH1wt (A) и SJ-G2 IDH1mt R132H (B). Показаны иллюстративные графики, планки погрешностей представляют +/- SD.

[0131] На фиг. 13 показаны графики на основе данных о конфлюэнтности клеток, свидетельствующие о потенциации ингибитором PARP эффективности IR при применении на глиомах BT245 H3K27M у детей. Показаны иллюстративные графики, планки погрешностей представляют +/- SD.

Примеры

[0132] Далее соединения согласно настоящей заявке будут дополнительно пояснены с помощью ссылки на следующие неограничивающие примеры.

Общие экспериментальные условия

[0133] Спектры ^1H ЯМР получали с применением спектрометра Bruker при 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.

[0134] 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 применением картриджей с силикагелем для нормальной фазы FLASH⁺TM (40 M, 25 M или 12 M) или SNAPTM KP-Sil (340, 100, 50 или 10), колонок Flash silica-CS от Agela, с применением колонок для флэш-хроматографии C18 или стандартной флэш-хроматографии. В целом, все используемые растворители были коммерчески доступными и характеризовались аналитической степенью чистоты. В реакциях обычно использовали безводные растворители. Фазовые сепараторы, используемые в примерах, представляют собой колонки для фазового разделения ISOLUTE[®]. Промежуточные соединения и примеры, названные ниже, были названы с применением 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 посредством порошковой рентгеновской дифракции (XRPD)

[0135] XRPD-анализ проводили с применением дифрактометра Bruker D8, который является коммерчески доступным от Bruker AXS IncTM (Мэдисон, Висконсин, США). Спектры XRPD получали посредством установки образца (примерно 10 мг) материала для анализа на пластинчатый фиксатор 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 оборотов в минуту (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 секунды с приращением в 0,02 градуса угла 2-тета (режим непрерывного сканирования) в диапазоне от 5 градусов до 40 градусов угла 2-тета в режиме тета-тета. Время анализа составляло приблизительно 15 мин для D8.

[0136] Значения угла 2θ при XRPD могут варьироваться в приемлемом диапазоне, например, в диапазоне $\pm 0,2^\circ$, и такие значения интенсивности XRPD могут варьироваться при измерении по сути той же кристаллической формы по целому ряду причин, включая, например, предпочтительную ориентацию. 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 Diffraction*, John Wiley & Sons, New York; and Klug, H. P. & Alexander, L. E. (1974), *X-ray Diffraction Procedures*, John Wiley and Sons, New York.

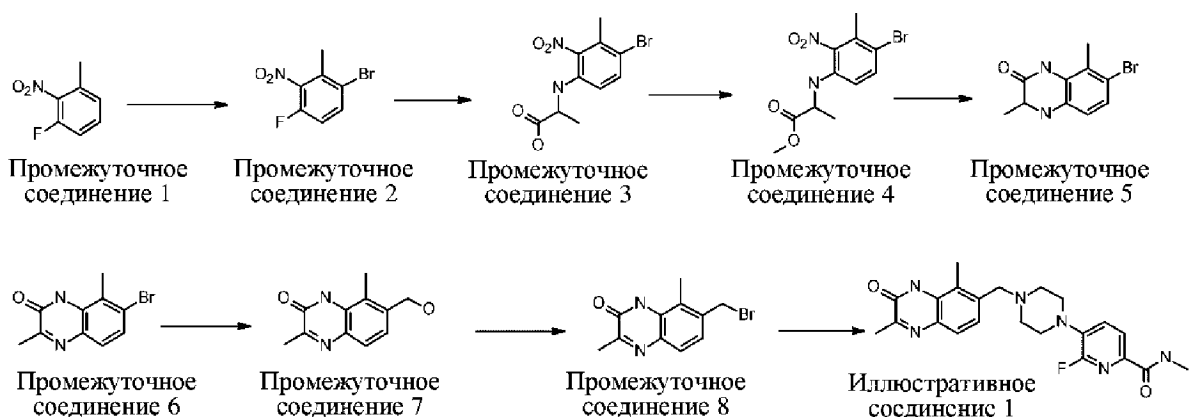
DSC-анализ

[0137] DSC-анализ проводили на образцах, полученных согласно стандартным способам с применением DSC-калориметра Q SERIES™ Q1000, доступного от TA INSTRUMENTS® (Нью-Касл, Делавэр, США). Образец (примерно 2 мг) взвешивали в алюминиевом тигле для образцов и переносили в устройство для DSC. Устройство продували азотом при 50 мл/мин, и данные собирали в диапазоне от 22°C до 300°C с применением скорости динамического нагревания, составляющей 10°C/минута. Температурные данные анализировали с применением стандартного программного обеспечения, например, Universal v.4.5A от TA INSTRUMENTS®.

[0138] Используются следующие сокращения: AcOH = уксусная кислота; водн. = водный; BAST = трифторид бис(2-метоксиэтил)аминосеры; Boc₂O = ди-*трет*-бутилдекарбонат; Boc = трет-бутилоксикарбонил; CDCl₃ = дейтерированный хлороформ; CD₃OD = дейтерированный метанол; CH₃NO₂ = нитрометан; DAST = трифторид диэтиламиносеры; DCE = 1,2-дихлорэтан; DCM = дихлорметан; DDQ = 2,3-дихлор-5,6-дициано-1,4-бензохинон; DEA = диэтиламин; DEAD = диэтилазодикарбоксилат; перйодинан Десса-Мартина = 1,1,1-трис(ацетилокси)-1,1-дигидро-1,2-бензойдоксол-3-(1*H*)-он; DIPEA = *N,N*-диизопропилэтиламин; DMAP = 2,6-диметиламинопиридин; DMF = *N,N*-диметилформамид; DMSO = диметилсульфоксид; DMSO-d₆ = дейтерированный диметилсульфоксид; DPPA = дифенилфосфоразидат; dppf = 1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен; DIAD = диизопропил-(Е)-диазен-1,2-дикарбоксилат; DSC = дифференциальная сканирующая калориметрия; DTAD = ди-трет-бутил-(Е)-диазен-1,2-дикарбоксилат; ee = энантиомерный избыток; экв. = эквивалент; ESI или ES = ионизация электрораспылением; Et₂O = диэтиловый эфир; EtOAc или EA = этилацетат; EtOH = этанол;

FA = муравьиная кислота; катализатор Граббса дихлорид (1,3-димеситилимидазол-2-илиден)(трициклогексилфосфин)рутения; ч = час(часы); HATU = гексафторфосфат (диметиламино)-*N,N*-диметил(3-оксидо-1*H*-[1,2,3]триазоло[4,5-*b*]пиридинил)метанимина; HCl = хлористоводородная кислота; H₂O₂ = пероксид водорода; HP = высокое давление; IPA = изопропиловый спирт; KF = фторид калия; LC = жидкостная хроматография; LiClO₄ = перхлорат лития; ммоль = миллимоль; mCPBA = мета-хлорпероксибензойная кислота; MeOH = метанол; мин = минута(минуты); MeCN, или CH₃CN, или ACN = ацетонитрил; MeNO₂ = нитрометан; MS = масс-спектрометрия; NBS = *N*-бромсукцинимид; NH₄Cl = хлорид аммония; NMP = *N*-метил-2-пирролидон; ЯМР = ядерный магнитный резонанс; Pd/C = палладий на угле; Pd₂dba₃ = трис(дибензилиденацетон)дипалладий (0); PdCl₂(dppf) = дихлорид 1,1'-бис(ди-трет-бутилфосфино)ферроценпалладия; PE = петролейный эфир; PPh₃ = трифенилфосфин; к. т. = комнатная температура; Rt или RT = время удерживания; Ruphos Pd G3 = метансульфонат (2-дициклогексилфосфино-2',6'-диизопропокси-1,1'-бифенил)[2-(2'-амино-1,1'-бифенил)]палладия(II); Pd-PEPPSI™-IPent = дихлор[1,3-бис(2,6-ди-3-пентилфенил)имидазол-2-илиден](3-хлорпиридил)палладий(II), [1,3-бис(2,6-ди-3-пентилфенил)имидазол-2-илиден](3-хлорпиридил)дихлорпалладий(II), дихлорид [1,3-бис(2,6-ди-3-пентилфенил)имидазол-2-илиден](3-хлорпиридил)палладия(II); Xphos Pd G2 = хлор(2-дициклогексилфосфино-2',4',6'-триизопропил-1,1'-бифенил)[2-(2'-амино-1,1'-бифенил)]палладий(II), X-Phos = хлорид аминобифенилпалладия; CataCXium A-Pd-G2 = хлор[(ди(1-адамантил)-*N*-бутилфосфин)-2-(2-аминобифенил)]палладий(II); насыщ. = насыщенный; SFC = сверхкритическая флюидная хроматография; T3P = 2,4,6-трипропил-1,3,5,2,4,6-триоксатрифосфинан-2,4,6-триоксид; PPh₃O = оксид трифенилфосфина; TBTU = тетрафторборат 2-(1*H*-бензо[*d*][1,2,3]триазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилизоурония; TFA = трифторуксусная кислота; THF = тетрагидрофуран; TLC = тонкослойная хроматография; TMS = триметилсилил; Xantphos = 4,5-бис(дифенилфосфино)-9,9-диметилксантен; CBr₄ = тетрабромид углерода; HBr = бромистоводородная кислота; Cs₂CO₃ = карбонат цезия; MgSO₄ = сульфат магния; NaHCO₃ = бикарбонат натрия; DDQ = 2,3-дихлор-5,6-дициано-1,4-бензохинон; SOCl₂ = тионилхлорид; DIBAL-H = гидрид диизобутилалюминия; NH₄HCO₃ = бикарбонат аммония; BINAP = 2,2'-бис(дифенилфосфино)-1,1'-бинафтил; SM = исходный материал; CH₂Cl₂ = дихлорметан; Et₃N = триэтиламин; HCO₂H = муравьиная кислота; LCMS = жидкостная хроматография с масс-спектрометрией; N₂ = молекулярный азот; Na₂SO₄ = сульфат натрия; NH₄CO₃ = карбонат аммония; UV = ультрафиолет; XPhos Pd G2 = хлор(2-дициклогексилфосфино-2',4',6'-триизопропил-1,1'-бифенил)[2-(2'-амино-1,1'-бифенил)]палладий(II); Pd(OAc)₂ = ацетат палладия(II), ppt = осадок.

Получение иллюстративных соединений



Промежуточное соединение 2. 1-Бром-4-фтор-2-метил-3-нитробензол

[0139] К раствору 1-фтор-3-метил-2-нитробензола (10,7 г, 68,98 ммоль) (*промежуточного соединения 1*) в TFA (50 мл) медленно добавляли конц. H₂SO₄ (20 мл) при 0°C с последующим добавлением порциями NBS (13,50 г, 75,87 ммоль). После добавления смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4 ч. Полученную смесь выливали на лед и осадок, который образовался, собирали посредством фильтрации, промывали водой и высушивали под вакуумом с получением 1-бром-4-фтор-2-метил-3-нитробензола (*промежуточного соединения 2*) в виде белого твердого вещества (14,80 г, 92%). 1H ЯМР (500 МГц, хлороформ-*d*) 2,43 (3H, s), 7,03 (1H, t), 7,68 (1H, dd).

Промежуточное соединение 3. 2-(4-Бром-3-метил-2-нитроанилино)пропановая кислота

[0140] Смесь 1-бром-4-фтор-2-метил-3-нитробензола (13,8 г, 58,97 ммоль) (*промежуточного соединения 2*), аланина (6,30 г, 70,76 ммоль) и карбоната калия (24,45 г, 176,90 ммоль) в DMF (15 мл) перемешивали при 100°C в течение 5 ч, затем температуру повышали до 110°C и перемешивали в течение 5 ч. Смесь выливали на лед, медленно гасили 1 М водн. раствором HCl (приблизительно 300 мл) при 0°C с получением желтой суспензии. Твердое вещество собирали посредством фильтрации, промывали водой и высушивали в вакуумной печи в течение 2 дней при 50°C с получением 2-(4-бром-3-метил-2-нитроанилино)пропановой кислоты (14,03 г, 78%) (*промежуточного соединения 3*) в виде желтого твердого вещества (присутствуют некоторые примеси). 1H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) 1,39 (3H, d), 2,28 (3H, s), 4,20 (1H, quin), 6,12 (1H, br d), 6,68 (1H, d), 7,58 (1H, d), 12,98 (1H, br s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 303.

Промежуточное соединение 4. Метил-2-(4-бром-3-метил-2-нитроанилино)пропанат

[0141] К раствору 2-(4-бром-3-метил-2-нитроанилино)пропановой кислоты (14,9 г, 49,16 ммоль) (*промежуточного соединения 3*) в MeOH (150 мл) по каплям добавляли тионилхлорид (10,76 мл, 147,47 ммоль) при 0°C и смесь перемешивали при к. т. в течение ночи. Результат LCMS указывал на полное превращение. Реакционную смесь медленно

гасили водн. насыщ. раствором NaHCO_3 при 0°C (приблизительно 300 мл) с получением оранжевой суспензии. Твердое вещество собирали посредством фильтрации, промывали водой и высушивали с получением неочищенного продукта (14,6 г). Твердое вещество очищали на колонке с силикагелем (элюировали смесью 0-25% этилацетата в гексанах) с получением метил-2-(4-бром-3-метил-2-нитроанилино)пропаноата (*промежуточного соединения 4*) в виде ярко-оранжевого твердого вещества (12,74 г, 82%). ^1H ЯМР (500 МГц, хлороформ- d) 1,52 (3H, d), 2,43 (3H, s), 3,76 (3H, s), 4,14 (1H, quin), 5,83 (1H, br d), 6,45 (1H, d), 7,48 (1H, d); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 317$.

Промежуточное соединение 5. 7-Бром-3,8-диметил-3,4-дигидро-1H-хиноксалин-2-он

[0142] К перемешиваемой смеси метил-2-(4-бром-3-метил-2-нитроанилино)пропаноата (11,6 г, 36,58 ммоль) (*промежуточного соединения 4*), цинка (23,91 г, 365,77 ммоль) и хлорида аммония (19,56 г, 365,77 ммоль) в MeOH (100 мл) добавляли небольшой кусок льда при 0°C (экзотермическая реакция). Затем реакционную смесь перемешивали в течение 15 мин при 0°C (ледяная баня). Добавляли воду (2 мл) и полученную смесь перемешивали при к. т. в течение 15 мин. Ярко-оранжевое окрашивание исчезало. Смесь фильтровали через бумажный фильтр, промывали метанолом и фильтрат концентрировали под вакуумом. Остаток разбавляли этилацетатом и промывали водой с последующим промыванием солевым раствором. Органический слой высушивали (безводный Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали с получением смеси метил-2-(2-амино-4-бром-3-метиланилино)пропаноата и 7-бром-3,8-диметил-3,4-дигидро-1H-хиноксалин-2-она (9,8 г).

[0143] К раствору вышеуказанного твердого вещества в MeOH (100 мл) добавляли 2 мл 4 М раствора HCl в диоксанах при к. т. и смесь перемешивали при к. т. в течение 10 мин. Добавляли еще 100 мл метанола (с получением свободной суспензии) и полученную суспензию перемешивали при к. т. в течение 1 ч. Смесь разбавляли эфиром (приблизительно 200 мл), твердое вещество собирали посредством фильтрации и промывали эфиром. Фильтрат концентрировали до твердого осадка, и твердое вещество собирали посредством фильтрации. Данную процедуру повторяли несколько раз с получением первой порции продукта массой 7,2 г. Фильтрат концентрировали и очищали на колонке с силикагелем (элюировали смесью 0-100% этилацетата в гексанах), и фракцию продукта концентрировали, и полученный материал объединяли с вышеуказанным материалом с получением 7-бром-3,8-диметил-3,4-дигидро-1H-хиноксалин-2-она (9,10 г, 98%) (*промежуточного соединения 5*) в виде грязно-белого твердого вещества. ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) 1,23 (3H, d), 2,24 (3H, s), 3,68 (1H, q), 3,75 (br, 1H), 6,54 (1H, d), 7,00 (1H, d), 9,77 (1H, s); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 255$.

Промежуточное соединение 6. 7-Бром-3,8-диметил-1H-хиноксалин-2-он

[0144] DDQ (8,91 г, 39,24 ммоль) добавляли к суспензии 7-бром-3,8-диметил-3,4-дигидро-1H-хиноксалин-2-она (9,1 г, 35,67 ммоль) (*промежуточного соединения 5*) в CH₂Cl₂ (400 мл) при комнатной температуре и смесь перемешивали в течение ночи. Результат LCMS указывал на чистое превращение. Растворитель удаляли при пониженном давлении, добавляли насыщ. раствор NaHCO₃ (приблизительно 300 мл) и желтую суспензию перемешивали при к т в течение 4 ч. Твердое вещество собирали посредством фильтрации и промывали водой. Твердое вещество суспендировали в насыщ. растворе NaHCO₃ (100 мл) и перемешивали при к т в течение 1 ч. Твердое вещество фильтровали, промывали водой с последующим промыванием эфиром и высушивали с получением 7-бром-3,8-диметил-1H-хиноксалин-2-она (7,29 г, 81%) (*промежуточного соединения 6*) в виде грязно-белого твердого вещества. 1H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) 2,40 (3H, s), 2,50 (3H, s) (перекрывается с пиком DMSO-*d*₆), 7,32-7,65 (2H, m), 11,76 (1H, br s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 253.

Промежуточное соединение 7. 7-(Гидроксиметил)-3,8-диметил-1H-хиноксалин-2-он

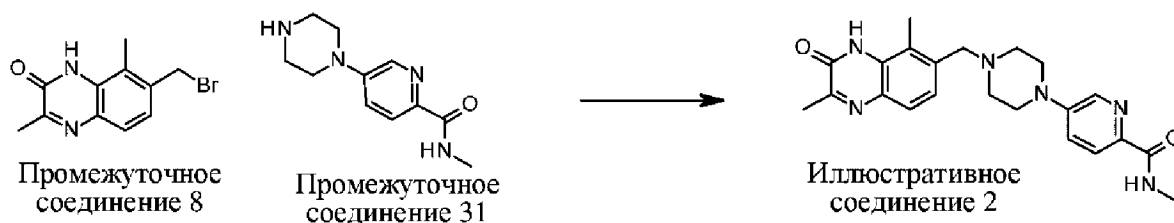
[0145] Смесь (трибутилстаннил)метанола (1142 мг, 3,56 ммоль), 7-бром-3,8-диметил-1H-хиноксалин-2-она (600 мг, 2,37 ммоль) (*промежуточного соединения 6*) и Xphos Pd G2 (280 мг, 0,36 ммоль) в 1,4-диоксане (40 мл) перемешивали при 80°C в течение 18 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении и остаток очищали на колонке с силикагелем (элюировали смесью 0-15% метанола в DCM) с получением 7-(гидроксиметил)-3,8-диметил-1H-хиноксалин-2-она (225 мг, 46%) (*промежуточного соединения 7*) в виде грязно-белого твердого вещества. 1H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) 2,31 (3H, s), 2,40 (3H, s), 4,58 (2H, d), 5,22 (1H, t), 7,33 (1H, d), 7,52 (1H, d), 11,53 (1H, br s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 205.

Промежуточное соединение 8. 7-(Бромметил)-3,8-диметил-1H-хиноксалин-2-он

[0146] 7-(Гидроксиметил)-3,8-диметил-1H-хиноксалин-2-он (223 мг, 1,09 ммоль) (*промежуточное соединение 7*) в НВг (15 мл, 132,59 ммоль) (48 вес. % в воде) перемешивали при 80°C в течение 3,5 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении, к остатку добавляли диэтиловый эфир, смесь подвергали воздействию ультразвука и твердое вещество собирали с получением 7-(бромметил)-3,8-диметил-1H-хиноксалин-2-она (408 мг, 107%) (*промежуточного соединения 8*) в виде желтого твердого вещества. 1H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) 2,36-2,45 (6H, m), 4,83 (2H, s), 7,34 (1H, d), 7,53 (1H, d), 11,63 (1H, br s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 267, 269.

Пример 1. 5-[4-[(2,5-Диметил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-фтор-N-метилтиридин-2-карбоксамид

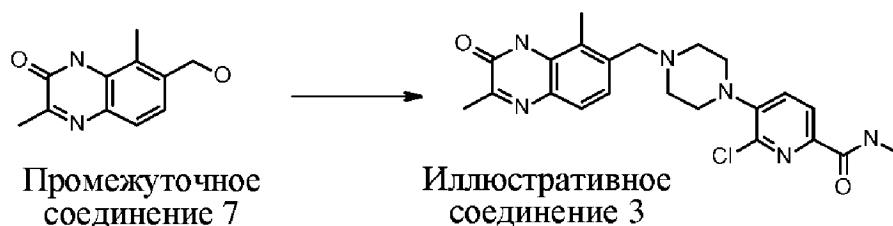
[0147] К суспензии 7-(бромметил)-3,8-диметил-1Н-хиноксалин-2-она (37 мг, 0,10 ммоль) (*промежуточного соединения 8*) и HBr добавляли ACN (5 мл), 6-фтор-N-метил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамид, 2HCl (31,5 мг, 0,10 ммоль) (*промежуточное соединение 32*) и DIPEA (79 мкл, 0,45 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при 70°C в течение 1 ч с получением светло-желтой суспензии. Суспензию охлаждали до к. т., добавляли 1 каплю воды, твердое вещество собирали посредством фильтрации, три раза промывали ацетонитрилом и высушивали с получением 5-[4-[(2,5-диметил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-фтор-N-метилпиридин-2-карбоксамид (0,016 г, 33%) (*иллюстративного соединения 1*) в виде желтого твердого вещества. 1Н ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) 2,07 (3H, br s), 2,42 (3H, br d), 2,56 (4H, br s), 2,76 (3H, br s), 3,14 (4H, br s), 3,61 (2H, br s), 7,23 (1H, br d), 7,42-7,67 (2H, m), 7,83 (1H, br d), 8,38 (1H, br s), 11,13-11,97 (1H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 425.



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

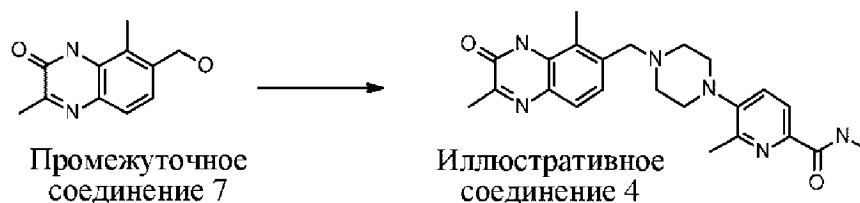
[0148] К суспензии 7-(бромметил)-3,8-диметилхиноксалин-2(1Н)-она, HBr (240 мг, 0,69 ммоль) (*промежуточного соединения 8*), N-метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамид, 2HCl (202 мг, 0,69 ммоль) (*промежуточного соединения 31*) в ацетонитриле (13 мл) добавляли DIPEA (0,723 мл, 4,14 ммоль) и полученную смесь перемешивали при 70°C в течение 3 ч. Смесь концентрировали и очищали с применением обращенной фазы (колонка C18, элюировали смесью 0-100% ACN/вода (0,2% раствор гидроксида аммония)) с получением продукта в виде коричневого твердого вещества. Твердое вещество суспендировали в смеси DCM и MeOH (2:1), концентрировали с удалением DCM и твердое вещество фильтровали и промывали метанолом. Твердое вещество суспендировали в ACN (3 мл), добавляли 0,8 мл 1 М раствора HCl в воде, разбавляли водой (приблизительно 3 мл) и лиофилизировали до сухого состояния с получением соли HCl продукта, представляющего собой 5-[4-[(2,5-диметил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид (0,033 г, 11%) (*иллюстративное соединение 2*). 1Н ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) 2,45 (3H, s), 2,54 (3H, s), 2,81 (3H, br d), 3,24-3,56 (6H, m), 3,88-4,02 (2H, m), 4,54 (2H, br s), 7,48-7,71 (3H, m), 7,97

(1H, br d), 8,33 (1H, br d), 8,59 (1H, br s), 11,28 (1H, br s), 11,48-11,95 (1H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 407.



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

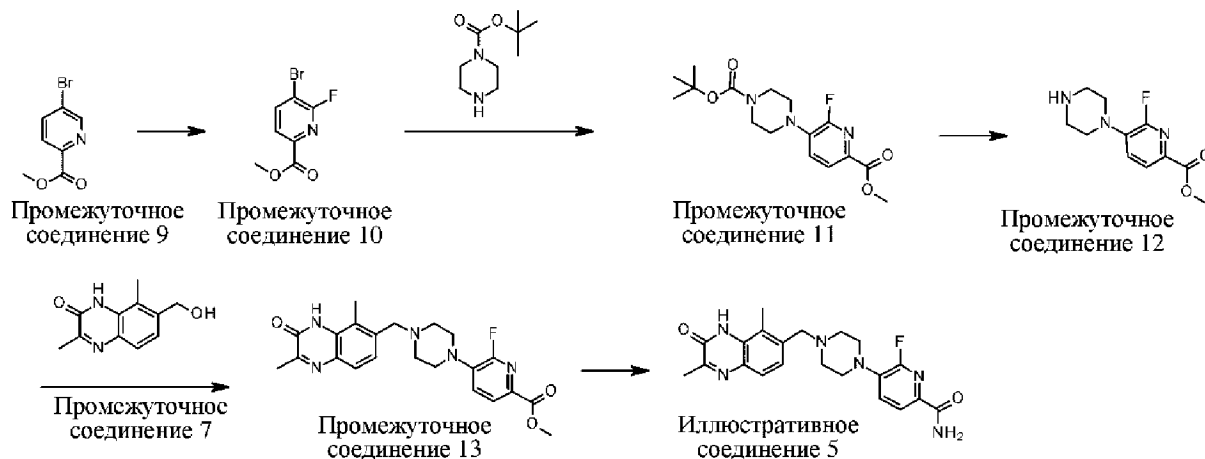
[0149] HBr в AcOH (2 мл, 0,18 ммоль) (33 вес. %) добавляли к раствору 7- (гидроксиметил)-3,8-диметил-1H-хиноксалин-2-она (36 мг, 0,18 ммоль) (**промежуточного соединения 7**) в NMP (2 мл). Полученную смесь перемешивали при 100°C в течение 1 часа. Растворитель удаляли при пониженном давлении. DIPEA (0,25 мл, 1,43 ммоль) добавляли к раствору 6-хлор-N-метил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамида (48 мг, 0,19 ммоль) (**промежуточного соединения 30**) в NMP (2 мл). Полученную смесь перемешивали при 100°C в течение 18 часов. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной HPLC (колонка: YMC-Actus Triart C18, 30 * 250,5 мм; подвижная фаза А: вода (0,05% NH₃H₂O), подвижная фаза В: ACN; скорость потока: 60 мл/мин; градиент: от 41 В до 61 В за 7 мин; 254; 220 нм). Фракции, содержащие требуемое соединение, выпаривали до сухого состояния с получением 6-хлор-5-[4-[(2,5-диметил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида (33,0 мг, 42%) (**иллюстративного соединения 3**) в виде белого твердого вещества. 1H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) 2,41 (3H, s), 2,43 (3H, s), 2,54-2,62 (4H, m), 2,78 (3H, d), 3,05-3,11 (4H, m), 3,62 (2H, s), 7,24 (1H, d), 7,51 (1H, d), 7,65 (1H, d), 7,92 (1H, d), 8,41-8,45 (1H, m), 11,56 (1H, s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 441.



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

[0150] HBr в AcOH (2 мл, 12,15 ммоль) (33 вес. %) добавляли к раствору 7- (гидроксиметил)-3,8-диметил-1H-хиноксалин-2-она (43 мг, 0,21 ммоль) (**промежуточного соединения 7**) в NMP (2 мл). Полученную смесь перемешивали при 80°C в течение 1 часа. Растворитель удаляли при пониженном давлении. К раствору полученного твердого

вещества в NMP (3 мл) добавляли DIPEA (0,25 мл, 1,43 ммоль) и N,6-диметил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамид (42 мг, 0,18 ммоль) (*промежуточное соединение 33*). Полученную смесь перемешивали при 100°C в течение 18 часов. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной HPLC (колонка: YMC-Actus Triart C18, 30 * 250,5 мм, с применением воды в ацетонитриле (0,05% NH₄OH)). Фракции, содержащие требуемое соединение, выпаривали до сухого состояния с получением 5-[4-[(2,5-диметил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамид (*иллюстративного соединения 4*) (18,40 мг, 24%) в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) 2,40 (3H, s), 2,43 (3H, s), 2,48 (3H, s), 2,55-2,63 (4H, m), 2,79 (3H, d), 2,87-2,94 (4H, m), 3,62 (2H, s), 7,24 (1H, d), 7,46 (1H, d), 7,51 (1H, d), 7,78 (1H, d), 8,39-8,44 (1H, m), 11,56 (1H, s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 421.



Промежуточное соединение 10. Метил-5-бром-6-фторпиридин-2-карбоксилат

[0151] В сухую колбу загружали метил-5-бромпиколинат (*промежуточное соединение 9*) (24 г, 111,09 ммоль) в ацетонитриле (300 мл), добавляли фторид серебра(II) (50 г, 342,78 ммоль), смесь перемешивали при к. т. в течение 1 дня в атмосфере N₂. Результат LCMS указывал на приблизительно 70% превращение. Добавляли другую партию AgF₂ (16 г) и полученную смесь продолжали перемешивать при к. т. в течение ночи. Смесь фильтровали через целит, промывали ацетонитрилом с последующим промыванием с помощью DCM и фильтрат концентрировали с получением светло-коричневого твердого вещества. Остаток разделяли между DCM и насыщ. раствором NH₄Cl, в результате чего получали белую суспензию. Твердое вещество отфильтровывали и удаляли. Фильтрат переносили в делительную воронку, органический слой отделяли и водный слой экстрагировали этилацетатом (150 мл x 3). Органические вещества объединяли, высушивали (безводный Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали до осаждения твердого вещества. Твердое вещество собирали посредством фильтрации, промывали эфиром, высушивали с получением хлопьевидного грязно-белого твердого

вещества. Объединенный фильтрат снова концентрировали, и твердое вещество собирали посредством фильтрации с получением 19,96 г объединенного продукта. Остальную часть фильтрата концентрировали и очищали на колонке с силикагелем (элюировали смесью 0-25% этилацетата в гексанах) с получением второй порции требуемого продукта в виде хлопьевидного белого твердого вещества массой 3,5 г. Весь материал объединяли с получением метил-5-бром-6-фторпиридин-2-карбоксилата (23,46 г, 90%) (*промежуточного соединения 10*). ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) 3,89 (3H, s), 7,93 (1H, d), 8,51 (1H, t); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 234.

Промежуточное соединение 11. трет-Бутил-4-(2-фтор-6-метоксикарбонил-3-пиридил)пиперазин-1-карбоксилат

[0152] Смесь трет-бутилпиперазин-1-карбоксилата (28,0 г, 150,37 ммоль), метил-5-бром-6-фторпиридин-2-карбоксилата (*промежуточного соединения 10*) (23,46 г, 100,25 ммоль), RuPhos Pd G3 (5,45 г, 6,52 ммоль) и Cs₂CO₃ (82 г, 250,61 ммоль) в 1,4-диоксане (400 мл) перемешивали при 80°C в течение ночи в атмосфере N₂. Реакционную смесь разбавляли водой (250 мл) и экстрагировали этилацетатом (250 мл). Органический слой промывали солевым раствором, водный слой экстрагировали этилацетатом (100 мл x 1), органические вещества высушивали (безводный Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали, остаток очищали на колонке с силикагелем (элюировали смесью 0-50% этилацетата в гексанах) с получением продукта в виде желтого твердого вещества, твердое вещество подвергали перекристаллизации из смеси этилацетат/гексаны, фильтровали, промывали гексанами, высушивали с получением продукта в виде кристаллического белого твердого вещества (24,8 г). Фильтрат концентрировали и повторно очищали на колонке с силикагелем с получением дополнительного количества продукта массой 1,9 г. Общий выход трет-бутил-4-(2-фтор-6-метоксикарбонил-3-пиридил)пиперазин-1-карбоксилата (*промежуточного соединения 11*) (26,7 г, 78%). ¹H ЯМР (500 МГц, хлороформ-*d*) 1,51 (9H, s), 3,12-3,28 (4H, m), 3,48-3,67 (4H, m), 3,98 (3H, s), 7,27 (1H, d), 7,99 (1H, dd); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 340.

Промежуточное соединение 12. Метил-6-фтор-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксилат

[0153] К смеси трет-бутил-4-(2-фтор-6-метоксикарбонил-3-пиридил)пиперазин-1-карбоксилата (1,9 г, 5,60 ммоль) (*промежуточного соединения 11*) в MeOH (10 мл) добавляли 4 М раствор HCl в диоксане (10 мл, 40,00 ммоль) при к. т. и полученную смесь перемешивали при к. т. в течение 1 ч. Смесь разбавляли эфиром, твердое вещество собирали посредством фильтрации, промывали эфиром и высушивали под вакуумом с получением метил-6-фтор-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксилата (1,360 г, 78%) (*промежуточного соединения 12*) в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (500 МГц,

DMSO-*d*₆) 3,24 (4H, br s), 3,46 (4H, br s), 3,84 (3H, s), 7,65 (1H, br t), 7,94 (1H, br d), 9,43 (2H, br s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 240.

Промежуточное соединение 13. Метил-5-[4-[(2,5-диметил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-фторпиридин-2-карбоксилат

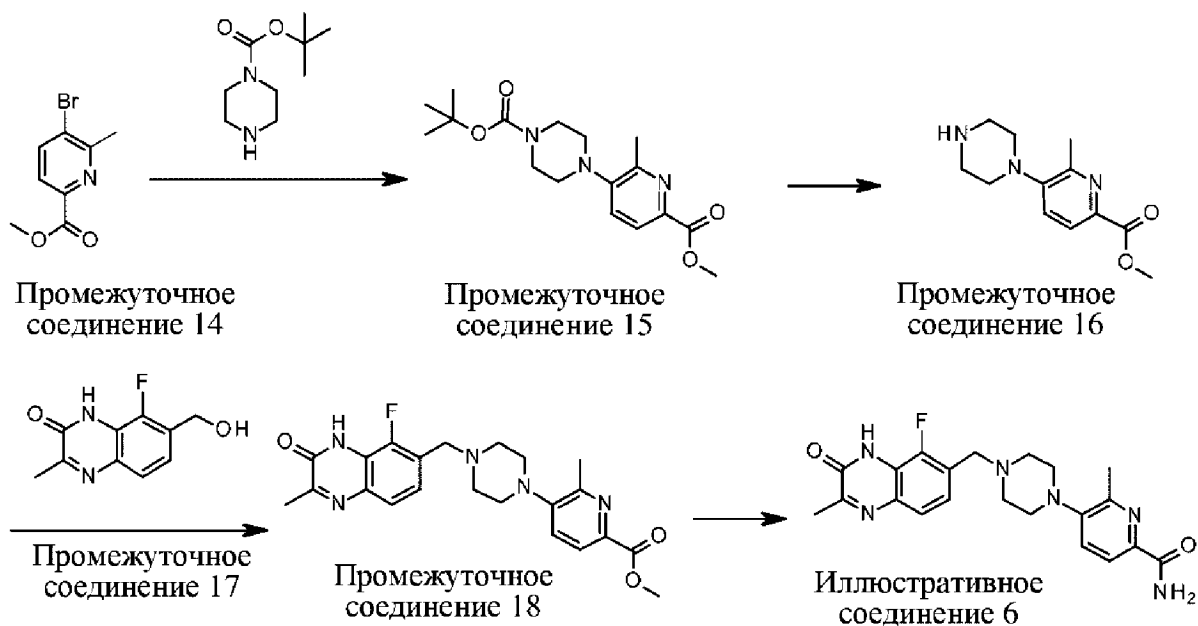
[0154] 7-(Гидроксиметил)-3,8-диметилхиноксалин-2(1H)-он (223 мг, 1,09 ммоль) (**промежуточное соединение 7**) в НВг (15 мл, 132,59 ммоль) (48 вес % в воде) перемешивали при 80°C в течение 3,5 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении, к остатку добавляли DCM и концентрировали с получением 7-(бромметил)-3,8-диметилхиноксалин-2(1H)-она в виде желтого твердого вещества.

[0155] К раствору вышеуказанного твердого вещества в ацетонитриле (20 мл) добавляли метил-6-фтор-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксилат, 2HCl (260 мг, 0,83 ммоль) (**промежуточное соединение 12**) и DIPEA (1,907 мл, 10,92 ммоль) при к. т. и реакционную смесь перемешивали при 70°C в течение 2 ч. Смесь охлаждали до к. т., добавляли 0,5 мл воды и твердое вещество собирали посредством фильтрации и промывали ацетонитрилом. Твердое вещество высушивали с получением грязно-белого твердого вещества в виде метил-5-[4-[(2,5-диметил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-фторпиридин-2-карбоксилата (0,371 г, 80%) (**промежуточного соединения 13**). 1H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) 2,42 (6H, m), 2,52-2,59 (4H, m), 3,20 (4H, br d), 3,61 (2H, s), 3,82 (3H, s), 7,23 (1H, d), 7,41-7,59 (2H, m), 7,91 (1H, d), 11,55 (1H, s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 426.

Пример 5. 5-[4-[(2,5-Диметил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-фторпиридин-2-карбоксамид

[0156] В герметично закрытый флакон объемом 40 мл загружали метил-5-[4-[(2,5-диметил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-фторпиридин-2-карбоксилат (360 мг, 0,85 ммоль) (**промежуточное соединение 13**) и аммиак (15 мл, 105,00 ммоль, 7 н. в метаноле) и смесь перемешивали при 50°C в течение ночи. Результат LCMS указывал на то, что еще оставалось некоторое количество исходного материала. Смесь концентрировали, 10 мл 7 н. раствора аммиака в метаноле добавляли к твердому веществу, и смесь перемешивали при 50°C в течение 4 ч с получением белой суспензии. Твердое вещество собирали посредством фильтрации, промывали гексанами и высушивали с получением 5-[4-[(2,5-диметил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-фторпиридин-2-карбоксамид (**иллюстративного соединения 5**) (340 мг, 98%) в виде белого твердого вещества. 1H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) 2,40 (3H, s), 2,43 (3H, s), 2,56 (4H, br s), 3,14 (4H, br s), 3,61 (2H, s), 7,23 (1H, d), 7,46

(1H, br s), 7,48-7,58 (2H, m), 7,76 (1H, br s), 7,84 (1H, br d), 11,11-11,70 (1H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 411.



Промежуточное соединение 15. трет-Бутил-4-(6-метоксикарбонил-2-метил-3-пиридил)пиперазин-1-карбоксилат

[0157] Во флакон объемом 40 мл, оснащенный крышкой с перегородкой, загружали метил-5-бром-6-метилпиридинат (**промежуточное соединение 14**) (2 г, 8,69 ммоль), трет-бутилпиперазин-1-карбоксилат (3,24 г, 17,39 ммоль), Cs₂CO₃ (5,66 г, 17,39 ммоль) и Ruphos Pd G3 (0,727 г, 0,87 ммоль). Содержимое реакционного флакона извлекали под вакуумом, и флакон заполняли азотом. Добавляли 1,4-диоксан (20 мл) и реакционный флакон помещали в термостат, предварительно нагретый до 80°C, и перемешивали в течение 16 ч. Реакционную смесь охлаждали, разбавляли водой и экстрагировали этилацетатом, органический слой промывали солевым раствором, высушивали над безводным Na₂SO₄ и концентрировали. Остаток очищали на колонке с силикагелем (элюировали смесью 0-50% этилацетата в гексанах) с получением трет-бутил-4-(6-метоксикарбонил-2-метил-3-пиридил)пиперазин-1-карбоксилата (**промежуточного соединения 15**) (2,090 г, 72 %) (2,090 г, 72%) в виде светло-желтого твердого вещества. 1H ЯМР (500 МГц, дихлорметан-*d*₂) 1,49 (9H, s), 2,59 (3H, s), 2,88-3,00 (4H, m), 3,55-3,65 (4H, m), 3,92 (3H, s), 7,32 (1H, d), 7,92 (1H, d); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 336.

Промежуточное соединение 16. Метил-6-метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксилат

[0158] 4 М раствор хлороводорода в 1,4-диоксане (31,2 мл, 124,63 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору трет-бутил-4-(6-(метоксикарбонил)-2-

метилпиридин-3-ил)пиперазин-1-карбоксилата (*промежуточного соединения 15*) (4,18 г, 12,46 ммоль) в DCM (30 мл) и полученный раствор перемешивали при к т в течение 18 ч. Растворитель удаляли под вакуумом, полученное твердое вещество суспендировали в диэтиловом эфире и твердое вещество собирали посредством фильтрации с получением метил-6-метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксилата (*промежуточного соединения 16*) (3,80 г, 99%) в виде светло-желтого твердого вещества; масса/заряд (ES^+) $[M+H]^+ = 236$.

Промежуточное соединение 18. Метил-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-метилпиридин-2-карбоксилат

[0159] Трифенилфосфин (1,584 г, 6,04 ммоль) (добавляли 4,4 г, рассчитывали в пересчете на PPh_3 , загрузка 1,6 ммоль/г) добавляли к перемешиваемой взвеси 8-фтор-7-(гидроксиметил)-3-метилхиноксалин-2(1H)-она (419 мг, 2,01 ммоль) (*промежуточного соединения 17*) и пербромметана (1,335 г, 4,03 ммоль) в DCM (40 мл) при к. т. Полученную смесь перемешивали в течение 1 ч. Реакционную смесь фильтровали, промывали с помощью DCM и THF и фильтрат концентрировали под вакуумом с получением 7-(бромметил)-8-фтор-3-метилхиноксалин-2(1H)-она в виде светло-желтого твердого вещества.

[0160] К взвеси вышеуказанного свежеприготовленного 7-(бромметил)-8-фтор-3-метилхиноксалин-2(1H)-она в ацетонитриле (25 мл) добавляли метил-6-метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксилат, 2HCl (590 мг, 1,91 ммоль) (*промежуточное соединение 16*) и N-этил-N-изопропилпропан-2-амин (1754 мкл, 10,07 ммоль) и реакционную смесь нагревали до 70°C в течение 1 ч. Реакционную смесь охлаждали до к. т., концентрировали, гасили насыщ. водным раствором $NaHCO_3$ и перемешивали в течение 1 ч. Твердое вещество выделяли посредством фильтрации и промывали водой. Неочищенное твердое вещество очищали посредством колоночной хроматографии на диоксиде кремния с применением смеси 0-10% MeOH в DCM с получением метил-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-метилпиридин-2-карбоксилата (*промежуточного соединения 18*) (0,263 г, 31%). 1H ЯМР (500 МГц, $DMSO-d_6$) 2,40-2,49 (6H, m), 2,62 (4H, br s), 2,97 (4H, br s), 3,72 (2H, s), 3,83 (3H, s), 7,30 (1H, t), 7,44 (1H, d), 7,52 (1H, d), 7,85 (1H, d), 12,45 (1H, br s); 19F ЯМР (471 МГц, $DMSO-d_6$) -135,54 (1F, s); масса/заряд (ES^+) $[M+H]^+ = 426$.

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

[0161] 7 н. раствор аммиака в метаноле (16,47 мл, 115,26 ммоль) добавляли к метил-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-

метилпиридин-2-карбоксилату (**промежуточному соединению 18**) (0,2452 г, 0,58 ммоль) в скнтилляцияонном флаконе объемом 40 мл, герметично закрывали и перемешивали при к. т. в течение 18 ч. Дополнительный 7 н. раствор NH₃ (15 мл) добавляли к реакционной смеси и перемешивали при 50°C в течение ночи. Реакционную смесь концентрировали под вакуумом, суспендируют в 5 мл MeOH. Твердое вещество отфильтровывали, промывали метанолом и высушивали с получением 5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-метилпиридин-2-карбоксамида (**иллюстративного соединения 6**) (0,151 г, 64%) в виде грязно-белого твердого вещества. 1Н ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*6) 2,42 (3H, s), 2,45-2,49 (3H, m), 2,52-2,69 (4H, m), 2,94 (4H, br s), 3,71 (2H, s), 7,29 (1H, t), 7,40-7,54 (3H, m), 7,77-7,84 (2H, m), 12,43 (1H, br s); 19F ЯМР (471 МГц, DMSO-*d*6) -135,53 (1F, s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 411.



Промежуточное соединение 19. Метил-5-[4-[(2,5-диметил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-метилпиридин-2-карбоксилат

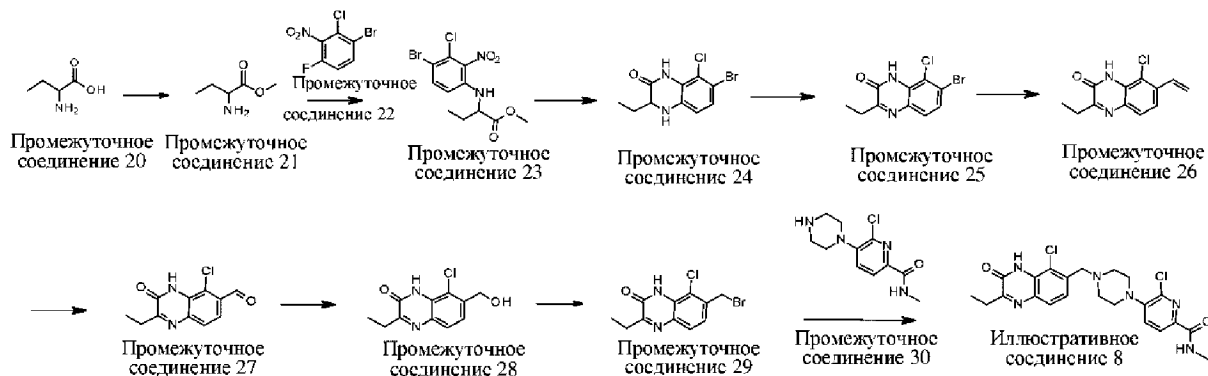
[0162] 7-(Гидроксиметил)-3,8-диметилхиноксалин-2(1H)-он (**промежуточное соединение 7**) (223 мг, 1,09 ммоль) в HBr (15 мл, 132,59 ммоль) (48 вес. % в воде) перемешивали при 80°C в течение 4 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении, к остатку добавляли DCM, смесь подвергали воздействию ультразвука и концентрировали с получением 7-(бромметил)-3,8-диметилхиноксалин-2(1H)-она в виде желтого твердого вещества.

[0163] К взвеси вышеуказанного вещества в ацетонитриле (20 мл) добавляли метил-6-метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксилат, 2HCl (**промежуточное соединение 16**) (337 мг, 1,09 ммоль) и DIPEA (1,907 мл, 10,92 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 70°C в течение 2 ч с получением прозрачного раствора. Полученную смесь охлаждали до к. т., половину растворителя удаляли, добавляли 0,5 мл воды. Твердое вещество собирали посредством фильтрации, промывали ацетонитрилом и высушивали с получением желтого твердого вещества. Данное твердое вещество очищали на колонке с силикагелем (элюировали смесью 0-20% метанола в DCM) с получением метил-5-[4-[(2,5-диметил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-метилпиридин-2-карбоксилата (**промежуточного соединения 19**) (213 мг, 46%) в виде грязно-белого

твердого вещества. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) 2,41 (3H, s), 2,43 (3H, s), 2,47 (3H, s), 2,58 (4H, br s), 2,95 (4H, br s), 3,63 (2H, s), 3,82 (3H, s), 7,24 (1H, d), 7,43 (1H, d), 7,51 (1H, d), 7,84 (1H, d), 11,55 (1H, s), масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 422.

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

[0164] В герметично закрытый флакон объемом 40 мл загружали метил-5-[4-[(2,5-диметил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-метилпиридин-2-карбоксилат (*промежуточное соединение 19*) (210 мг, 0,50 ммоль) и аммиак (15 мл, 105,00 ммоль, 7 н. в метаноле) и реакционную смесь перемешивали при 50°C в течение ночи. Реакция не была завершена. Смесь концентрировали, 10 мл 7 н. раствора аммиака в метаноле добавляли к данному твердому веществу. Флакон закрывали крышкой и содержимое флакона перемешивали при 50°C в течение 4 ч с получением белой суспензии. Смесь охлаждали до к. т., твердое вещество собирали посредством фильтрации, промывали гексанами и высушивали с получением 5-[4-[(2,5-диметил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-метилпиридин-2-карбоксамид (*иллюстративного соединения 7*)(191 мг, 94%) в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) 2,41 (3H, s), 2,44 (3H, s), 2,49 (3H, s), 2,58 (4H, br s), 2,92 (4H, br s), 3,63 (2H, br s), 7,24 (1H, br d), 7,42 (1H, br s), 7,46 (1H, br d), 7,51 (1H, br d), 7,79 (2H, br d), 10,53-11,23 (1H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 407.



Промежуточное соединение 21. Метил-2-аминобутаноат

[0165] Взвесь 2-аминобутановой кислоты (*промежуточного соединения 20*) (5 г, 48,49 ммоль) в метаноле (35 мл) охлаждали на ледяной бане. Тионилхлорид (11 мл, 150,72 ммоль) по каплям добавляли к вышеуказанной смеси при 0°C. Обеспечивали нагревание реакционной смеси до к. т. и перемешивали в течение ночи. Прозрачный раствор концентрировали до сухого состояния с получением остатка. Полученное твердое вещество суспендировали в эфире, фильтровали, промывали эфиром и высушивали с получением метил-2-аминобутаноата.НСl (*промежуточного соединения 21*) (7,35 г, 99%)

в виде белого твердого вещества, представляющего собой соль HCl. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) 0,92 (3H, t), 1,76-1,93 (2H, m), 3,75 (3H, s), 3,95-4,05 (1H, m), 8,53 (3H, br s).

Промежуточное соединение 23. Метил-2-(4-бром-3-хлор-2-нитроанилино)бутаноат

[0166] В колбу загружали метил-2-аминобутаноат, HCl (*промежуточное соединение 21*) (1,811 г, 11,79 ммоль), 1-бром-2-хлор-4-фтор-3-нитробензол (*промежуточное соединение 22*) (2,0 г, 7,86 ммоль) в 1,4-диоксане (30 мл), добавляли DIPEA (8,24 мл, 47,16 ммоль) и смесь перемешивали при 105°C в течение 24 ч. Смесь концентрировали и остаток очищали на колонке с силикагелем (элюировали смесью 0-50% этилацетата в гексанах) с получением метил-2-(4-бром-3-хлор-2-нитроанилино)бутаноата (*промежуточного соединения 23*) (2,100 г, 76%) в виде ярко-желтого масла, превратившегося в желтое твердое вещество после отстаивания. ¹H ЯМР (500 МГц, хлороформ-*d*) 0,99 (3H, t), 1,78-1,89 (1H, m), 1,91-2,02 (1H, m), 3,77 (3H, s), 4,04 (1H, q), 5,63 (1H, br d), 6,55 (1H, d), 7,52 (1H, d); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 351.

Промежуточное соединение 24. 7-Бром-8-хлор-3-этил-3,4-дигидро-1H-хиноксалин-2-он

[0167] Дитионит натрия (3,05 г, 17,49 ммоль) добавляли к перемешиваемой смеси метил-2-(4-бром-3-хлор-2-нитроанилино)бутаноата (*промежуточного соединения 23*) (2,05 г, 5,83 ммоль) в DMSO (50 мл) и смесь перемешивали при 120°C в течение 3 ч. Смесь гасили водой и экстрагировали этилацетатом (50 мл x 2). Органический слой высушивали (безводный Na₂SO₄), фильтровали, концентрировали, и остаток очищали на колонке с силикагелем (смесь 0-55% этилацетата в гексанах) с получением пика 1, соответствующего 7-бром-8-хлор-3-этил-1H-хиноксалин-2-ону (*промежуточному соединению 25*) (0,319 г, 19%) в виде светло-желтого твердого вещества (¹H ЯМР (500 МГц, метанол-*d*₄) 1,31 (3H, t), 2,89 (2H, q), 7,56-7,67 (2H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 287, 289),

[0168] и пика 2, соответствующего 7-бром-8-хлор-3-этил-3,4-дигидро-1H-хиноксалин-2-ону (*промежуточному соединению 24*) (0,895 г, 53%) в виде желтого масла, которое превратилось в желтое твердое вещество при отстаивании. ¹H ЯМР (500 МГц, хлороформ-*d*) 1,04 (3H, t), 1,75-1,84 (1H, m), 1,85-1,93 (1H, m), 3,89 (1H, dd), 6,51 (1H, d), 7,12 (1H, d), 7,82 (1H, br s). масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 289, 291.

Промежуточное соединение 25. 7-Бром-8-хлор-3-этил-1H-хиноксалин-2-он

[0169] DDQ (772 мг, 3,40 ммоль) добавляли к смеси 7-бром-8-хлор-3-этил-3,4-дигидро-1H-хиноксалин-2-она (*промежуточного соединения 24*) (895 мг, 3,09 ммоль) в 1,4-диоксане (20 мл) при к. т. и полученную суспензию перемешивали при к. т. в течение 3 ч. Результат LCMS указывал на полное превращение. Растворитель удаляли при пониженном давлении и остаток обрабатывали насыщ. раствором NaHCO₃, перемешивали

при к. т. в течение 2 ч. Твердое вещество собирали посредством фильтрации, промывали насыщ. раствором NaHCO_3 , водой и высушивали с получением 7-бром-8-хлор-3-этил-1Н-хиноксалин-2-она (*промежуточного соединения 25*) (780 мг, 88%) в виде грязно-белого твердого вещества. 1Н ЯМР (500 МГц, метанол-*d*4) 1,31 (3Н, t), 2,89 (2Н, q), 7,56-7,67 (2Н, m); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 287, 289$.

Промежуточное соединение 26. 8-Хлор-3-этил-7-винил-1Н-хиноксалин-2-он

[0170] Смесь 7-бром-8-хлор-3-этил-1Н-хиноксалин-2-она (*промежуточного соединения 25*) (1,05 г, 3,65 ммоль), трибутил(винил)станнана (1,737 г, 5,48 ммоль) и $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (0,422 г, 0,37 ммоль) в толуоле (50 мл) перемешивали при 110°C в атмосфере N_2 в течение 2 ч. Результат LCMS указывал на то, что оставалось приблизительно 44% исходного материала. Смесь продолжали перемешивать при данной температуре в течение 4,5 ч и затем при 80°C в течение ночи. Смесь концентрировали, очищали на колонке с силикагелем (элюировали смесью 0-100% этилацетата в гексанах) с получением низкорастворимого требуемого продукта, представляющего собой 8-хлор-3-этил-7-винил-1Н-хиноксалин-2-он (*промежуточное соединение 26*) (0,850 г, 99%), в виде светло-желтого твердого вещества. Масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 235$ (продукт был загрязнен PPh_3O).

Промежуточное соединение 27. 5-Хлор-2-этил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-карбальдегид

[0171] Тетраоксид осмия в H_2O (0,568 мл, 0,07 ммоль) добавляли к раствору 8-хлор-3-этил-7-винил-1Н-хиноксалин-2-она (*промежуточного соединения 26*) (850 мг, 3,62 ммоль), 2,6-лутидина (0,844 мл, 7,24 ммоль) и перйодата натрия (3099 мг, 14,49 ммоль) в смеси THF (50 мл)/вода (10 мл)/трет-бутанол (3,46 мл, 36,22 ммоль) и перемешивали при к. т. в течение ночи с получением желтой суспензии. Реакционную смесь концентрировали, разделяли между водой, насыщ. раствором NH_4Cl и DCM и слои разделяли. Водный слой экстрагировали с помощью DCM и объединенный органический слой высушивали (безводный Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали. Остаток очищали на колонке с силикагелем (элюировали смесью 0-50% этилацетата в гексанах) с получением 5-хлор-2-этил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-карбальдегида (*промежуточного соединения 27*) (808 мг, 94%) в виде светло-желтого твердого вещества. 1Н ЯМР (500 МГц, хлороформ-*d*) 1,34-1,42 (3Н, m), 3,03 (2Н, q), 7,88 (2Н, d), 8,99-9,38 (1Н, m), 10,54 (1Н, s); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 237$.

Промежуточное соединение 28. 8-Хлор-3-этил-7-(гидроксиметил)-1Н-хиноксалин-2-он

[0172] 5-Хлор-2-этил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-карбальдегид (*промежуточное соединение 27*) (808 мг, 3,41 ммоль) в MeOH (30 мл) охлаждали до 0°C и борогидрид натрия (1292 мг, 3,41 ммоль) (10 вес. % на щелочном оксиде алюминия) добавляли одной

порцией. Реакционную смесь продолжали перемешивать при 0°C в течение 40 мин. Результат LCMS указывал на некоторое количество оставшегося исходного материала. К данной смеси добавляли еще 213 мг NaBH₄ (10 вес. %) и перемешивание продолжали при 0°C в течение 10 мин. К смеси добавляли 1 мл воды, концентрировали и остаток очищали на колонке с силикагелем (элюировали смесью 0-25% метанола в DCM) с получением 8-хлор-3-этил-7-(гидроксиметил)-1H-хиноксалин-2-она (*промежуточного соединения 28*) (625 мг, 77%) (загрязненного 26% сверхвосстановленного побочного продукта). 1H ЯМР (500 МГц, метанол-*d*₄) 1,27-1,34 (3H, m), 2,91 (2H, q), 4,79-4,82 (2H, m), 7,54 (1H, d), 7,75 (1H, d); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 239.

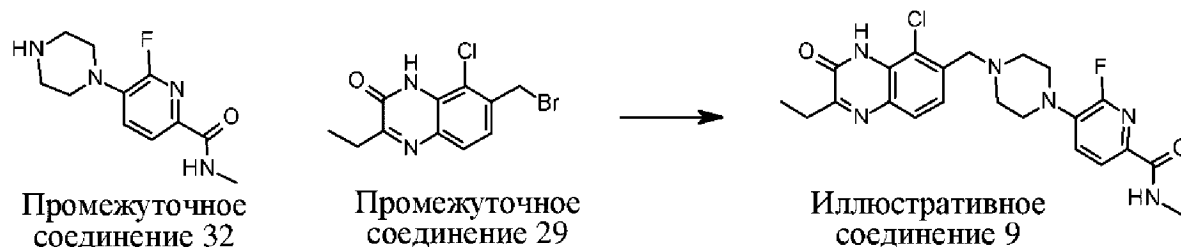
Промежуточное соединение 29. 7-(Бромметил)-8-хлор-3-этил-1H-хиноксалин-2-он

[0173] Тетрабромид углерода (1612 мг, 4,86 ммоль) добавляли одной порцией к раствору 8-хлор-3-этил-7-(гидроксиметил)-1H-хиноксалин-2-она (*промежуточного соединения 28*) (580 мг, 2,43 ммоль) и трифенилфосфина (1275 мг, 4,86 ммоль) в CH₂Cl₂ (40 мл) при 0°C и смесь перемешивали при 0°C в течение 1 ч. Результат LCMS указывал на полное превращение. Растворитель удаляли при пониженном давлении и остаток очищали на колонке с силикагелем (элюировали смесью 0-50% этилацетата в гексанах) с получением чистого 7-(бромметил)-8-хлор-3-этил-1H-хиноксалин-2-она (*промежуточного соединения 29*) (200 мг, 27%) в виде белого твердого вещества. 1H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) 1,22 (3H, t), 2,83 (2H, q), 4,85 (2H, s), 7,51 (1H, d), 7,71 (1H, d), 11,89 (1H, br s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 301, 303.

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

[0174] DIPEA (0,058 мл, 0,33 ммоль) добавляли к перемешиваемой суспензии 7-(бромметил)-8-хлор-3-этил-1H-хиноксалин-2-она (*промежуточного соединения 29*) (25 мг, 0,08 ммоль) и 6-хлор-N-метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамид, 2HCl (*промежуточного соединения 30*) (27,2 мг, 0,08 ммоль) в ацетонитриле (4 мл) и полученную смесь перемешивали при 70°C в течение 1,5 ч с получением суспензии. Результат LCMS указывал на полное превращение. Растворитель удаляли при пониженном давлении и направляли аналитической группе для очистки, которая после очистки получала 6-хлор-5-[4-[(5-хлор-2-этил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид (*иллюстративное соединение 8*) (24,00 мг, 61%) в виде желтого твердого вещества. Условия очистки (ахиральной): колонка (Xbridge C18, 19 мм x 100 мм, 5 мкм, подвижная фаза А: H₂O с 0,2% NH₄OH, pH 10, подвижная фаза В: ацетонитрил; градиент В%: 13-95% В на протяжении 8 мин; скорость потока: 20 мл/мин; концентрация: 35 мг/мл в DMSO; загрузка

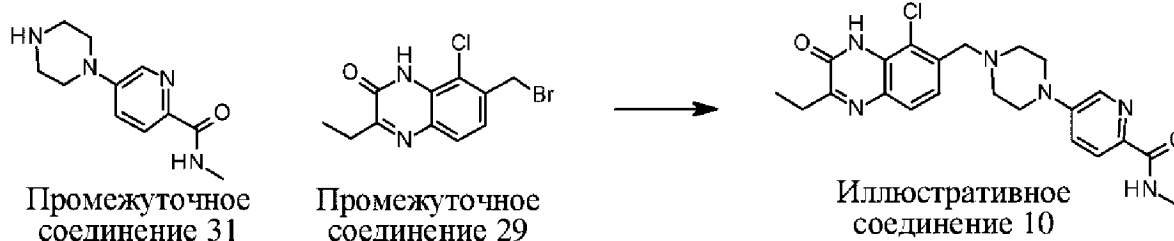
(мг/вводимый объем): 15; температура колонки: комнатная температура. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) 1,23 (3H, t), 2,66 (4H, br s), 2,76-2,92 (5H, m), 3,13 (4H, br s), 3,77 (2H, s), 7,44 (1H, d), 7,69 (2H, dd), 7,94 (1H, d), 8,43 (1H, q), 10,75-11,45 (1H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 475.



Пример 9. 5-[4-[(5-Хлор-2-этил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-фтор-N-метилпиридин-2-карбоксамид

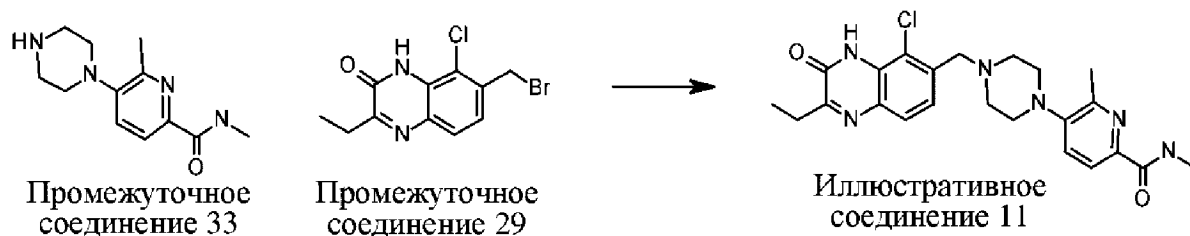
[0175] DIPEA (0,116 мл, 0,66 ммоль) добавляли к перемешиваемой суспензии 6-фтор-N-метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамида, 2HCl (*промежуточного соединения 32*) (51,6 мг, 0,17 ммоль) и 7-(бромметил)-8-хлор-3-этилхиноксалин-2(1H)-она (*промежуточного соединения 29*) (50 мг, 0,17 ммоль) в ацетонитриле (4 мл) и полученную смесь перемешивали при 70°C в течение 1,5 ч. Результат LCMS указывал на полное превращение. Растворитель удаляли при пониженном давлении и остаток очищали на колонке с силикагелем (элюировали смесью 0-20% метанола в DCM) с получением смеси продукта и PPh₃O. Материал направляли аналитической группе для очистки, которая после очистки получала 5-[4-[(5-хлор-2-этил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-фтор-N-метилпиридин-2-карбоксамид (*иллюстративное соединение 9*) (47,0 мг, 62%) в виде желтого твердого вещества. Условия очистки (ахиральной): колонка (Xbridge C18, 19 мм x 100 мм, 5 мкм, подвижная фаза А: H₂O с 0,2% NH₄OH, pH 10, подвижная фаза В: ацетонитрил; градиент В%: 13-95% В на протяжении 8 мин; скорость потока: 20 мл/мин; концентрация: 35 мг/мл в DMSO; загрузка (мг/вводимый объем): 15; температура колонки: комнатная температура.

[0176] ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) 1,22 (3H, t), 2,63 (4H, br s), 2,76 (3H, d), 2,82 (2H, q), 3,19 (4H, br s), 3,75 (2H, s), 7,43 (1H, d), 7,52-7,64 (1H, m), 7,70 (1H, d), 7,84 (1H, d), 8,39 (1H, q), 11,17-11,55 (1H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 459.



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

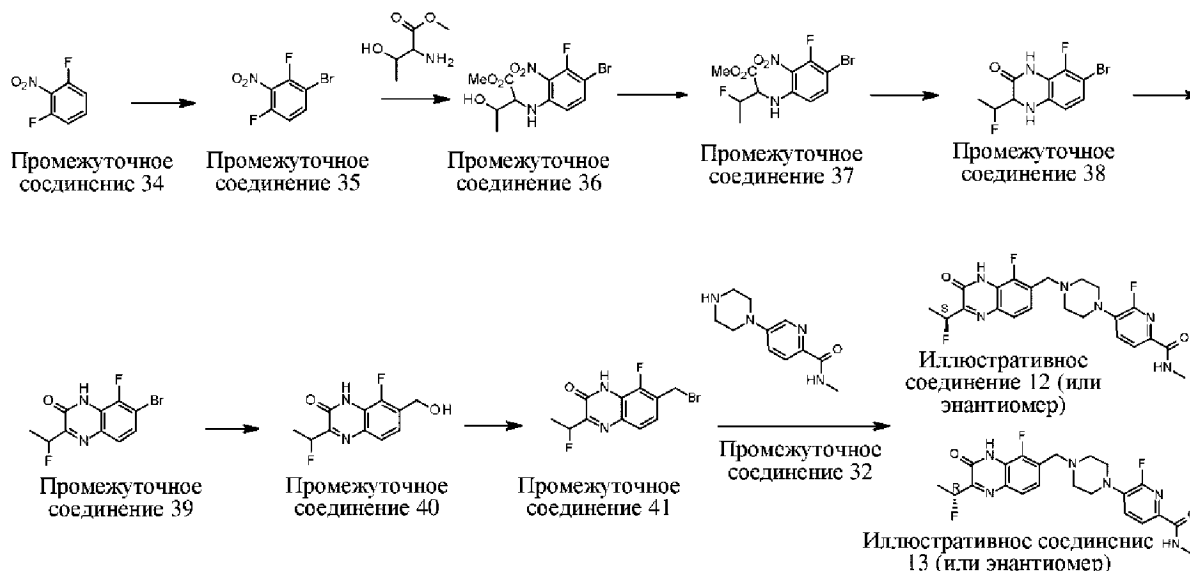
[0177] DIPEA (0,081 мл, 0,46 ммоль) добавляли к перемешиваемой суспензии N-метил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамида, 2HCl (**промежуточного соединения 31**) (34,0 мг, 0,12 ммоль) и 7-(бромметил)-8-хлор-3-этилхиноксалин-2(1H)-она (**промежуточного соединения 29**) (35 мг, 0,12 ммоль) в ацетонитриле (4 мл) и полученную смесь перемешивали при 70°C в течение 1,5 ч. Результат LCMS указывал на полное превращение. Растворитель удаляли при пониженном давлении и полученный остаток направляли аналитической группе для очистки, которая после очистки получала 5-[4-[(5-хлор-2-этил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид (**иллюстративное соединение 10**) (13,00 мг, 20%) в виде белого твердого вещества. Условия очистки (ахиральной): колонка (Xbridge C18, 19 мм x 100 мм, 5 мкм, подвижная фаза А: H₂O с 0,2% NH₄OH, pH 10, подвижная фаза В: ацетонитрил; градиент В%: 13-95% В на протяжении 8 мин; скорость потока: 20 мл/мин; концентрация: 35 мг/мл в DMSO; загрузка (мг/вводимый объем): 15; температура колонки: комнатная температура. 1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) 1,24 (3H, t), 2,79 (3H, d), 2,86 (2H, q), 3,22-3,37 (8H, m, сливался с пиком, соответствующим воде), 4,39-4,65 (2H, m), 7,46 (1H, dd), 7,57 (1H, br d), 7,79-7,90 (2H, m), 8,32 (1H, d), 8,43 (1H, br d), 11,87-12,21 (1H, m). Масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 441.



Пример 11. 5-[4-[(5-Хлор-2-этил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамид

[0178] DIPEA (0,111 мл, 0,64 ммоль) добавляли к перемешиваемой суспензии N,6-диметил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамид, 2HCl (**промежуточного соединения 33**) (48,9 мг, 0,16 ммоль) и 7-(бромметил)-8-хлор-3-этил-1H-хиноксалин-2-она (**промежуточного соединения 29**) (48 мг, 0,16 ммоль) в ацетонитриле (10 мл) и полученную смесь перемешивали при 70°C в течение 2 ч с получением суспензии. Результат LCMS указывал на полное превращение. Смесь охлаждали до к. т., твердое вещество собирали посредством фильтрации, промывали водой и высушивали с получением 5-[4-[(5-хлор-2-этил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамид (**иллюстративного соединения 11**) (42,0 мг, 58%) в

виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) 1,22 (3H, t), 2,65 (4H, br s), 2,78-2,88 (5H, m), 2,95 (4H, br s), 3,38 (3H, s, перекрывался с пиком, соответствующим воде), 3,76 (2H, s), 7,47 (2H, dd), 7,71 (1H, d), 7,79 (1H, d), 8,42 (1H, br d), 11,59-11,99 (1H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 455.



Промежуточное соединение 35. 1-Бром-2,4-дифтор-3-нитробензол

[0179] Смесь 1,3-дифтор-2-нитробензола (*промежуточного соединения 34*) (19,5 г, 122,57 ммоль) и NBS (26,2 г, 147,08 ммоль) в серной кислоте (150 мл) перемешивали при 80°C в течение ночи. Результат LCMS указывал на полное превращение. Смесь охлаждали до к. т. и медленно выливали на лед. Данную смесь экстрагировали этилацетатом (200 мл), органический слой промывали водой (50 мл x 2), насыщ. раствором NaHCO₃ (50 мл x 2), соевым раствором, высушивали (безводный Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали. Остаток очищали на колонке с силикагелем (элюировали смесью 0-20% этилацетата в гексанах) с получением 1-бром-2,4-дифтор-3-нитробензола (*промежуточного соединения 35*) (26,8 г, 92%) в виде светло-желтого масла. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) 7,42-7,73 (1H, m), 8,06-8,26 (1H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 238.

Промежуточное соединение 36. Метил-2-(4-бром-3-фтор-2-нитроанилино)-3-гидроксипуаноат

[0180] DIPEA (8,56 мл, 48,99 ммоль) медленно добавляли к перемешиваемому раствору 1-бром-2,4-дифтор-3-нитробензола (*промежуточного соединения 35*) (5,3 г, 22,27 ммоль) и метил-2-амино-3-гидроксипуаноата, HCl (4,53 г, 26,72 ммоль) в 1,4-диоксане (50 мл) при к. т. и полученную смесь перемешивали при 40°C в течение 3 ч. Результат LCMS указывал на некоторое количество оставшегося исходного материала. К смеси добавляли 800 мг соли HCl сложного метилового эфира DL-треонина и затем смесь

продолжали перемешивать при 40°C в течение ночи. Растворитель удаляли при пониженном давлении и остаток очищали на колонке с силикагелем (элюировали смесью 0-30% этилацетата в гексанах) с получением метил-2-(4-бром-3-фтор-2-нитроанилино)-3-гидроксипропаноата (*промежуточного соединения 36*) (4,69 г, 60%) в виде ярко-оранжевого твердого вещества. (Результат Н ЯМР указывал на наличие смеси диастереомеров). ¹H ЯМР (500 МГц, хлороформ-*d*) 1,30-1,44 (3H, m), 3,81 (3H, s), 4,00-4,22 (1H, m), 4,22-4,48 (1H, m), 6,32-6,68 (1H, m), 7,40-7,66 (2H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 351, 353.

Промежуточное соединение 37. Метил-2-(4-бром-3-фтор-2-нитроанилино)-3-фторпропаноат

[0181] DAST (0,919 мл, 6,95 ммоль) на протяжении 10 мин медленно добавляли к смеси метил-2-(4-бром-3-фтор-2-нитроанилино)-3-гидроксипропаноата (*промежуточного соединения 36*) (2,22 г, 6,32 ммоль) в CH₂Cl₂ (40 мл) при 0°C, смесь перемешивали при 0°C в течение 20 мин. Результаты LCMS и TLC демонстрировали оставшийся исходный материал. К смеси добавляли 0,4 мл DAST и реакционную смесь перемешивали еще 10 мин. Смесь гасили насыщ. раствором NaHCO₃ и экстрагировали с помощью DCM. Органический слой высушивали (безводный Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали с получением желтого масла. Полученный остаток очищали на колонке с силикагелем (элюировали смесью 0-30% этилацетата в гексанах) с получением пика 2, соответствующего метил-2-(4-бром-3-фтор-2-нитроанилино)-3-фторпропаноату (1,110 г, 50%) (*промежуточному соединению 37*) в виде желтого масла, и пика 4, соответствующего исходному материалу, представляющему собой метил-2-((4-бром-3-фтор-2-нитрофенил)амино)-3-гидроксипропаноат (0,300 г, 13%), наряду с другим побочным продуктом. ¹H ЯМР (500 МГц, хлороформ-*d*) 1,37-1,51 (3H, m), 2,80-2,93 (0,5H, m), 3,00 (0,5H, br d), 3,75 (1,5H, s), 3,85 (1,5H, s), 4,40-4,56 (0,5H, m), 5,01-5,23 (0,5H, m), 6,43-6,58 (0,5H, m), 6,71-6,74 (0,5H, m), 7,38-7,69 (2H, m). Масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 353.

Промежуточное соединение 38. 7-Бром-8-фтор-3-(1-фторэтил)-3,4-дигидро-1H-хиноксалин-2-он

[0182] К смеси метил-2-(4-бром-3-фтор-2-нитроанилино)-3-фторпропаноата (*промежуточного соединения 37*) (1,11 г, 3,14 ммоль), цинка (2,466 г, 37,72 ммоль) и хлорида аммония (3,36 г, 62,87 ммоль) в MeOH (20 мл) добавляли воду (2 мл) и смесь перемешивали при к. т. в течение 10 мин. Оранжевое окрашивание исчезало (экзотермическая реакция), и результат LCMS демонстрировал полное превращение. Смесь фильтровали, твердое вещество промывали метанолом и фильтрат концентрировали. Полученный остаток растворяли в DCM и органический слой

промывали водой, высушивали (безводный Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали с получением неочищенного продукта. Остаток очищали на колонке с силикагелем (смесь 0-30% этилацетата в гексанах) с получением метил-2-((2-амино-4-бром-3-фторфенил)амино)-3-фторбутаноата (0,533 г, 52%) в виде светло-желтого твердого вещества.

[0183] Вышеуказанное желтое твердое вещество растворяли в 15 мл метанола, добавляли 0,5 л 1 М раствора HCl в метаноле и реакционную смесь перемешивали при к. т. в течение 4 ч. Результат LCMS указывал на полное превращение. Растворитель удаляли и остаток разбавляли смесью DCM /метанол (5:1). Органический слой промывали один раз 50% раствором NaHCO_3 , высушивали (безводный Na_2SO_4) и концентрировали. Остаток очищали на колонке с силикагелем (элюировали смесью 0-31% этилацетата в гексанах) с получением 7-бром-8-фтор-3-(1-фторэтил)-3,4-дигидро-1H-хиноксалин-2-она (*промежуточного соединения 38*) (0,337 г, 37%) в виде белого твердого вещества. ^1H ЯМР (500 МГц, метанол-*d*4) 1,27-1,46 (3H, m), 4,26 (1H, dd), 4,90-5,12 (1H, m), 6,50 (1H, dd), 6,97 (1H, dd). Масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 291, 293$.

Промежуточное соединение 39. 7-Бром-8-фтор-3-(1-фторэтил)-1H-хиноксалин-2-он

[0184] DDQ (289 мг, 1,27 ммоль) добавляли к взвеси 7-бром-8-фтор-3-(1-фторэтил)-3,4-дигидро-1H-хиноксалин-2-она (*промежуточного соединения 38*) (337 мг, 1,16 ммоль) в CH_2Cl_2 (10 мл) и смесь перемешивали при к. т. в течение 2 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении, остаток разбавляли насыщ. раствором NaHCO_3 (приблизительно 20 мл) и суспензию перемешивали при к. т. в течение 3 ч. Твердое вещество собирали посредством фильтрации, промывали водой и высушивали с получением 7-бром-8-фтор-3-(1-фторэтил)-1H-хиноксалин-2-она (*промежуточного соединения 39*) (333 мг, 100%) в виде белого твердого вещества. ^1H ЯМР (500 МГц, метанол-*d*4) 1,65-1,84 (3H, m), 5,87-6,18 (1H, m), 7,50-7,60 (1H, m), 7,61-7,78 (1H, m). Масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 289, 291$.

Промежуточное соединение 40. 8-Фтор-3-(1-фторэтил)-7-(гидроксиметил)-1H-хиноксалин-2-он

[0185] Смесь катализатора Pd-PEPPSI™-IPent (26 мг, 0,03 ммоль), (трибутилстаннил)метанола (1638 мг, 5,10 ммоль) и 7-бром-8-фтор-3-(1-фторэтил)-1H-хиноксалин-2-она (*промежуточного соединения 39*) (590 мг, 2,04 ммоль) в 1,4-диоксане (25 мл) дегазировали, повторно заполняли N_2 и смесь перемешивали при 80°C в течение 17 ч. Смесь концентрировали и остаток очищали на колонке с силикагелем (элюировали смесью 0-50% этилацетата в гексанах (с удалением оставшегося SM) с последующим элюированием смесью 0-20% метанола в DCM) с получением 8-фтор-3-(1-фторэтил)-7-

(гидроксиметил)-1H-хиноксалин-2-она (*промежуточного соединения 40*) (282 мг, 57%). 1H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*6) 1,58-1,81 (3H, m), 4,67 (2H, br d), 5,46 (1H, br t), 5,87-6,24 (1H, m), 7,33-7,48 (1H, m), 7,65 (1H, br d), 12,65-12,83 (1H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 241.

Промежуточное соединение 41. 7-(Бромметил)-8-фтор-3-(1-фторэтил)-1H-хиноксалин-2-он

[0186] Суспензию трифенилфосфина (1223 мг, 4,66 ммоль) и 8-фтор-3-(1-фторэтил)-7-(гидроксиметил)-1H-хиноксалин-2-она (280 мг, 1,17 ммоль) (*промежуточного соединения 40*) в CH₂Cl₂ (15 мл) охлаждали до 0°C, добавляли тетрабромид углерода (1546 мг, 4,66 ммоль), смесь немедленно становилась прозрачной и пурпурного цвета, смесь продолжали перемешивать при данной температуре в течение 10 мин, смесь превращалась в желтый раствор, контролировали посредством LCMS, результат которой указывал на полное превращение (не очень чистое), смесь концентрировали, очищали на колонке с силикагелем (элюировали смесью 0-20% метанола в DCM) с получением основного пика, соответствующего 7-(бромметил)-8-фтор-3-(1-фторэтил)-1H-хиноксалин-2-ону (*промежуточному соединению 41*), которое было загрязнено некоторыми примесями. Концентрировали с получением 2,5 г твердого вещества (теоретическая масса составляла 353 мг, предполагали 100% выход с переносом на следующую стадию). Масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 303, 305.

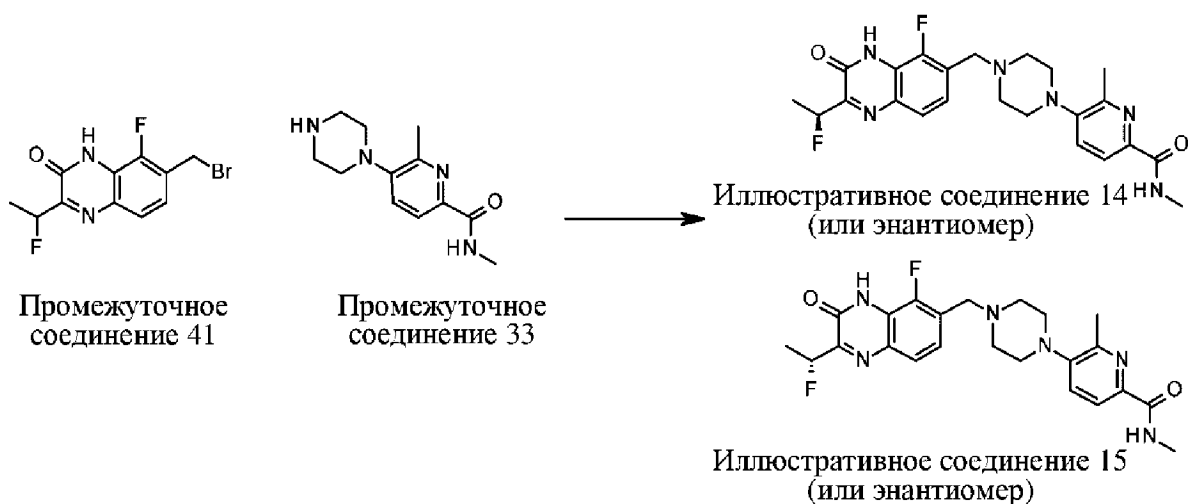
Пример 12 и пример 13. 6-Фтор-5-[4-[[5-фтор-2-[(1S и 1R)-1-фторэтил]-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид

[0187] DIPEA (0,265 мл, 1,52 ммоль) добавляли к смеси 7-(бромметил)-8-фтор-3-(1-фторэтил)-1H-хиноксалин-2-она (*промежуточного соединения 41*) (115 мг, 0,38 ммоль) и 6-фтор-N-метил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамида, 2HCl (94 мг, 0,30 ммоль) (*промежуточного соединения 32*) в ацетонитриле (20 мл) и полученную смесь перемешивали при 70°C в течение 1 ч. Результат LCMS указывал на полное превращение. Смесь концентрировали, остаток растворяли в DMSO (приблизительно 4 мл) и очищали на колонке C18 с обращенной фазой (элюировали смесью 0-100% ACN/вода/0,1% TFA). Продукт, содержащий фракции, объединяли и лиофилизировали до сухого состояния. Материал повторно очищали с помощью Gilson (элюировали смесью 0-80% ACN/вода/0,1% TFA) с получением продукта, представляющего собой 6-фтор-5-[4-[[5-фтор-2-[(1S и 1R)-1-фторэтил]-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид. Энантимеры разделяли с помощью хиральной колонки. Условия хиральной очистки: информация о колонке: chiralpak, OD 4,6 мм x 100 мм, 5 мкм, подвижная фаза А: CO₂ (100%), подвижная фаза В: метанол с 0,2% NH₄OH,

изократический режим, 25% В на протяжении 6 мин, скорость потока: 4,0 мл/мин, разбавитель: метанол, температура колонки: комнатная температура, давление на выходе (SFC): N/A.

[0188] **Пик 1.** Белое твердое вещество разбавляли водой и ACN, добавляли 0,1 мл водн. 0,5 М раствора HCl и смесь лиофилизировали до сухого состояния с получением изомера 1, представляющего собой 6-фтор-5-[4-[[5-фтор-2-[(1S ИЛИ 1R)-1-фторэтил]-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид, в виде соли HCl (*иллюстративное соединение 12*, абсолютная стереохимия не определена) (5,42 мг, 10,90 мкмоль, 3%) в виде соли HCl, в виде желтого твердого вещества. 1H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) 1,54-1,73 (3H, m), 2,70-2,87 (3H, m), 3,53-3,90 (8H, m), 4,57 (2H, br s), 5,79-6,21 (1H, m), 7,59-7,81 (3H, m), 7,87 (1H, d), 8,43 (1H, br d), 11,40-11,85 (1H, m), 12,78-13,14 (1H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 461, >95% ee.

[0189] **Пик 2.** Белое твердое вещество разбавляли водой и ACN, добавляли 0,1 мл водн. 0,5 М раствора HCl и смесь лиофилизировали до сухого состояния с получением изомера 2, представляющего собой 6-фтор-5-[4-[[5-фтор-2-[(1S ИЛИ 1R)-1-фторэтил]-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид, в виде соли HCl (*иллюстративное соединение 13*, абсолютная стереохимия не определена). 1H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) 1,49-1,83 (3H, m), 2,77 (3H, br d), 3,46-3,91 (8H, m), 4,56 (2H, br s), 5,80-6,26 (1H, m), 7,52-7,80 (3H, m), 7,87 (1H, br d), 8,43 (1H, br d), 11,44-11,82 (1H, m), 12,77-13,24 (1H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 461, >95% ee.



Пример 14 и пример 15. 5-[4-[[5-Фтор-2-[(1S и 1R)-1-фторэтил]-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамид

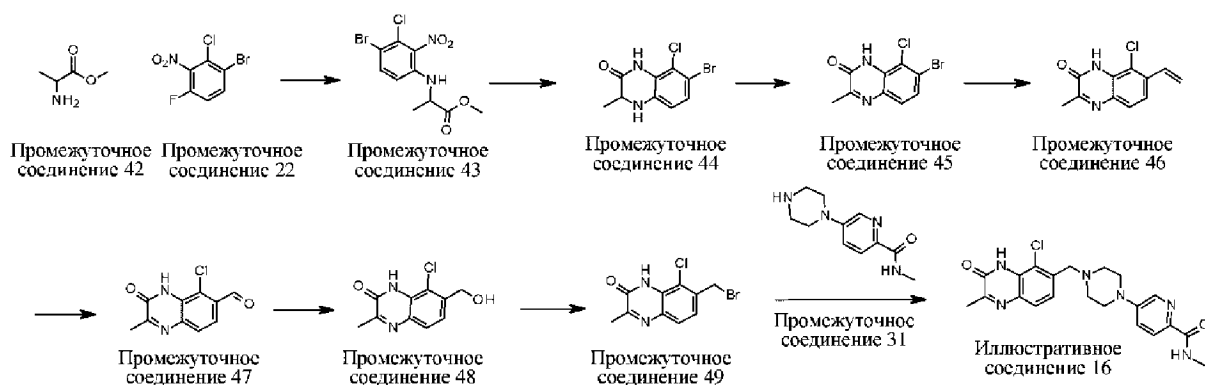
[0190] К суспензии 7-(бромметил)-8-фтор-3-(1-фторэтил)хиноксалин-2(1H)-она (*промежуточного соединения 41*) (138 мг, 0,41 ммоль) и N,6-диметил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамида, 2HCl (126 мг, 0,41 ммоль) (*промежуточного соединения 33*) в

ацетонитриле (13 мл) добавляли DIPEA (429 мкл, 2,46 ммоль) и полученную смесь перемешивали при 70°C в течение 3 ч. Результат LCMS указывал на полное превращение. Реакционную смесь концентрировали и остаток очищали на колонке с силикагелем (элюировали смесью 0-20% метанола в DCM) с получением рацемического продукта, представляющего собой 5-[4-[[5-фтор-2-[(1S/1R)-1-фторэтил]-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамид, в виде светло-желтого твердого вещества (169 мг). Энантиомеры разделяли посредством хирального разделения. Условия хиральной очистки: информация о колонке: chiralpak, OD 21,2 мм x 250мм, 5 мкм, подвижная фаза А: CO₂ (100%), подвижная фаза В: метанол с 0,2% NH₄OH, изократический режим: 25% В на протяжении 12 мин, скорость потока: 70,0 мл/мин, концентрация: 8,45 мг/мл в метаноле, загрузка: 4,23 мг/вводимый объем, температура колонки: комнатная температура, давление на выходе (SFC): N/A.

[0191] После хирального разделения каждый изомер повторно очищали на колонке с обращенной фазой (элюировали смесью 0-60% ACN/вода/0,2% гидроксид аммония) с получением

[0192] **пика 1**, соответствующего 5-[4-[[5-фтор-2-[(1S OR 1R)-1-фторэтил]-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамиду, изомеру 1 (*иллюстративному соединению 14*, абсолютная стереохимия не определена) (30,7 мг, 0,067 ммоль, 16%) в виде белого твердого вещества; 1Н ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) 1,40-1,70 (3H, m), 2,48 (3H, s), 2,54-2,69 (4H, m), 2,79 (3H, d), 2,94 (4H, br s), 3,74 (2H, s), 5,83-6,22 (1H, m), 7,17-7,41 (1H, m), 7,47 (1H, d), 7,65 (1H, d), 7,78 (1H, d), 8,40 (1H, br d), 11,65-12,88 (1H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 457; >98% ee;

[0193] **пика 2**, соответствующего 5-[4-[[5-фтор-2-[(1S ИЛИ 1R)-1-фторэтил]-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамиду, изомеру 2 (*иллюстративному соединению 15*, абсолютная стереохимия не определена) (37 мг, 0,081 ммоль, 20%) в виде белого твердого вещества; 1Н ЯМР (500 МГц, хлороформ-*d*) 1,68-1,88 (3H, m), 2,51 (3H, s), 2,71 (4H, br s), 2,86-3,12 (7H, m), 3,81 (2H, s), 5,92-6,29 (1H, m), 7,34 (1H, d), 7,44 (1H, t), 7,76 (1H, d), 7,95 (1H, br d), 7,99 (1H, d), 10,24 (1H, br s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 457; 94,5% ee.



Промежуточное соединение 43. Метил-2-(4-бром-3-хлор-2-нитроанилино)пропаноат

[0194] В колбу загружали метилаланинат, HCl (*промежуточное соединение 42*) (1,851 г, 13,26 ммоль) и 1-бром-2-хлор-4-фтор-3-нитробензол (*промежуточное соединение 22*) (2,25 г, 8,84 ммоль) в 1,4-диоксане (70 мл). Добавляли DIPEA (9,27 мл, 53,06 ммоль) и смесь перемешивали при 105°C в течение 24 ч с получением коричневого раствора. Результат LCMS демонстрировал завершение реакции. Смесь концентрировали и остаток очищали на колонке с силикагелем (элюировали смесью 0-30% этилацетата в гексанах) с получением метил-2-(4-бром-3-хлор-2-нитроанилино)пропаноата (*промежуточного соединения 43*) (2,120 г, 71%) в виде ярко-желтого масла, превратившегося в желтое твердое вещество после отстаивания. ¹H ЯМР (500 МГц, хлороформ-*d*) 1,52 (3H, d), 3,77 (3H, s), 6,53 (1H, d), 7,15 (1H, t), 7,53 (1H, d), 7,78 (1H, dd); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 337.

Промежуточное соединение 44. 7-Бром-8-хлор-3-метил-3,4-дигидро-1H-хиноксалин-2-он

[0195] Дитионит натрия (3,28 г, 18,84 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору метил-2-(4-бром-3-хлор-2-нитроанилино)пропаноата (*промежуточного соединения 43*) (2,12 г, 6,28 ммоль) в DMSO (50 мл) и смесь перемешивали при 120°C в течение 5 ч. Результаты LCMS и TLC указывали на полное превращение. Смесь гасили водой и экстрагировали этилацетатом (50 мл x 2). Органический слой высушивали (безводный Na₂SO₄), фильтровали, концентрировали и остаток очищали на колонке с силикагелем (смесь 0-55% этилацетата в гексанах) с получением 7-бром-8-хлор-3-метил-1H-хиноксалин-2-она (*промежуточного соединения 45*) (0,055 г, 3%), масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 273, 275, и 7-бром-8-хлор-3-метил-3,4-дигидро-1H-хиноксалин-2-она (*промежуточного соединения 44*) (0,190 г, 11%). масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 275, 277.

Промежуточное соединение 45. 7-Бром-8-хлор-3-метил-1H-хиноксалин-2-он

[0196] DDQ (157 мг, 0,69 ммоль) добавляли к смеси 7-бром-8-хлор-3-метил-3,4-дигидро-1H-хиноксалин-2-она (*промежуточного соединения 44*) (190 мг, 0,69 ммоль) в 1,4-диоксане (10 мл) и полученную смесь перемешивали при к. т. в течение ночи,

результат LCMS указывал на полное превращение. Смесь концентрировали и остаток обрабатывали насыщ. раствором NaHCO_3 . Смесь перемешивали при к. т. в течение 4, твердое вещество выделяли посредством фильтрации, промывали насыщ. раствором NaHCO_3 и водой. Затем твердое вещество очищали на колонке с силикагелем (элюировали смесью 0-20% метанола в DCM) с получением 7-бром-8-хлор-3-метил-1H-хиноксалин-2-она (*промежуточного соединения 45*) (122 мг, 65%) в виде желтого твердого вещества. Масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 273, 275$.

Промежуточное соединение 46. 8-Хлор-3-метил-7-винил-1H-хиноксалин-2-он

[0197] Смесь 7-бром-8-хлор-3-метил-1H-хиноксалин-2-она (*промежуточного соединения 45*) (122 мг, 0,45 ммоль), тетраakis(трифенилфосфин)палладия(0) (51,5 мг, 0,04 ммоль) и трибутил(винил)станнана (212 мг, 0,67 ммоль) в толуоле (15 мл) перемешивали при 110°C в атмосфере N_2 в течение 16 ч. Результат LCMS указывал на завершение реакции. Смесь концентрировали и остаток очищали на колонке с силикагелем (элюировали смесью 0-16% метанола в DCM) с получением 8-хлор-3-метил-7-винил-1H-хиноксалин-2-она (*промежуточного соединения 46*) (98 мг, 100%) в виде коричневого твердого вещества (загрязненного PPh_3O). Масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 221$.

Промежуточное соединение 47. 5-Хлор-2-метил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-карбальдегид

[0198] Тетраоксид осмия в H_2O (0,1 мл, 0,01 ммоль) добавляли к раствору 8-хлор-3-метил-7-винил-1H-хиноксалин-2-она (140 мг, 0,63 ммоль) (*промежуточного соединения 46*), 2,6-лутидина (0,148 мл, 1,27 ммоль) и перйодата натрия (543 мг, 2,54 ммоль) в смеси THF (10 мл)/вода (2 мл)/трет-бутанол (0,607 мл, 6,34 ммоль) и перемешивали при к. т. в течение ночи с получением желтой суспензии. Результаты LCMS и TLC указывали на то, что еще оставался исходный материал. К смеси добавляли смесь THF (10 мл)/вода (2,000 мл), 200 мг перйодата натрия, 0,3 мл тетраоксида осмия и смесь продолжали перемешивать при к. т. в течение 5 ч. Результат LCMS указывал на полное превращение. Реакционную смесь разбавляли водой, добавляли насыщ. раствор NH_4Cl и экстрагировали с помощью DCM. Объединенный органический слой высушивали (безводный Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали. Остаток очищали на колонке с силикагелем (элюировали смесью 0-20% метанола в DCM) с получением 5-хлор-2-метил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-карбальдегида (*промежуточного соединения 47*) (141 мг, 100%) в виде желтого твердого вещества (не очень чистого, переносили на следующую стадию). Масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 223$.

Промежуточное соединение 48. 8-Хлор-7-(гидроксиметил)-3-метил-1H-хиноксалин-2-он

[0199] Боргидрид натрия (23,96 мг, 0,63 ммоль) добавляли к охлажденному раствору 5-хлор-2-метил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-карбальдегида (*промежуточного*

соединения 47) (141 мг, 0,63 ммоль) в смеси MeOH (16 мл) и DCM (8,00 мл), охлаждали до 0°C и смесь продолжали перемешивать при 0°C в течение 1 ч. Результат LCMS указывал на полное превращение. К смеси добавляли 1 мл воды, концентрировали и остаток очищали на колонке с силикагелем (элюировали смесью 40-100% этилацетата в гексанах; затем смесью 0-20% метанола в DCM) с получением 8-хлор-7-(гидроксиметил)-3-метил-1H-хиноксалин-2-она (*промежуточного соединения 48*) (142 мг, 100%) в виде желтого твердого вещества; 1H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*6) 2,42 (3H, s), 4,65 (2H, br d), 5,53 (1H, br t), 7,46 (1H, br d), 7,69 (1H, br d), 11,77 (1H, br s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 225.

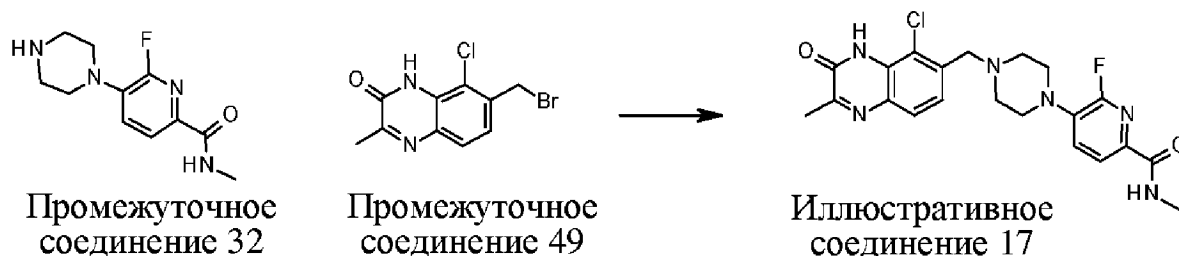
Промежуточное соединение 49. 7-(Бромметил)-8-хлор-3-метил-1H-хиноксалин-2-он

[0200] 8-Хлор-7-(гидроксиметил)-3-метил-1H-хиноксалин-2-он (*промежуточное соединение 48*) (142 мг, 0,63 ммоль) и трифенилфосфин (332 мг, 1,26 ммоль) в CH₂Cl₂ (20 мл) охлаждали до 0°C. Пербромметан (419 мг, 1,26 ммоль) добавляли одной порцией и смесь перемешивали при 0°C в течение 1 ч и при к. т. в течение 2 ч. Результат LCMS указывал на отсутствие протекания реакции. К смеси добавляли вторую порцию трифенилфосфина (332 мг, 1,26 ммоль) и пербромметана (419 мг, 1,26 ммоль) при к. т. и смесь перемешивали в течение 1 ч. Результат LCMS указывал на полное превращение. Растворитель удаляли при пониженном давлении и остаток очищали на колонке с силикагелем (элюировали смесью 0-100% этилацетата в гексанах) с получением продукта, представляющего собой 7-(бромметил)-8-хлор-3-метил-1H-хиноксалин-2-он, в виде желтого твердого вещества (*промежуточного соединения 49*) (32 мг, 18%). Посредством дополнительного элюирования смесью 20% метанола в DCM получали вторую порцию продукта массой 100 мг (55%) в виде коричневого твердого вещества (чистота 47%). Масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 287, 289.

Пример 16. 5-[4-[(5-Хлор-2-метил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид

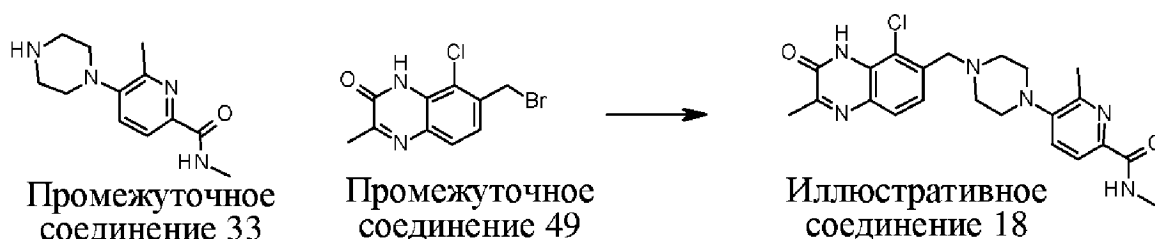
[0201] DIPEA (0,053 мл, 0,31 ммоль) добавляли к смеси N-метил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамида, 2HCl (22,43 мг, 0,08 ммоль) (*промежуточного соединения 31*) и 7-(бромметил)-8-хлор-3-метил-1H-хиноксалин-2-она (*промежуточного соединения 49*) (22 мг, 0,08 ммоль) в ацетонитриле (4 мл) и полученную суспензию перемешивали при 70°C в течение 1 ч. Результат LCMS указывал на полное превращение. Смесь концентрировали, остаток растворяли в DMSO и очищали на колонке C18 с обращенной фазой (элюировали смесью 0-100% ACN/вода/0,1% TFA). Фракции, содержащие чистый продукт, лиофилизировали до сухого состояния с получением 5-[4-[(5-хлор-2-метил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид (20 мг, 56%). Добавляли 1 мл 2 M раствора HCl в эфире и растворитель удаляли под

вакуумом с получением соответствующей соли HCl в виде желтого твердого вещества (*иллюстративного соединения 16*). ¹H ЯМР (500 МГц, метанол-*d*4) 2,96-3,03 (3H, m), 3,48-3,86 (6H, m), 4,04-4,41 (2H, m), 4,78 (2H, s), 4,86 (3H, d, сливался с пиком, соответствующим воде), 7,74 (1H, d), 7,84 (1H, d), 8,14 (1H, dd), 8,31 (1H, d), 8,47 (1H, d); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 427.



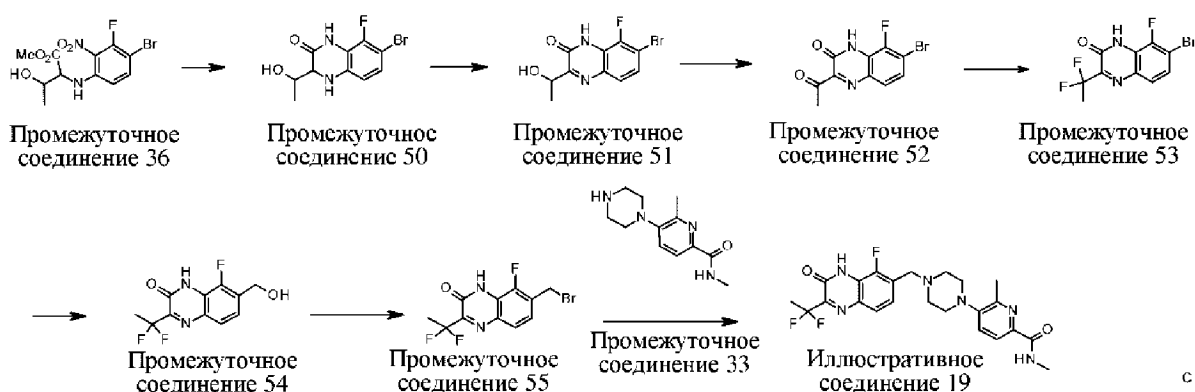
Пример 17. 5-[4-[(5-Хлор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-фтор-N-метилтиридин-2-карбоксамид

[0202] DIPEA (0,061 мл, 0,35 ммоль) добавляли к смеси 6-фтор-N-метил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамида, 2HCl (*промежуточного соединения 32*) (27,1 мг, 0,09 ммоль) и 7-(бромметил)-8-хлор-3-метил-1Н-хиноксалин-2-она (*промежуточного соединения 49*) (50 мг, 0,09 ммоль) (чистота около 50%) в ацетонитриле (5 мл) и полученный раствор перемешивали при 70°C в течение 1 ч. Результат LCMS указывал на полное превращение. Смесь концентрировали и остаток растворяли в DMSO и очищали на колонке C18 с обращенной фазой (элюировали смесью 0-100% ACN/вода/0,1% TFA), затем очищали второй раз на колонке с обращенной фазой C18 (элюировали смесью 0-100% ACN/вода/0,1% TFA). Материал в завершение очищали третий раз на колонке с обращенной фазой (элюировали смесью 0-100% ACN/вода/гидроксид аммония, pH приблизительно 10) с получением 5-[4-[(5-хлор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-фтор-N-метилпиридин-2-карбоксамид (*иллюстративного соединения 17*) (16,50 мг, 43%) в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*6) 2,37-2,47 (3H, m), 2,63 (4H, br s), 2,76 (3H, d), 3,13-3,23 (4H, m), 3,74 (2H, s), 7,45 (1H, d), 7,57 (1H, dd), 7,68 (1H, d), 7,84 (1H, d), 8,39 (1H, br d), 10,71-12,11 (1H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 445.



Пример 18. 5-[4-[(5-Хлор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилтиридин-2-карбоксамид

[0203] DIPEA (0,061 мл, 0,35 ммоль) добавляли к смеси N,6-диметил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамида, 2HCl (**промежуточного соединения 33**) (26,7 мг, 0,09 ммоль) и 7-(бромметил)-8-хлор-3-метил-1H-хиноксалин-2-она (50 мг, 0,09 ммоль) (**промежуточного соединения 49**, чистота приблизительно 50%) в ацетонитриле (5 мл) и полученный раствор перемешивали при 70°C в течение 1 ч. Результат LCMS указывал на полное превращение. Смесь концентрировали, остаток растворяли в DMSO и остаток очищали на колонке C18 с обращенной фазой (элюировали смесью 0-100% ACN/вода/0,1% TFA). После концентрирования фракции остаток повторно очищали на колонке C18 с обращенной фазой (элюировали смесью 0-100% ACN/вода/гидроксид аммония, pH приблизительно 10). Чистые фракции лиофилизировали до сухого состояния с получением 5-[4-[(5-хлор-2-метил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамид (**иллюстративного соединения 18**) (18,4 мг, 48%) в виде свободного основания. ¹H ЯМР (500 МГц, метанол-*d*4) 2,53 (6H, d), 2,76 (4H, br s), 2,94 (3H, s), 3,04 (4H, br t), 3,86 (2H, s), 7,48 (1H, d), 7,51-7,60 (1H, m), 7,69 (1H, d), 7,86 (1H, d); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 441.



Промежуточное соединение 50. 7-Бром-8-фтор-3-(1-гидроксиэтил)-3,4-дигидро-1H-хиноксалин-2-он

[0204] Хлорид аммония (6,70 г, 125,31 ммоль) добавляли к суспензии метил-2-((4-бром-3-фтор-2-нитрофенил)амино)-3-гидроксибутаноата (**промежуточного соединения 36**) (4,4 г, 12,53 ммоль) и цинка (8,19 г, 125,31 ммоль) в MeOH (65 мл) при 0°C. К данной смеси добавляли воду (2 мл) и смесь перемешивали при 0°C в течение 60 мин. Оранжевое окрашивание исчезало, что указывало на полное превращение, результат LCMS указывал на завершение реакции. Смесь фильтровали, промывали метанолом и фильтрат концентрировали. Остаток разбавляли смесью этилацетат/метанол (10/1), органический слой промывали водой (приблизительно 20 мл), солевым раствором, высушивали (безводный Na₂SO₄), концентрировали с получением промежуточного соединения,

представляющего собой метил-2-((2-амино-4-бром-3-фторфенил)амино)-3-гидроксипропануат.

[0205] Вышеуказанное твердое вещество суспендировали в метаноле (приблизительно 30 мл), добавляли 4 М раствор HCl в диоксанах (приблизительно 1 мл) и смесь перемешивали при к. т. в течение 2 ч. Результат LCMS указывал на полное превращение. Смесь концентрировали и остаток очищали на колонке с силикагелем (элюировали смесью 0-100% этилацетата в гексанах) с получением 7-бром-8-фтор-3-(1-гидроксиэтил)-3,4-дигидро-1H-хиноксалин-2-она (*промежуточного соединения 50*) (3,20 г, 88%) в виде желтого твердого вещества (смесь диастереомеров). Масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 289, 291.

Промежуточное соединение 51. 7-Бром-8-фтор-3-(1-гидроксиэтил)-1H-хиноксалин-2-он

[0206] DDQ (432 мг, 1,90 ммоль) добавляли к суспензии 7-бром-8-фтор-3-(1-гидроксиэтил)-3,4-дигидро-1H-хиноксалин-2-она (*промежуточного соединения 50*) (500 мг, 1,73 ммоль) в CH₂Cl₂ (30 мл) и смесь перемешивали при к. т. в течение ночи. Результат LCMS указывал на чистое превращение. Растворитель удаляли при пониженном давлении, добавляли насыщ. раствор NaHCO₃ (приблизительно 100 мл) и смесь перемешивали при к. т. в течение 3 ч. Твердое вещество собирали посредством фильтрации, промывали водой и высушивали с получением 7-бром-8-фтор-3-(1-гидроксиэтил)-1H-хиноксалин-2-она (*промежуточного соединения 51*) (439 мг, 88%). 1H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) 1,39 (3H, d), 4,78-5,31 (2H, m), 7,39-7,71 (2H, m), 12,72 (1H, br s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 287, 289.

Промежуточное соединение 52. 3-Ацетил-7-бром-8-фтор-1H-хиноксалин-2-он

[0207] Раствор DMSO (0,651 мл, 9,17 ммоль) в DCM по каплям добавляли к перемешиваемому раствору оксалилхлорида (3,06 мл, 6,12 ммоль) (2 М раствор в DCM) в дихлорметане (20 мл) при -78°C. Раствор 7-бром-8-фтор-3-(1-гидроксиэтил)-1H-хиноксалин-2-она (*промежуточного соединения 51*) (439 мг, 1,53 ммоль) медленно добавляли к вышеуказанной реакционной смеси и полученную взвесь перемешивали в течение 15 мин при -78°C. По каплям добавляли триэтиламин (1,279 мл, 9,17 ммоль) и полученную взвесь перемешивали в течение еще 30 мин при 0°C. Результат LCMS указывал на образование требуемого продукта. Добавляли воду (30 мл) и смесь экстрагировали смесью дихлорметан/MeOH (5:1) (2 x 50 мл). Органические фазы объединяли и высушивали над сульфатом магния. Растворитель удаляли под вакуумом и остаток очищали с помощью колонки C18 с обращенной фазой (элюировали смесью 0-100% ACN/вода/0,1% TFA) с получением 3-ацетил-7-бром-8-фтор-1H-хиноксалин-2-она (*промежуточного соединения 52*) (85 мг, 19%) в виде желтого твердого вещества.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) 2,52-2,66 (3H, m), 7,42-7,76 (2H, m), 13,03 (1H, br s).
 Масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 285, 287.

Промежуточное соединение 53. 7-Бром-3-(1,1-дифторэтил)-8-фтор-1H-хиноксалин-2-он

[0208] DAST (0,148 мл, 1,12 ммоль) добавляли к суспензии 3-ацетил-7-бром-8-фтор-1H-хиноксалин-2-она (**промежуточного соединения 52**) (80 мг, 0,28 ммоль) в CH₂Cl₂ (20 мл) при к. т. и полученную суспензию перемешивали при к. т. в течение 24 ч. Результат LCMS указывал на образование 42% продукта. Смесь продолжали перемешивать на протяжении выходных дней. К смеси добавляли воду и экстрагировали с помощью DCM. Органический слой высушивали (безводный Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали. Остаток очищали на колонке с силикагелем (элюировали смесью 0-20% метанола в DCM) с получением 7-бром-3-(1,1-дифторэтил)-8-фтор-1H-хиноксалин-2-она (**промежуточного соединения 53**) (65,0 мг, 75%) в виде светло-желтого твердого вещества. Масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 307, 309 (материал был не очень чистый, переносили на следующую стадию).

Промежуточное соединение 54. 3-(1,1-Дифторэтил)-8-фтор-7-(гидроксиметил)-1H-хиноксалин-2-он

[0209] Смесь (трибутилстаннил)метанола (102 мг, 0,32 ммоль), Xphos Pd G2 (24,98 мг, 0,03 ммоль) и 7-бром-3-(1,1-дифторэтил)-8-фтор-1H-хиноксалин-2-она (**промежуточного соединения 53**) (65 мг, 0,21 ммоль) в 1,4-диоксане (10 мл) перемешивали при 80°C в течение 6 ч в атмосфере N₂. Результат LCMS указывал на полное превращение. Растворитель удаляли под вакуумом и остаток очищали на колонке с силикагелем (элюировали смесью 0-20% метанола в DCM) с получением 3-(1,1-дифторэтил)-8-фтор-7-(гидроксиметил)-1H-хиноксалин-2-она (**промежуточного соединения 54**) (55,0 мг, 100%) в виде коричневого твердого вещества. Масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 259.

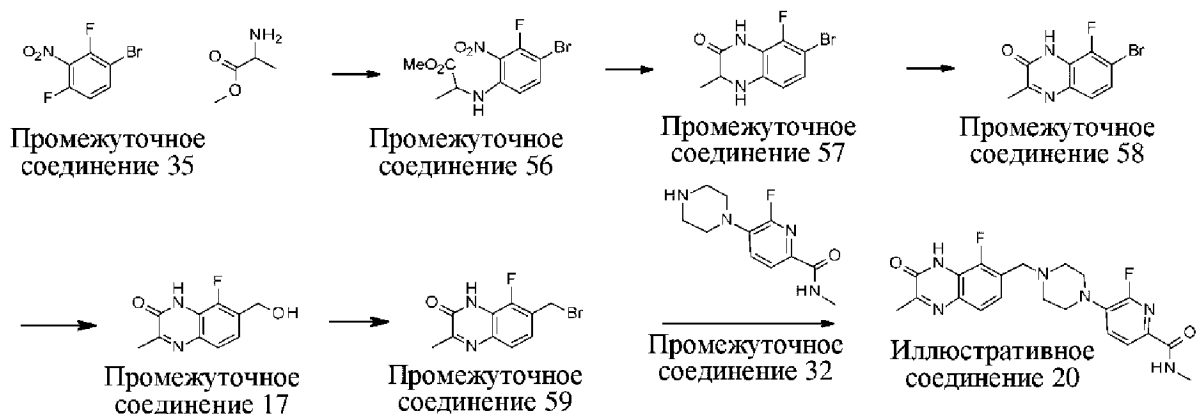
Промежуточное соединение 55. 7-(Бромметил)-3-(1,1-дифторэтил)-8-фтор-1H-хиноксалин-2-он

[0210] CBr₄ (129 мг, 0,39 ммоль) добавляли к смеси 3-(1,1-дифторэтил)-8-фтор-7-(гидроксиметил)-1H-хиноксалин-2-она (**промежуточного соединения 54**) (67 мг, 0,26 ммоль) и трифенилфосфина (102 мг, 0,39 ммоль) в CH₂Cl₂ (6 мл) при 0°C и полученную смесь перемешивали при к. т. в течение ночи. Результат LCMS указывал на полное превращение. Растворитель удаляли под вакуумом и остаток очищали на колонке с силикагелем (элюировали смесью 0-100% этилацетата в гексанах) с получением 7-(бромметил)-3-(1,1-дифторэтил)-8-фтор-1H-хиноксалин-2-она (**промежуточного**

соединения 55) (56,0 мг, 67%) в виде белого твердого вещества. Масса/заряд (ES^+) $[M+H]^+ = 321, 323$.

Пример 19. 5-[4-[[2-(1,1-Дифторэтил)-5-фтор-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамид

[0211] К суспензии 7-(бромметил)-3-(1,1-дифторэтил)-8-фтор-1H-хиноксалин-2-она (*промежуточного соединения 55*) (56 мг, 0,16 ммоль) и N,6-диметил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамида, 2HCl (*промежуточного соединения 33*) (48,2 мг, 0,16 ммоль) в ацетонитриле (4 мл) добавляли DIPEA (0,164 мл, 0,94 ммоль) и полученную смесь перемешивали при 70°C в течение 1,5 ч. Результат LCMS указывал на полное превращение. Смесь концентрировали и остаток очищали на колонке Gilson с обращенной фазой (элюировали смесью 0-70% ACN/вода/0,1% TFA). Чистые фракции объединяли, 0,5 мл водн. 1 М раствора HCl добавляли к объединенным фракциям и лиофилизировали до сухого состояния с получением 5-[4-[[2-(1,1-дифторэтил)-5-фтор-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамид в виде соли HCl (*иллюстративного соединения 19*) (35,0 мг, 44%) в виде желтого твердого вещества. 1H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) 2,08 (3H, br t), 2,52 (3H, s), 2,80 (3H, br d), 3,02-3,54 (8H, m), 4,61 (2H, br s), 7,57 (1H, br d), 7,67-8,04 (3H, m), 8,52 (1H, br d), 11,74 (1H, br s), 12,77-13,55 (1H, m); масса/заряд (ES^+) $[M+H]^+ = 475$.



Промежуточное соединение 56. Метил-2-(4-бром-3-фтор-2-нитроанилино)пропаноат

[0212] DIPEA (151 мл, 867,27 ммоль) медленно добавляли к перемешиваемому раствору 1-бром-2,4-дифтор-3-нитробензола (*промежуточного соединения 35*) (68,8 г, 289,09 ммоль) и метилаланината, HCl (40,4 г, 289,09 ммоль) в DMF (300 мл). Полученный раствор перемешивали при к. т. в течение 18 часов (полное превращение в требуемый продукт подтверждали посредством LCMS). Реакционную смесь концентрировали с применением системы выпаривания Rocket, разбавляли водой и экстрагировали этилацетатом. Органический слой тщательно промывали водой, высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали под вакуумом. К вышеуказанному

оранжевому твердому веществу добавляли 100 мл DCM, суспензию перемешивали при к. т. в течение 30 мин и твердое вещество фильтровали с получением метил-2-(4-бром-3-фтор-2-нитроанилино)пропаноата (24,00 г, 26%) (*промежуточного соединения 56*) в виде ярко-оранжевого твердого вещества. ¹H ЯМР (500 МГц, дихлорметан-*d*₂) 1,52-1,62 (3H, m), 3,80 (3H, s), 4,28 (1H, quin), 6,49 (1H, dd), 7,19-7,39 (1H, m), 7,54 (1H, dd); ¹⁹F ЯМР (471 МГц, дихлорметан-*d*₂) -109,49 (1F, s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 321, 323.

Промежуточное соединение 57. 7-Бром-8-фтор-3-метил-3,4-дигидро-1H-хиноксалин-2-он

[0213] Цинк (78 г, 1195,88 ммоль) добавляли порциями к смеси метил-2-(4-бром-3-фтор-2-нитроанилино)пропаноата (*промежуточного соединения 56*) 48 г, 149,49 ммоль) и хлорида аммония (64,0 г, 1195,88 ммоль) в MeOH (720 мл) и воде (16 мл) при 0°C (экзотермическая реакция) и смесь перемешивали при к. т. в течение 2 ч (полное исчезновение оранжевого окрашивания свидетельствует о завершении реакции). Твердое вещество отфильтровывали и твердый осадок на фильтре промывали 20% раствором MeOH в DCM. Фильтрат концентрировали, добавляли воду к неочищенному продукту и продукт экстрагировали этилацетатом. Органический слой высушивали и концентрировали под вакуумом с получением масла. Масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 291, 293.

[0214] Данный материал суспендировали в этилацетате (50 мл) и метаноле (50 мл), добавляли 2 мл 4 н. раствора HCl в диоксане и смесь перемешивали в течение 1 ч. Реакционную смесь концентрировали с получением неочищенного продукта, представляющего собой 7-бром-8-фтор-3-метил-3,4-дигидро-1H-хиноксалин-2-он (*промежуточное соединение 57*) (38,7 г), в виде серого твердого вещества. Неочищенный продукт (38,7 г) применяли на следующей стадии без дополнительной очистки, предполагая, что выход данной реакции составляет 100%. Масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 259.

Промежуточное соединение 58. 7-Бром-8-фтор-3-метил-1H-хиноксалин-2-он

[0215] DDQ (21,55 г, 94,95 ммоль) добавляли одной порцией к перемешиваемому раствору 7-бром-8-фтор-3-метил-3,4-дигидро-1H-хиноксалин-2-она (*промежуточного соединения 57*) (20,5 г, 79,13 ммоль) в DCM (200 мл) с получением очень плотной грязно-белой взвеси, добавляли дополнительное количество дихлорметана (800 мл). Полученную взвесь перемешивали при к. т. в течение 2 часов (полное превращение в требуемый продукт подтверждали посредством LCMS). Реакционную смесь концентрировали под вакуумом и гасили насыщенным водн. раствором бикарбоната натрия (приблизительно 500 мл, гашение приводит к интенсивному вспениванию). Вышеуказанную взвесь перемешивали при к. т. в течение ночи и твердое вещество отфильтровывали, тщательно

промывали водой и твердое вещество высушивали на фильтре в течение ночи. Данное твердое вещество промывали диэтиловым эфиром и высушивали в течение 30 мин с получением 7-бром-8-фтор-3-метил-1Н-хиноксалин-2-она (**промежуточного соединения 58**) (16,28 г, 80%) в виде грязно-белого твердого вещества. ¹⁹F ЯМР (471 МГц, DMSO-d₆) -124,18 (1F, s); ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) 2,41 (3H, s), 7,45-7,54 (2H, m), 12,60 (1H, br s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 257.

Промежуточное соединение 17. 8-Фтор-7-(гидроксиметил)-3-метил-1Н-хиноксалин-2-он

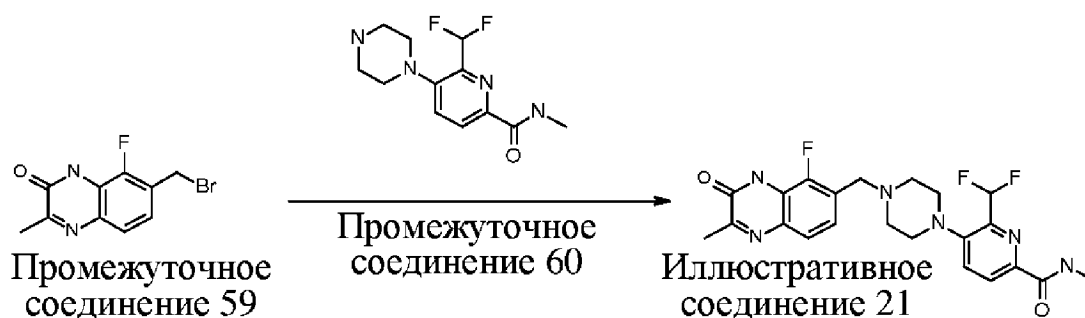
[0216] Смесь (трибутилстаннил)метанола (15,39 г, 47,93 ммоль), 7-бром-8-фтор-3-метил-1Н-хиноксалин-2-она (**промежуточного соединения 58**) (11,2 г, 43,57 ммоль) и Xphos Pd G2 (1,714 г, 2,18 ммоль) в 1,4-диоксане (200 мл) перемешивали при 80°C в течение 7 ч. Результат LCMS указывал на полное превращение. Растворитель удаляли при пониженном давлении, остаток очищали на колонке с силикагелем (элюировали смесью 0-15% метанола в DCM). Фракции концентрировали с получением взвеси, разбавляли эфиром, твердое вещество собирали посредством фильтрации и высушивали с получением 8-фтор-7-(гидроксиметил)-3-метил-1Н-хиноксалин-2-она (**промежуточного соединения 17**) (8,10 г, 89%) в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) 2,41 (3H, s), 4,63 (2H, br d), 5,39 (1H, t), 7,31 (1H, br t), 7,51 (1H, d), 12,41 (1H, br s). Масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 209.

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

[0217] Триэтилфосфан (20,90 мл, 145,06 ммоль) по каплям добавляли с помощью капельной воронки к перемешиваемой суспензии 8-фтор-7-(гидроксиметил)-3-метил-1Н-хиноксалин-2-она (**промежуточного соединения 17**) (15,1 г, 72,53 ммоль) и 1,2-дибром-1,1,2,2-тетрахлорэтана (52,0 г, 159,56 ммоль) в DCM (400 мл) при 0°C в атмосфере азота. Смесь перемешивали при к. т. в течение 3 ч с получением светло-желтой суспензии. Результат LCMS неочищенного продукта указывал на полное превращение. DCM удаляли под вакуумом; остаток суспендировали в 300 мл диэтилового эфира при к. т. и светло-желтый осадок фильтровали и промывали 200 мл эфира. Твердое вещество переносили в 300 мл воды, перемешивали при к. т. в течение 10 мин, твердое вещество собирали посредством фильтрации, тщательно промывали водой (200 мл) с удалением солей. Твердое вещество высушивали под вакуумом в течение ночи (без нагревания). Твердое вещество промывали гексанами и высушивали в вакууме в воронке объемом один бушель с получением 7-(бромметил)-8-фтор-3-метилхиноксалин-2(1Н)-она (**промежуточного соединения 59**) (22,76 г, 116%, вероятно, содержит некоторые неорганические соли) в

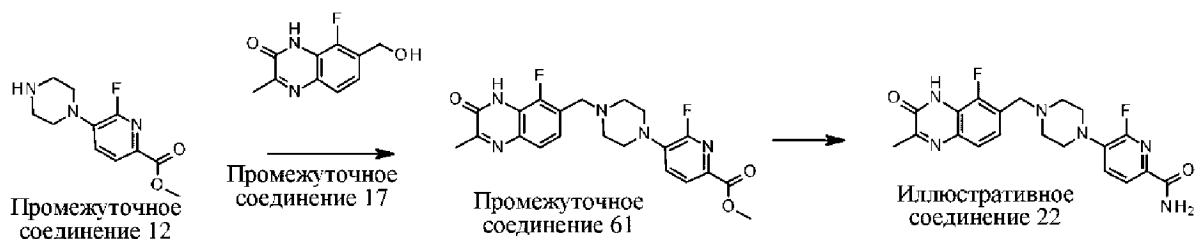
виде грязно-белого твердого вещества. Применяли в интактном виде для следующей реакции. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) 2,42 (3H, s), 4,65-4,93 (2H, m), 7,28-7,42 (1H, m), 7,51 (1H, d), 12,53 (1H, br s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 271, 273.

[0218] В колбу загружали 7-(бромметил)-8-фтор-3-метилхиноксалин-2(1H)-он (**промежуточное соединение 59**) (22,76 г) и 6-фтор-N-метил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамид, 2HCl (**промежуточное соединение 32**) (24,24 г, 77,9 ммоль) в ацетонитриле (350 мл), добавляли DIPEA (38,0 мл, 217,59 ммоль) при к. т. и полученную смесь перемешивали при 70°C в течение 4 ч. Реакция не была завершена. К смеси добавляли 5 г KI и 2 г NaI и смесь перемешивали при 50°C в течение 20 ч. Более 540 мг (приблизительно 0,03 экв.) 6-фтор-N-метил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамида, 2HCl (**промежуточного соединения 32**) добавляли к смеси и перемешивание продолжали при 50°C в течение 2 ч. Твердое вещество из реакционной суспензии собирали посредством фильтрации, промывали ацетонитрилом и высушивали. Затем полученный материал суспендировали в воде (приблизительно 400 мл), получали суспензию при к. т. в течение 20 мин, фильтровали и высушивали (чистота 97%, определенная посредством LCMS). Затем твердое вещество растворяли в смеси DCM/MeOH (3/1) (приблизительно 1,5 л) с применением обратного холодильника, фильтровали через слой силикагеля, удаляли большую часть DCM до осаждения твердого вещества и смесь выдерживали при к. т. в течение 20 мин. Твердое вещество собирали посредством фильтрации и повторяли процедуру для фильтрата, и твердые вещества объединяли с получением продукта, представляющего собой 6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид (**иллюстративное соединение 20**) (26 г, 84%), в виде светло-желтого твердого вещества. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) 2,41 (3H, s), 2,57-2,69 (4H, m), 2,76 (3H, d), 3,16 (4H, br s), 3,70 (2H, s), 7,29 (1H, br t), 7,40-7,60 (2H, m), 7,83 (1H, d), 8,38 (1H, br d), 12,44 (1H, br s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 429.



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

[0219] DIPEA (0,052 мл, 0,30 ммоль) добавляли к перемешиваемой смеси 7-(бромметил)-8-фтор-3-метилхиноксалин-2(1H)-она (**промежуточного соединения 59**) (40 мг, 0,15 ммоль) и 6-(дифторметил)-N-метил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамида, 2HCl (**промежуточного соединения 60**) (50,6 мг, 0,15 ммоль) в ацетонитриле (мл) и полученную смесь перемешивали при 70°C в течение 2 ч. Реакционную смесь концентрировали и направляли аналитической группе для очистки (условия очистки: остаток очищали с помощью колонки C18 с обращенной фазой (элюировали смесью 0-100% ACN/вода/0,1% NH₄OH)), посредством которой получали 6-(дифторметил)-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид (**иллюстративное соединение 21**) (15 мг, 22%) в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) 2,37 (3H, s), 2,64 (4H, br s), 2,84 (3H, d), 3,01 (4H, br d), 3,70 (2H, s), 7,00-7,28 (2H, m), 7,42 (1H, br d), 7,86 (1H, d), 8,09 (1H, d), 8,39 (1H, q), 12,24-12,63 (1H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 461.



Промежуточное соединение 61. Метил-6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]пиридин-2-карбоксилат

[0220] Трифенилфосфин на полимерной подложке (1,512 г, 5,76 ммоль) (добавляли 3,4 г, рассчитывали в пересчете на PPh₃, загрузка 1,6 ммоль/г) добавляли к перемешиваемой взвеси 8-фтор-7-(гидроксиметил)-3-метилхиноксалин-2(1H)-она (**промежуточного соединения 17**) (400 мг, 1,92 ммоль) и пербромметана (1,274 г, 3,84 ммоль) в DCM (40 мл) при к. т. Полученную смесь перемешивали при 23°C в течение 1 ч. Реакция не была завершена. Для завершения реакции добавляли дополнительное количество PPh₃ (1 г), связанного с полимером. Реакционную смесь фильтровали, промывали с помощью DCM, THF и фильтрат концентрировали под вакуумом с получением 7-(бромметил)-8-фтор-3-метилхиноксалин-2(1H)-она в виде светло-желтого твердого вещества.

[0221] К вышеуказанному свежеприготовленному 7-(бромметил)-8-фтор-3-метилхиноксалин-2(1H)-ону добавляли метил-6-фтор-5-(пиперазин-1-ил)пиколинат, 2HCl (**промежуточное соединение 12**) (600 мг, 1,92 ммоль), ацетонитрил (25 мл) и N-этил-N-изопропилпропан-2-амин (1674 мкл, 9,61 ммоль) и реакционную смесь нагревали до 70°C в течение 1 ч. Реакционную смесь охлаждали до к. т., концентрировали и неочищенное

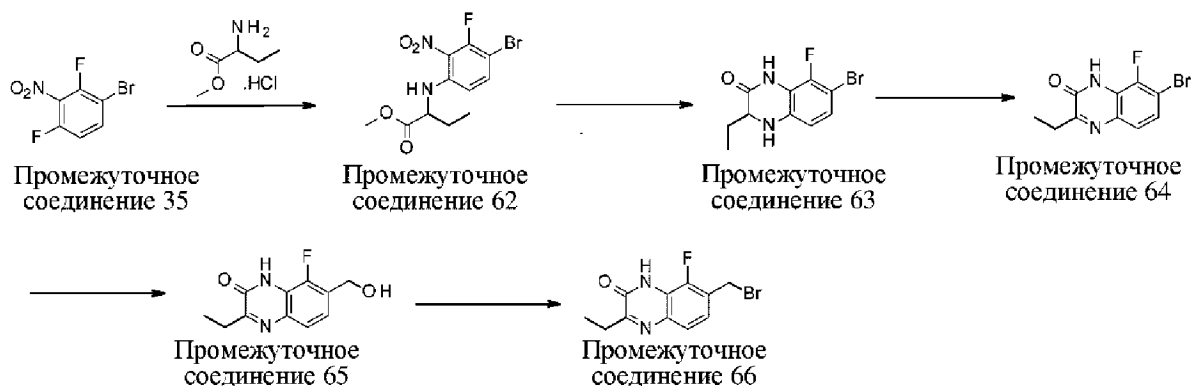
твердое вещество очищали посредством хроматографии с нормальной фазой с применением смеси 0-10% MeOH в DCM с получением метил-6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]пиридин-2-карбоксилата

(**промежуточного соединения 61**) (0,484 г, 59%) в виде грязно-белого твердого вещества.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) 2,34-2,49 (3H, m), 2,52-2,62 (4H, m), 3,08-3,28 (4H, m), 3,70 (2H, s), 3,83 (3H, s), 7,29 (1H, t), 7,44-7,54 (2H, m), 7,91 (1H, dd), 12,45 (1H, s); ¹⁹F ЯМР (471 МГц, DMSO-*d*₆) -135,50 (1F, s), -70,49 (1F, s). Масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 430.

Пример 22. 6-Фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]пиридин-2-карбоксамида

[0222] Аммиак (7 н. раствор аммиака в MeOH) (31,3 мл, 218,90 ммоль) добавляли к метил-6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]пиридин-2-карбоксилату (**промежуточному соединению 61**) (0,470 г, 1,09 ммоль) в скintилляционном флаконе объемом 40 мл, закрывали и перемешивали при к. т. в течение 18 ч. Полное превращение в требуемый продукт подтверждали посредством LCMS. Белое твердое вещество фильтровали с получением 103 мг чистого продукта. Фильтрат концентрировали под вакуумом, полученное грязно-белое твердое вещество суспендировали в приблизительно 5 мл метанола и фильтровали с получением дополнительного количества чистого продукта, составляющего 298 мг. Обе партии объединяли с получением 6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]пиридин-2-карбоксамида (**иллюстративного соединения 22**) (0,401 г, 88%). ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) 2,42 (3H, s), 2,59 (4H, br s), 3,09-3,27 (4H, m), 3,70 (2H, s), 7,29 (1H, br t), 7,46 (1H, br s), 7,49-7,58 (2H, m), 7,76 (1H, br s), 7,85 (1H, br d), 12,35 (1H, br s); ¹⁹F ЯМР (471 МГц, DMSO-*d*₆) -135,49 (1F, s), -72,40 (1F, s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 415.



Промежуточное соединение 62. Метил-2-(4-бром-3-фтор-2-нитросанилино)бутаноат

[0223] DIPEA (165 мл, 942,91 ммоль) медленно добавляли к перемешиваемому раствору 1-бром-2,4-дифтор-3-нитробензола (**промежуточного соединения 35**) (74,8 г,

314,30 ммоль) и метил-2-аминобутаноата, HCl (48,3 г, 314,30 ммоль) в DMF (733 мл) и полученный раствор перемешивали при к. т. в течение 18 часов. DMF удаляли с применением испарителя Rocket, разбавляли водой и экстрагировали этилацетатом. После концентрирования неочищенный материал очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле с градиентом элюирования 0-70% EtOAc в гексанах. Фракции продукта концентрировали при пониженном давлении с получением метил-2-(4-бром-3-фтор-2-нитроанилино)бутаноата (**промежуточного соединения 62**) (49,4 г, 47%) в виде красного твердого вещества. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) 0,82-0,98 (3H, m), 1,77-1,93 (2H, m), 3,70 (3H, d), 4,38-4,54 (1H, m), 6,77 (1H, br d), 7,28 (1H, br d), 7,64-7,80 (1H, t); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 335.

Промежуточное соединение 63. 7-Бром-3-этил-8-фтор-3,4-дигидро-1H-хиноксалин-2-он

[0224] Цинк (44,1 г, 674,07 ммоль) порциями добавляли (экзотермическая реакция) к смеси метил-2-(4-бром-3-фтор-2-нитроанилино)бутаноата (**промежуточного соединения 62**) (50,2 г, 149,79 ммоль) и хлорида аммония (64,1 г, 1198,34 ммоль) в MeOH (468 мл). Смесь перемешивали при к. т. в течение 1 ч. Твердое вещество отфильтровывали и промывали 20% раствором MeOH в DCM. Данный материал растворяли в метаноле (120 мл) и добавляли 4 н. раствор HCl в диоксане (10 мл) и реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин. Растворитель удаляли под вакуумом, разбавляли этилацетатом и подщелачивали насыщ. раствором NaHCO₃. Органический слой отделяли, промывали водой, высушивали над сульфатом натрия и концентрировали с получением неочищенного продукта. Твердое вещество растирали в порошок со 100 мл метанола, перемешивали в течение 10 мин и светло-коричневое твердое вещество отфильтровывали с получением продукта, представляющего собой 7-бром-3-этил-8-фтор-3,4-дигидро-1H-хиноксалин-2-он (**промежуточное соединение 63**) (39,8 г, 97%). ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) 0,92 (3H, t), 1,49-1,77 (2H, m), 3,57-3,87 (1H, m), 6,24-6,62 (2H, m), 6,99 (1H, dd), 10,44 (1H, s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 273.

Промежуточное соединение 64. 7-Бром-3-этил-8-фтор-1H-хиноксалин-2-он

[0225] DDQ (29,7 г, 130,94 ммоль) одной порцией добавляли к перемешиваемому раствору 7-бром-3-этил-8-фтор-3,4-дигидро-1H-хиноксалин-2-она (**промежуточного соединения 63**) (29,8 г, 109,12 ммоль) в DCM (546 мл) и полученный раствор перемешивали при к. т. в течение 2 ч. Растворитель удаляли под вакуумом и твердое вещество суспендировали со 150 мл метанола и перемешивали в течение 30 мин. Твердое вещество отфильтровывали и промывали 30 мл метанола. Твердое вещество переносили в круглодонную колбу объемом 2 л; добавляли 200 мл воды с последующим медленным добавлением 300 мл бикарбоната натрия. После завершения добавления смесь

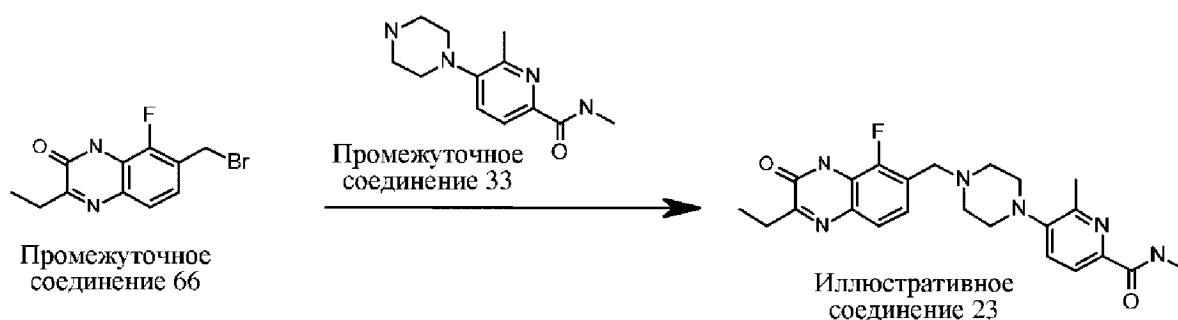
перемешивали в течение ночи при к. т. с получением светло-желтой взвеси. Перемешивание останавливали и водн. слой декантировали. Твердое вещество собирали посредством фильтрации и тщательно промывали водой с получением 7-бром-3-этил-8-фтор-1H-хиноксалин-2-она (**промежуточного соединения 64**) (24,45 г, 83%) в виде твердого вещества желтого цвета. 1H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) 1,22 (3H, t), 2,81 (2H, q), 7,27-7,69 (2H, m), 12,59 (1H, br s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 271.

Промежуточное соединение 65. 3-Этил-8-фтор-7-(гидроксиметил)-1H-хиноксалин-2-он

[0226] Xphos Pd G2 (1,121 г, 1,43 ммоль) добавляли к перемешиваемому дегазированному раствору 7-бром-3-этил-8-фтор-1H-хиноксалин-2-она (**промежуточного соединения 64**) (7,727 г, 28,50 ммоль) и (трибутилстаннил)метанола (10,98 г, 34,20 ммоль) в 1,4-диоксане (143 мл). Полученный раствор перемешивали при 80°C в течение 6 часов. Растворитель удаляли под вакуумом, добавляли 100 мл диэтилового эфира и взвесь перемешивали в течение 30 мин. Твердое вещество отфильтровывали и промывали 50 мл диэтилового эфира с получением 3-этил-8-фтор-7-(гидроксиметил)-1H-хиноксалин-2-она (5,88 г, 93%) (**промежуточного соединения 65**) в виде грязно-белого твердого вещества. 1H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) 1,22 (3H, t), 2,82 (2H, q), 4,64 (2H, br d), 5,40 (1H, t), 7,32 (1H, br t), 7,55 (1H, d), 12,40 (1H, br s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 223.

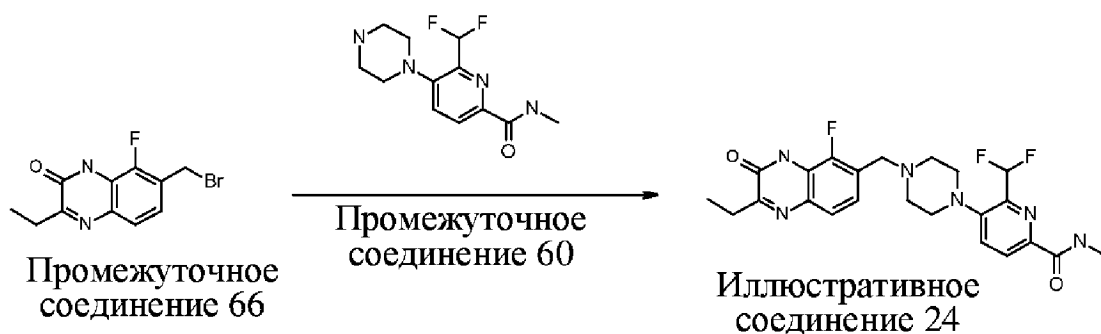
Промежуточное соединение 66. 7-(Бромметил)-3-этил-8-фтор-1H-хиноксалин-2-он

[0227] Триэтилфосфан (19,94 мл, 135,00 ммоль) по каплям добавляли к перемешиваемому раствору 3-этил-8-фтор-7-(гидроксиметил)-1H-хиноксалин-2-она (**промежуточного соединения 65**) (10 г, 45,00 ммоль) и СВг₄ (49,2 г, 148,50 ммоль) в DCM (355 мл) при 0°C на протяжении периода времени, составляющего 5 минут, в атмосфере азота. Реакционную смесь перемешивали при к. т. в течение 1 ч. DCM удаляли под вакуумом и остаток суспендировали в 150 мл диэтилового эфира. Белый осадок отфильтровывали и промывали 50 мл диэтилового эфира. Данное твердое вещество суспендировали с водой (200 мл) и перемешивали в течение 30 мин. Твердое вещество отфильтровывали и тщательно промывали водой. Твердое вещество высушивали под вакуумом в течение ночи с получением 7-(бромметил)-3-этил-8-фторхиноксалин-2(1H)-она (**промежуточного соединения 66**) (11,38 г, 89%) в виде светло-коричневого твердого вещества. 1H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) 1,22 (3H, t), 2,83 (2H, q), 4,81 (2H, s), 7,37 (1H, br t), 7,55 (1H, d), 12,53 (1H, br s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 285.



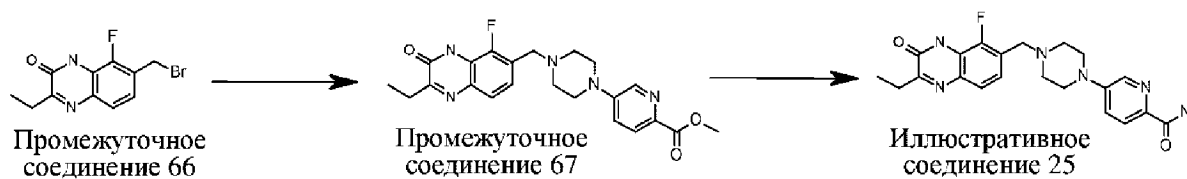
Пример 23. 5-[4-[(2-Этил-5-фтор-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамид

[0228] DIPEA (20,90 мл, 119,64 ммоль) добавляли к перемешиваемой взвеси 7-(бромметил)-3-этил-8-фторхиноксалин-2(1H)-она (**промежуточного соединения 66**) (11,37 г, 39,88 ммоль) и N,6-диметил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамид, 2HCl (**промежуточного соединения 33**) (14,09 г, 45,86 ммоль) в ацетонитриле (178 мл). Полученный раствор перемешивали при 50°C в течение 2 ч. Реакция завершалась. Половину растворителя удаляли посредством выпаривания, добавляли 10 мл насыщ. раствора бикарбоната натрия и смесь перемешивали в течение 15 мин. Твердое вещество отфильтровывали, промывали водой с последующим промыванием 50 мл ацетонитрила. Твердое вещество растворяли в смеси DCM/метанол (приблизительно 9/1) и фильтровали через слой диоксида кремния. Фильтрат концентрировали с получением светло-желтого твердого вещества. Данный материал растирали в порошок с приблизительно 120 мл метанола, твердое вещество отфильтровывали и высушивали. Результат LCMS еще демонстрирует приблизительно 2,1% примеси (вероятно из реагента). Материал снова растирали в порошок с ацетонитрилом и затем с 3% раствором метанола в ацетонитриле с получением приблизительно 14 г белого твердого вещества. Добавляли метанол (40 мл) и перемешивали в течение 3 ч. Твердое вещество отфильтровывали с получением чистого продукта, представляющего собой 5-[4-[(2-этил-5-фтор-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамид (**иллюстративное соединение 23**) (12,26 г, 70%). 1H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*6) 1,23 (3H, t), 2,48 (3H, s), 2,62 (4H, br s), 2,76-2,88 (5H, m), 2,95 (4H, br s), 3,73 (2H, s), 7,31 (1H, t), 7,47 (1H, d), 7,56 (1H, d), 7,79 (1H, d), 8,41 (1H, q), 12,44 (1H, s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 439.



Пример 24. 6-(Дифторметил)-5-[4-[(2-этил-5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилтиридин-2-карбоксамид

[0229] DIPEA (0,049 мл, 0,28 ммоль) добавляли к перемешиваемой смеси 7-(бромметил)-3-этил-8-фторхиноксалин-2(1H)-она (**промежуточного соединения 66**) (40 мг, 0,14 ммоль) и 6-(дифторметил)-N-метил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамида, 2HCl (**промежуточного соединения 60**) (48,1 мг, 0,14 ммоль) в ацетонитриле (2 мл) и полученную смесь перемешивали при 70°C в течение 2 часов. Реакционную смесь концентрировали и направляли аналитической группе для очистки (условия очистки: остаток очищали с помощью колонки C18 с обращенной фазой (элюировали смесью 0-100% ACN/вода/0,1% NH₄OH), посредством которой получали 6-(дифторметил)-5-[4-[(2-этил-5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид (**иллюстративное соединение 24**) (56,0 мг, 84%). 1H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) 1,23 (3H, t), 2,65 (4H, br d), 2,77-2,86 (5H, m), 2,97-3,06 (4H, m), 3,73 (2H, s), 7,00-7,26 (1H, t), 7,30 (1H, br d), 7,55 (1H, br d), 7,86 (1H, d), 8,09 (1H, d), 8,39 (1H, q), 12,45 (1H, br d); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 475.



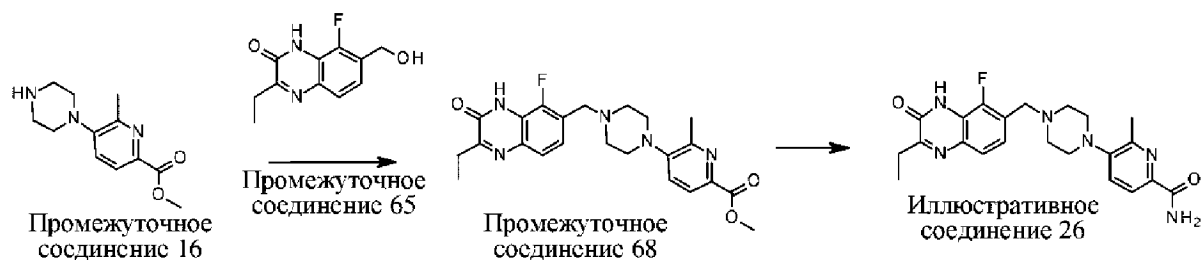
Промежуточное соединение 67. Метил-5-[4-[(2-этил-5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]тиридин-2-карбоксилат

[0230] DIPEA (246 мкл, 1,41 ммоль) добавляли к перемешиваемой взвеси 7-(бромметил)-3-этил-8-фтор-1H-хиноксалин-2-она (**промежуточного соединения 66**) (134 мг, 0,47 ммоль) и метил-5-(пиперазин-1-ил)пиколината, 2HCl (**промежуточного соединения 119**)(138 мг, 0,47 ммоль) в ацетонитриле (2 мл). Полученный раствор перемешивали при 50°C в течение 2 ч. Растворитель удаляли под вакуумом и полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле, градиент элюирования 0-20% MeOH в DCM. Фракции продукта концентрировали при пониженном давлении с получением метил-5-[4-[(2-этил-5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-

ил]пиридин-2-карбоксилата (**промежуточного соединения 67**) (0,142 г, 71,0%) в виде белого твердого вещества; масса/заряд (ES^+) $[M+H]^+ = 426$.

Пример 25. 5-[4-[(2-Этил-5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]тиридин-2-карбоксамида

[0231] Раствор аммиака (7 н.) в метаноле (3 мл, 6,00 ммоль) добавляли к метилметил-5-[4-[(2-этил-5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]пиридин-2-карбоксилату (**промежуточному соединению 67**) (130 мг, 0,31 ммоль). Полученную суспензию перемешивали при 50°C в течение 24 часов (в герметично закрытой пробирке). Растворитель удаляли и полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле, градиент элюирования 0-35% MeOH в DCM. Фракции продукта концентрировали при пониженном давлении с получением 5-[4-[(2-этил-5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]пиридин-2-карбоксамида (**иллюстративного соединения 25**) (0,079 г, 63%) в виде бледно-желтого твердого вещества. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) 1,23 (3H, t), 2,54-2,61 (4H, m), 2,83 (2H, q), 3,32-3,40 (4H, m), 3,70 (2H, s), 7,24-7,34 (2H, m), 7,38 (1H, dd), 7,56 (1H, d), 7,76 (1H, br d), 7,84 (1H, d), 8,27 (1H, d), 12,44 (1H, br s); масса/заряд (ES^+) $[M+H]^+ = 411$.



Промежуточное соединение 68. Метил-5-[4-[(2-этил-5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-метилтиридин-2-карбоксилат

[0232] Триэтилфосфин (0,399 мл, 2,70 ммоль) по каплям добавляли к перемешиваемому раствору 3-этил-8-фтор-7-(гидроксиметил)хиноксалин-2(1H)-она (**промежуточного соединения 65**) (0,2 г, 0,90 ммоль) и CBr₄ (0,985 г, 2,97 ммоль) в DCM (7,10 мл) при 0°C на протяжении периода времени, составляющего 5 минут, в атмосфере азота. Реакционную смесь перемешивали при к. т. в течение 1 ч. DCM удаляли под вакуумом и полученное твердое вещество суспендировали в диэтиловом эфире. Белый осадок фильтровали под вакуумом, промывали водой с последующим промыванием эфиром. Твердое вещество высушивали под вакуумом в течение ночи (без нагревания) с получением 7-(бромметил)-3-этил-8-фторхиноксалин-2(1H)-она в виде светло-коричневого твердого вещества.

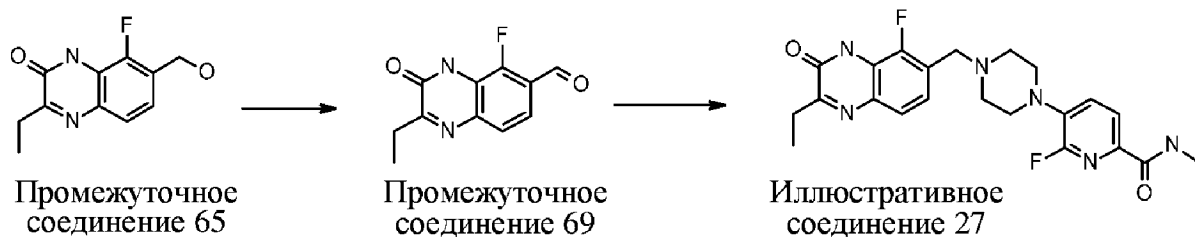
[0233] К вышеуказанному неочищенному продукту добавляли метил-6-метил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинат, 2HCl (**промежуточное соединение 16**) (278 мг, 0,90 ммоль),

ацетонитрил (10 мл) и N-этил-N-изопропилпропан-2-амин (785 мкл, 4,51 ммоль) и нагревали до 70°C в течение 1 ч. Реакционную смесь охлаждали, концентрировали, гасили с помощью водн. раствора NaHCO₃ (1 мл) и перемешивали в течение 1 ч при к. т. К вышеуказанной смеси добавляли воду (3 мл) и перемешивали в течение 10 мин. Осадок фильтровали и промывали водой (50 мл). Твердое вещество очищали посредством хроматографии с нормальной фазой с применением смеси 0-10% MeOH в DCM. Выделенный продукт характеризовался чистотой 89%, подтвержденной посредством LCMS. Вышеуказанное твердое вещество дополнительно очищали с применением масс-направленной препаративной HPLC с применением градиента 20-40% ацетонитрила в воде с модификатором NH₄OH с получением метил-5-[4-[(2-этил-5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-метилпиридин-2-карбоксилата

(**промежуточного соединения 68**) (115 мг, 0,262 ммоль, 29%) в виде белого твердого вещества с чистотой 93% согласно LCMS. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) 1,23 (3H, t), 2,45-2,49 (3H, m), 2,53-2,69 (4H, m), 2,83 (2H, q), 2,98 (4H, br s), 3,73 (2H, s), 3,83 (3H, s), 7,31 (1H, t), 7,45 (1H, d), 7,56 (1H, d), 7,86 (1H, d), 12,44 (1H, br s); ¹⁹F ЯМР (471 МГц, DMSO-*d*₆) -135,54 (1F, s). Масс/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 440.

Пример 26. 5-[4-[(2-Этил-5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-метилпиридин-2-карбоксамида

[0234] 7 н. раствор аммиака в метаноле (6,40 мл 44,78 ммоль) добавляли к метил-5-[4-[(2-этил-5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-метилпиридин-2-карбоксилату (**промежуточному соединению 68**) (0,0984 г, 0,22 ммоль) в скintилляционном флаконе объемом 40 мл, герметично закрывали и перемешивали при к. т. в течение 18 ч. Реакционную смесь концентрировали под вакуумом, добавляли дополнительное количество раствора аммиака (6,40 мл, 44,78 ммоль) и перемешивали при 50 С в течение 16 ч. Реакционную смесь концентрировали под вакуумом, добавляли дополнительное количество NH₃ в метаноле и перемешивали при к. т. в течение выходных дней. Завершение реакции подтверждали посредством LCMS. Реакционную смесь концентрировали под вакуумом, полученное твердое вещество суспендировали в диэтиловом эфире. Твердое вещество фильтровали и промывали дополнительным количеством эфира и метанола с получением 5-[4-[(2-этил-5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-метилпиридин-2-карбоксамида (**иллюстративного соединения 26**) (0,095 г, 100%) в виде белого твердого вещества; ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) 1,22 (3H, br t), 2,45-2,49 (3H, m), 2,52-2,68 (4H, m), 2,82 (2H, q), 2,94 (4H, br s), 3,72 (2H, br s), 7,30 (1H, br t), 7,38-7,51 (2H, m), 7,55 (1H, br d), 7,80 (2H, br d), 12,41 (1H, br s); ¹⁹F ЯМР (471 МГц, DMSO-*d*₆) -135,53 (1F, s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 425.



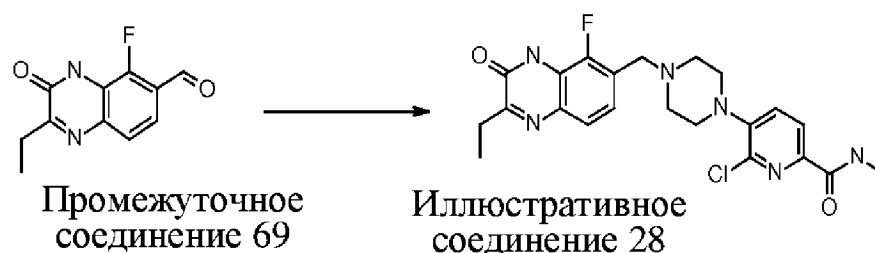
Промежуточное соединение 69. 2-Этил-5-фтор-3-оксо-4H-хиноксалин-6-карбальдегид

[0235] Перйодинан Десса-Мартина (458 мг, 1,08 ммоль) добавляли к 3-этил-8-фтор-7-(гидроксиметил)-1H-хиноксалин-2-ону (**промежуточному соединению 65**) (загрязненному его региоизомером, представляющим собой 3-этил-8-фтор-5-(гидроксиметил)-1H-хиноксалин-2-он) (160 мг, 0,72 ммоль) в DCM (5 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4 ч. Растворитель выпаривали с получением неочищенного продукта, который очищали посредством флэш-хроматографии с применением колонки для флэш-хроматографии C18, градиент элюирования 5-30% MeCN в воде (0,4% FA). Чистые фракции выпаривали до сухого состояния с получением 2-этил-5-фтор-3-оксо-4H-хиноксалин-6-карбальдегида (загрязненного его региоизомером, представляющим собой 3-этил-8-фтор-2-оксо-1H-хиноксалин-5-карбальдегид) (**промежуточное соединение 69**) (110 мг, 69%) в виде желтого твердого вещества. Масса/заряд (ES^+) $[M+H]^+ = 221$.

Пример 27. 5-[4-[(2-Этил-5-фтор-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-фтор-N-метилтиридин-2-карбоксамид

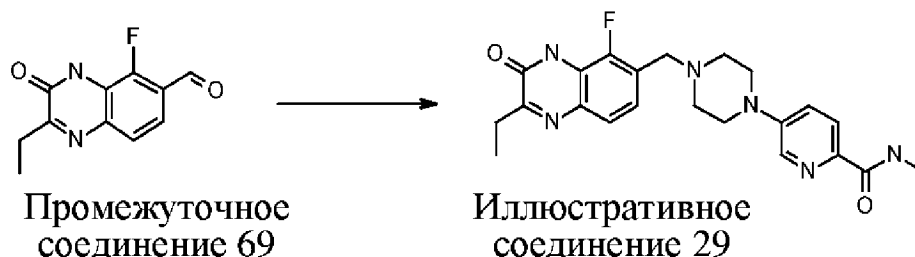
[0236] Изопропоксид титана (64,5 мг, 0,23 ммоль) добавляли к 2-этил-5-фтор-3-оксо-4H-хиноксалин-6-карбальдегиду (**промежуточному соединению 69**) (загрязненному его региоизомером, представляющим собой 3-этил-8-фтор-2-оксо-1H-хиноксалин-5-карбальдегид) (50 мг, 0,23 ммоль) и 6-фтор-N-метил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамиду (54,1 мг, 0,23 ммоль) в THF (3 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 мин. Добавляли триацетоксиборгидрид натрия (**промежуточное соединение 32**) (192 мг, 0,91 ммоль). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Реакционную смесь гасили с помощью MeOH (0,1 мл). Растворитель выпаривали с получением неочищенного продукта. Неочищенный остаток очищали посредством препаративной HPLC (колонка: колонка Xselect CSH OBD, 30 * 150 мм, 5 мкм; подвижная фаза А: вода (0,05% TFA), подвижная фаза В: ACN; скорость потока: 60 мл/мин; градиент: от 10% В до 20% В за 10 мин; 254; 220 нм) и (колонка: колонка XBridge Shield RP18 OBD, 19 * 250 мм, 10 мкм; подвижная фаза А: вода (10 ммоль/л NH_4HCO_3 + 0,1% $NH_3 \cdot H_2O$), подвижная фаза В: ACN; скорость потока: 20 мл/мин; градиент: от 21 В до 95 В за 7 мин; 254/220 нм). Фракции, содержащие

требуемое соединение, выпаривали до сухого состояния с получением 5-[4-[(2-этил-5-фтор-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-фтор-N-метилпиридин-2-карбоксамида (**иллюстративного соединения 27**) (6 мг, 6%) в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) 1,22 (3H, t), 2,56-2,64 (4H, m), 2,76 (3H, d), 2,82 (2H, q), 3,14-3,20 (4H, m), 3,71 (2H, s), 7,27-7,33 (1H, m), 7,53-7,59 (2H, m), 7,82-7,86 (1H, m), 8,38-8,45 (1H, m), 12,46 (1H, s); ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-*d*₆) -72,58, -135,51; масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 443.



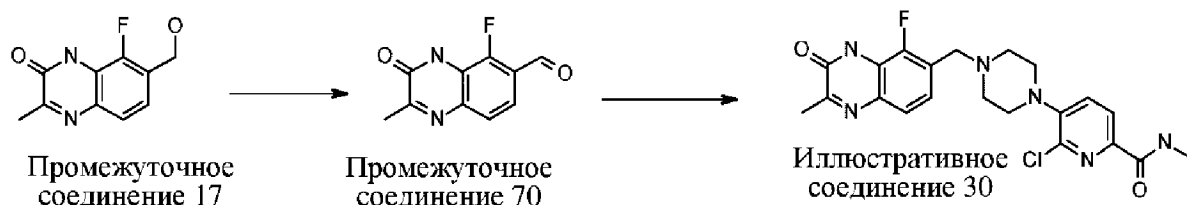
Пример 28. 6-Хлор-5-[4-[(2-этил-5-фтор-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид

[0237] Изопропоксид титана (51,6 мг, 0,18 ммоль) добавляли к 2-этил-5-фтор-3-оксо-4H-хиноксалин-6-карбальдегиду (**промежуточному соединению 69**) (загрязненному его региоизомером, представляющим собой 3-этил-8-фтор-2-оксо-1H-хиноксалин-5-карбальдегид) (40 мг, 0,18 ммоль) и 6-хлор-N-метил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамиду (**промежуточному соединению 30**) (50 мг, 0,20 ммоль) в THF (3 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 минут. Добавляли триацетоксиборгидрид натрия (154 мг, 0,73 ммоль). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 часов. Реакционную смесь гасили с помощью MeOH (0,1 мл) и выпаривали с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной HPLC (колонка: 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 21 В до 41 В за 7 мин; 254/220 нм. Фракции, содержащие требуемое соединение, выпаривали до сухого состояния с получением 6-хлор-5-[4-[(2-этил-5-фтор-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида (**иллюстративного соединения 28**) (37,5 мг, 45%) в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) 1,22 (3H, t), 2,57-2,65 (4H, m), 2,76-2,86 (5H, m), 3,05-3,15 (4H, m), 3,72 (2H, s), 7,29 (1H, t), 7,55 (1H, d), 7,65 (1H, d), 7,93 (1H, d), 8,40-8,45 (1H, m), 12,45 (1H, s); ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-*d*₆) -135,46; масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 459.



Пример 29. 5-[4-[(2-Этил-5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид

[0238] Изопропоксид титана (51,6 мг, 0,18 ммоль) добавляли к 2-этил-5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-карбальдегиду (**промежуточному соединению 69**) (загрязненному его региоизомером, представляющим собой 3-этил-8-фтор-2-оксо-1Н-хиноксалин-5-карбальдегид) (40 мг, 0,18 ммоль) и N-метил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамиду (**промежуточному соединению 31**) (50 мг, 0,23 ммоль) в THF (3 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 минут. Добавляли триацетоксиборгидрид натрия (154 мг, 0,73 ммоль). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 часов. Реакционную смесь гасили с помощью MeOH (0,1 мл) и концентрировали с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной HPLC (колонка: колонка Xselect CSH OBD, 30 * 150 мм, 5 мкм; подвижная фаза А: вода (0,1% FA), подвижная фаза В: ACN; скорость потока: 60 мл/мин; градиент: от 6 В до 17 В за 7 мин; 254; 220 нм. Фракции, содержащие требуемое соединение, выпаривали до сухого состояния с получением 5-[4-[(2-этил-5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид (**иллюстративного соединения 29**) (17,29 мг, 22%) в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) 1,22 (3H, t), 2,53-2,63 (4H, m), 2,74-2,87 (5H, m), 3,05-3,15 (4H, m, сливался с пиком, соответствующим воде), 3,69 (2H, s), 7,29 (1H, t), 7,37 (1H, dd), 7,54 (1H, d), 7,81 (1H, d), 8,25 (1H, d), 8,35-8,42 (1H, m), 12,44 (1H, s); ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-*d*₆) -135,49; масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 425.



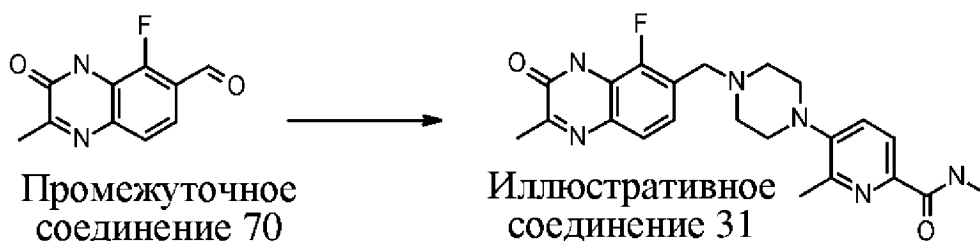
Промежуточное соединение 70. 5-Фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-карбальдегид

[0239] Перйодинан Десса-Мартина (1,34 г, 3,16 ммоль) добавляли к 8-фтор-7-(гидроксиметил)-3-метил-1Н-хиноксалин-2-ону (**промежуточному соединению 17**) (загрязненному 8-фтор-5-(гидроксиметил)-3-метил-1Н-хиноксалин-2-оном) (0,33 г,

0,79 ммоль) в DCM (20 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 6 часов. Реакционную смесь выпаривали с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали посредством флэш-хроматографии с применением колонки для флэш-хроматографии C18, градиент элюирования 5-30% MeCN в воде (0,4% FA). Чистые фракции выпаривали до сухого состояния с получением 5-фтор-2-метил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-карбальдегида (загрязненного 8-фтор-3-метил-2-оксо-1H-хиноксалин-5-карбальдегидом) (**промежуточного соединения 70**) (0,300 г, 92%) в виде грязно-белого твердого вещества. Масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 207.

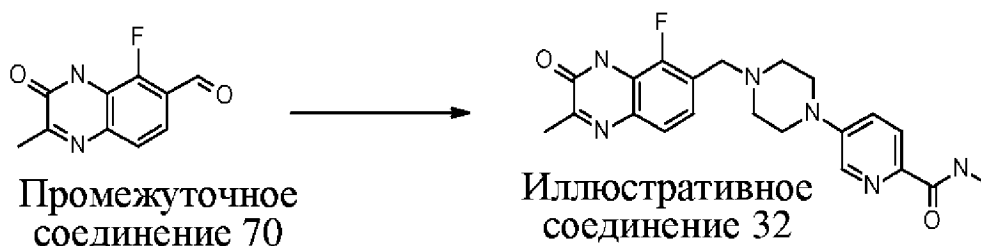
Пример 30. 6-Хлор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид

[0240] Изопропоксид титана (89 мг, 0,31 ммоль) добавляли к 5-фтор-2-метил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-карбальдегиду (загрязненному 8-фтор-3-метил-2-оксо-1H-хиноксалин-5-карбальдегидом) (**промежуточному соединению 70**) (150 мг, 0,36 ммоль) и 6-хлор-N-метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамиду (**промежуточному соединению 30**) (80 мг, 0,31 ммоль) в THF (3 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 20 минут. Добавляли триацетоксиборгидрид натрия (266 мг, 1,26 ммоль). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 часов. Реакционную смесь гасили с помощью MeOH (0,1 мл) и концентрировали с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной HPLC (колонка: 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: MeOH для препаративной хроматографии; скорость потока: 20 мл/мин; градиент: от 57 В до 80 В за 7 мин; 254/220 нм. Фракции, содержащие требуемое соединение, выпаривали до сухого состояния с получением 6-хлор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид (**иллюстративного соединения 30**) (35,6 мг, 25%) в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) 2,42 (3H, s), 2,58-2,66 (4H, m), 2,79 (3H, d), 3,06-3,16 (4H, m), 3,72 (2H, s), 7,30 (1H, t), 7,53 (1H, d), 7,65 (1H, d), 7,93 (1H, d), 8,41-8,48 (1H, m), 12,47 (1H, s); ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-*d*₆) -135,45; масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 445.



Пример 31. 5-[4-[(5-Фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамид

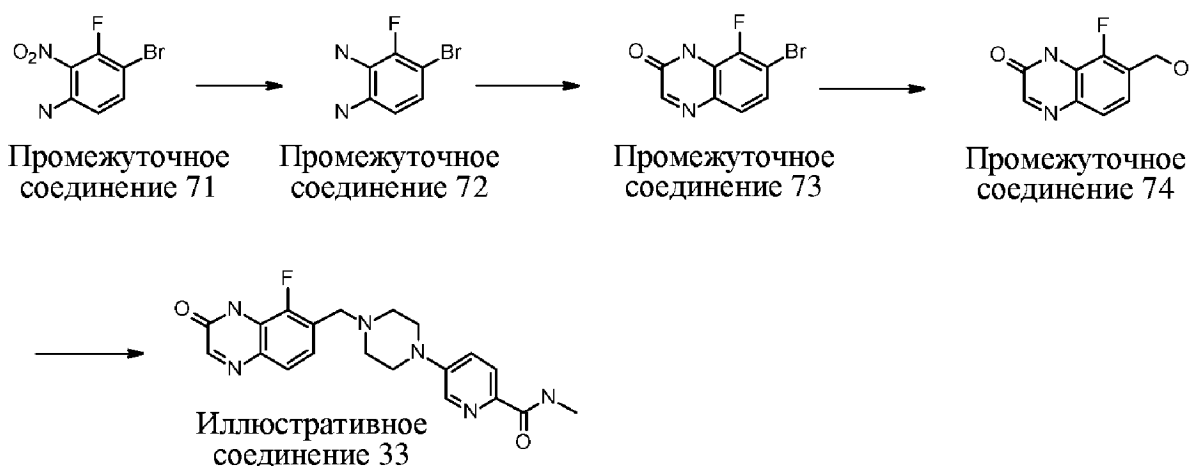
[0241] Изопропоксид титана (105 мг, 0,37 ммоль) добавляли к 5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-карбальдегиду (загрязненному 8-фтор-3-метил-2-оксо-1Н-хиноксалин-5-карбальдегидом) (**промежуточному соединению 70**) (150 мг, 0,36 ммоль) и N,6-диметил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамиду, HCl (**промежуточному соединению 33**) (100 мг, 0,37 ммоль) в THF (3 мл). Полученную смесь перемешивали при к. т. в течение 2 минут. Добавляли триацетоксиборгидрид натрия (313 мг, 1,48 ммоль). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 часов. Реакционную смесь гасили с помощью MeOH (0,1 мл) и выпаривали с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной HPLC (колонка: 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 19 В до 39 В за 7 мин; 254/220 нм. Фракции, содержащие требуемое соединение, выпаривали до сухого состояния с получением 5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамид (**иллюстративного соединения 31**) (12,39 мг, 8%) в виде грязно-белого твердого вещества. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) 2,42 (3H, s), 2,48 (3H, s), 2,57-2,67 (4H, m), 2,80 (3H, d), 2,90-2,98 (4H, m), 3,72 (2H, s), 7,30 (1H, t), 7,47 (1H, d), 7,52 (1H, d), 7,79 (1H, d), 8,39-8,46 (1H, m), 12,46 (1H, s); ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-*d*₆) -135,52; масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 425.



Пример 32. 5-[4-[(5-Фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид

[0242] Изопропоксид титана (103 мг, 0,36 ммоль) добавляли к 5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-карбальдегиду (загрязненному 8-фтор-3-метил-2-оксо-1Н-хиноксалин-5-карбальдегидом) (150 мг, 0,36 ммоль) и N-метил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамиду (**промежуточному соединению 31**) (80 мг, 0,36 ммоль) в THF (3 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 минут. Добавляли триацетоксиборгидрид натрия (308 мг, 1,45 ммоль). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 часов. Реакционную смесь гасили

с помощью MeOH (0,1 мл). Реакционную смесь выпаривали с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной HPLC (колонка: колонка Xbridge Phenyl OBD, 5 мкм, 19 * 150 мм; подвижная фаза А: вода (0,05% TFA), подвижная фаза В: MeOH для препаративной хроматографии; скорость потока: 20 мл/мин; градиент: от 24 В до 32 В за 12 мин; 254/220 нм и (колонка: 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 15 В до 30 В за 10 мин; 254/220 нм. Фракции, содержащие требуемое соединение, выпаривали до сухого состояния с получением 5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида (12,4 мг, 8%) в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) 2,42 (3H, s), 2,55-2,60 (4H, m), 2,78 (3H, d), 2,90-2,98 (4H, m, сливался с пиком, соответствующим воде), 3,70 (2H, s), 7,30 (1H, t), 7,38 (1H, dd), 7,52 (1H, d), 7,82 (1H, d), 8,26 (1H, d), 8,38-8,43 (1H, m), 12,47 (1H, s); ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-*d*₆) -135,48; масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 411.



Промежуточное соединение 72. 4-Бром-3-фторбензол-1,2-диамин

[0243] Железный порошок (5,2 г, 93,11 ммоль) добавляли к 4-бром-3-фтор-2-нитроанилину (**промежуточному соединению 71**) (7,3 г, 31,06 ммоль) и HCl (10 мл, 100,00 ммоль) (10 М) в MeOH (30 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 часов. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Реакционную смесь подщелачивали насыщенным раствором Na₂CO₃ (100 мл). Водный слой экстрагировали с помощью EtOAc (2 x 100 мл). Органический слой высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и выпаривали с получением 4-бром-3-фторбензол-1,2-диамина (**промежуточного соединения 72**) (6,05 г, 95 %) в виде темного твердого вещества. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) 4,66 (2H, s), 4,94 (2H, s), 6,30 (1H, dd), 6,56 (1H, dd); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 205, 207.

Промежуточное соединение 73. 7-Бром-8-фтор-1H-хиноксалин-2-он

[0244] Этил-2-оксоацетат в толуоле (6,41 г, 31,39 ммоль) добавляли к 4-бром-3-фторбензол-1,2-диамину (**промежуточному соединению 72**) (4,46 г, 21,75 ммоль) в толуоле (30 мл). Полученную смесь перемешивали при 100°C в течение 30 минут. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Реакционную смесь разбавляли (PE: 10 мл и EA: 2 мл). Осадок собирали посредством фильтрации, промывали с помощью EtOAc (5 мл) и высушивали под вакуумом с получением 7-бром-8-фтор-1H-хиноксалин-2-она (**промежуточного соединения 73**) (загрязненного 6-бром-5-фтор-1H-хиноксалин-2-оном) (2,75 г, 52%) в виде грязно-белого твердого вещества. Масса/заряд (ES^+) $[M+H]^+ = 243$.

Промежуточное соединение 74. 8-Фтор-7-(гидроксиметил)-1H-хиноксалин-2-он

[0245] CataCXium A-Pd-G2 (0,12 г, 0,18 ммоль) добавляли к (трибутилстаннил)метанолу (1,25 г, 3,89 ммоль) и 7-бром-8-фтор-1H-хиноксалин-2-ону (**промежуточному соединению 73**) (1 г, 2,06 ммоль) (загрязненному 6-бром-5-фтор-1H-хиноксалин-2-оном) в 1,4-диоксане (30 мл). Полученную смесь перемешивали при 100°C в течение 18 часов в атмосфере азота. Реакционную смесь гасили насыщенным раствором KF (10 мл), фильтровали и выпаривали с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали посредством флэш-хроматографии с применением колонки для флэш-хроматографии C18, градиент элюирования 3-30% MeCN в воде (0,1% муравьиной кислоты). Чистые фракции выпаривали до сухого состояния с получением 8-фтор-7-(гидроксиметил)-1H-хиноксалин-2-она (**промежуточного соединения 74**) (260 мг, 69%) (загрязненного 5-фтор-6-(гидроксиметил)-1H-хиноксалин-2-оном) в виде грязно-белого твердого вещества. Масса/заряд (ES^+) $[M+H]^+ = 195$.

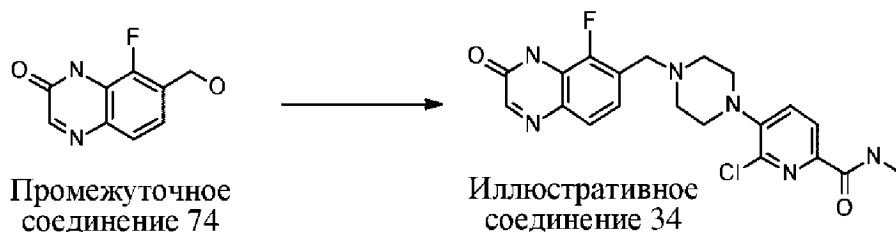
Пример 33. 5-[4-[(5-Фтор-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилтиридин-2-карбоксамид

[0246] $SOCl_2$ (0,3 мл, 4,11 ммоль) добавляли к 8-фтор-7-(гидроксиметил)-1H-хиноксалин-2-ону (**промежуточному соединению 74**) (158 мг, 0,41 ммоль) (загрязненному 5-фтор-6-(гидроксиметил)-1H-хиноксалин-2-оном) в DCM (3 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении. DIPEA (0,25 мл, 1,43 ммоль) и N-метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамид (**промежуточное соединение 31**) (141 мг, 0,64 ммоль) добавляли к смеси в NMP (3,00 мл). Полученную смесь перемешивали при 80°C в течение 1 ч. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной HPLC (колонка: колонка XBridge Prep OBD C18, 19 * 250 мм, 5 мкм; подвижная фаза А: вода (10 ммоль/л $NH_4HCO_3 + 0,1\% NH_3 \cdot H_2O$), подвижная фаза В: ACN; скорость потока: 20 мл/мин; градиент: от 18 В до 24 В за 9 мин; 254; 220 нм). Фракции, содержащие требуемое

соединение, выпаривали до сухого состояния с получением 5-[4-[(5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида

(иллюстративного соединения **33**) (13,00 мг, 8%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) 2,55-2,60 (4H, m), 2,77 (3H, d), 3,28-3,33 (4H, m), 3,71 (2H, s), 7,30-7,42 (2H, m), 7,61 (1H, d), 7,82 (1H, d), 8,20 (1H, s), 8,25 (1H, d), 8,37-8,42 (1H, m); ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-*d*₆) -129,26; масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 397.

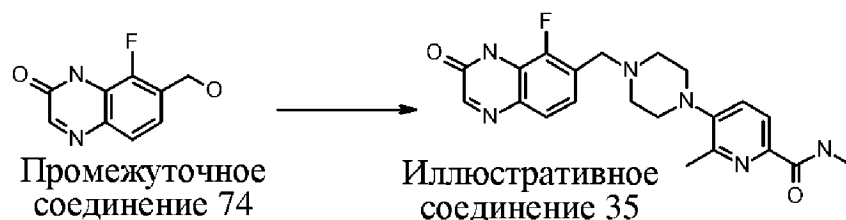


Пример 34. 6-Хлор-5-[4-[(5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид

[0247] SOCl₂ (0,3 мл, 4,11 ммоль) добавляли к 8-фтор-7-(гидроксиметил)-1Н-хиноксалин-2-ону (промежуточному соединению **74**) (загрязненному 5-фтор-6-(гидроксиметил)-1Н-хиноксалин-2-оном) (143 мг, 0,37 ммоль) в DCM (3 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении. DIPEA (0,25 мл, 1,43 ммоль) и 6-хлор-N-метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамид (промежуточное соединение **30**) (101 мг, 0,40 ммоль) добавляли к смеси в NMP (3,00 мл). Полученную смесь перемешивали при 80°C в течение 1 ч. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной HPLC (колонка: колонка XBridge Prep OBD C18, 19 * 250 мм, 5 мкм; подвижная фаза А: вода (10 ммоль/л NH₄НСО₃ + 0,1% NH₃·H₂O), подвижная фаза В: АСN; скорость потока: 20 мл/мин; градиент: от 25 В до 28 В за 9 мин; 254/220 нм. Фракции, содержащие требуемое соединение, выпаривали до сухого состояния с получением 6-хлор-5-[4-[(5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида

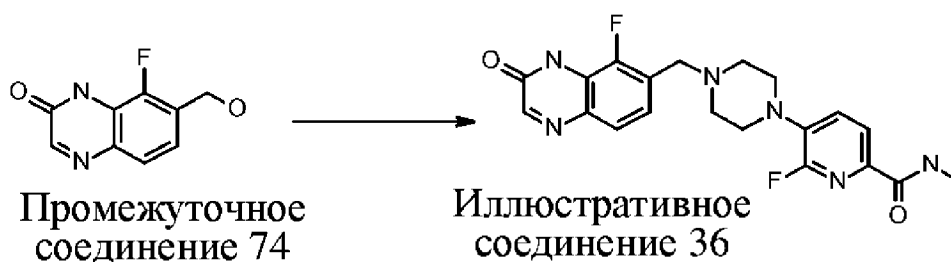
(иллюстративного соединения **34**) (23,0 мг, 14%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) 2,58-2,65 (4H, m), 2,78 (3H, d), 3,07-3,14 (4H, m), 3,73 (2H, s), 7,35 (1H, dd), 7,61 (1H, d), 7,65 (1H, d), 7,93 (1H, d), 8,20 (1H, s), 8,41-8,45 (1H, m), 12,58 (1H, s); ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-*d*₆) -135,18; масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 431.



Пример 35. 5-[4-[(5-Фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамид

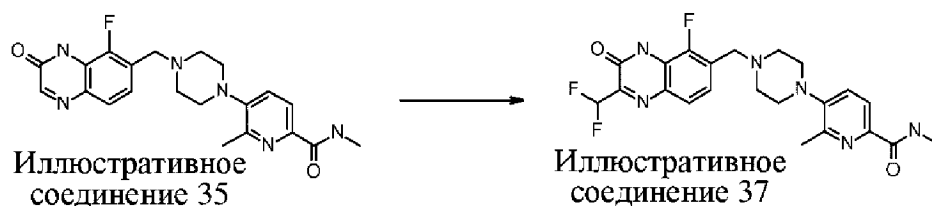
[0248] SOCl₂ (0,3 мл, 4,11 ммоль) добавляли к 8-фтор-7-(гидроксиметил)-1Н-хиноксалин-2-ону (**промежуточному соединению 74**) (загрязненному 5-фтор-6-(гидроксиметил)-1Н-хиноксалин-2-оном) (143 мг, 0,37 ммоль) (153 мг, 0,39 ммоль) в DCM (3 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении. К смеси добавляли DIPEA (0,25 мл, 1,43 ммоль) и N,6-диметил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамид (**промежуточное соединение 33**) (137 мг, 0,58 ммоль) в NMP (3 мл). Полученную смесь перемешивали при 80°C в течение 1 ч. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной HPLC (колонка: колонка XBridge Prep OBD C18, 19 * 250 мм, 5 мкм; подвижная фаза А: вода (10 ммоль/л NH₄HCO₃ + 0,1% NH₃.H₂O), подвижная фаза В: ACN; скорость потока: 20 мл/мин; градиент: от 24 В до 28 В за 9 мин; 254/220 нм. Фракции, содержащие требуемое соединение, выпаривали до сухого состояния с получением 5-[4-[(5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамид (**иллюстративного соединения 35**) (13,0 мг, 8%) в виде белого твердого вещества. 1Н ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) 2,48 (3H, s), 2,56-2,65 (4H, s), 2,79 (3H, d), 2,92-2,97 (4H, m), 3,73 (2H, s), 7,31-7,39 (1H, m), 7,47 (1H, d), 7,61 (1H, d), 7,78 (1H, d), 8,19 (1H, s), 8,39-8,44 (1H, m), 12,55 (1H, s); 19F ЯМР (376 МГц, DMSO-*d*₆) -135,25; масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 411.



Пример 36. 6-Фтор-5-[4-[(5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид

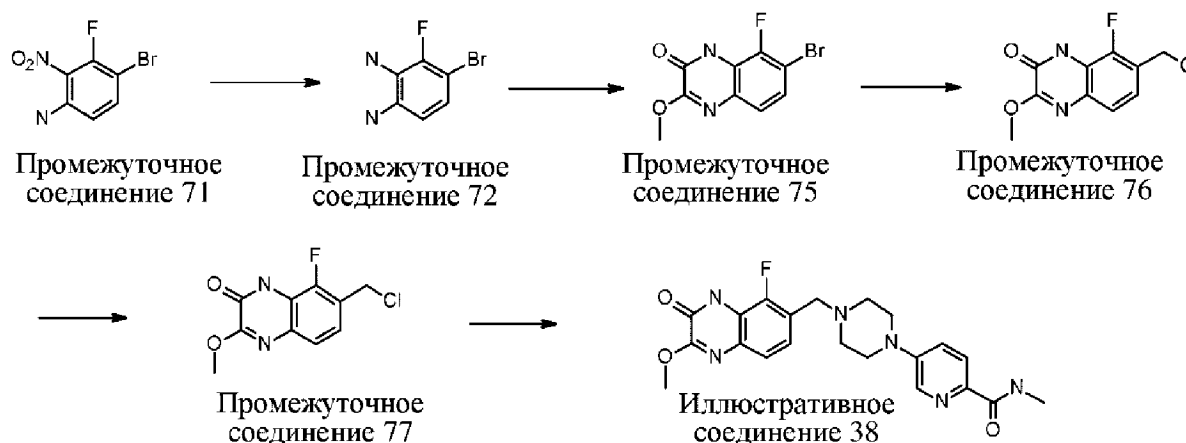
[0249] SOCl₂ (0,3 мл, 4,11 ммоль) добавляли к 8-фтор-7-(гидроксиметил)-1Н-хиноксалин-2-ону (загрязненному 5-фтор-6-(гидроксиметил)-1Н-хиноксалин-2-оном) (144 мг, 0,37 ммоль) в DCM (3 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении. DIPEA (0,25 мл, 1,43 ммоль) и 6-фтор-N-метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамид (**промежуточное соединение 32**) (94 мг, 0,39 ммоль) добавляли к смеси в NMP (3,00 мл). Полученную смесь перемешивали при 80°C в течение 1 ч. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной HPLC (колонка: колонка XBridge Prep OBD C18,

19 * 250 мм, 5 мкм; подвижная фаза А: вода (10 ммоль/л NH_4HCO_3 + 0,1% $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$), подвижная фаза В: АСN; скорость потока: 20 мл/мин; градиент: от 23 В до 25 В за 9 мин; 254/220 нм; RT1: 6,9, 8,46. Фракции, содержащие требуемое соединение, выпаривали до сухого состояния с получением 6-фтор-5-[4-[(5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид (**иллюстративного соединения 36**) (16,0 мг, 10%) в виде белого твердого вещества. ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$) 2,56-2,62 (4H, m), 2,76 (3H, d), 3,13-3,20 (4H, m), 3,71 (2H, d), 7,33 (1H, dd), 7,55 (1H, t), 7,61 (1H, d), 7,83 (1H, dd), 8,19 (1H, s), 8,37-8,43 (1H, m), 12,56 (1H, brs); ^{19}F ЯМР (376 МГц, $\text{DMSO-}d_6$) -72,57, -135,21; масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 415$.



Пример 37. 5-[4-[[2-(Дифторметил)-5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамид

[0250] Раствор хлорида железа(II) (6,18 мг, 0,05 ммоль) и дифторметансульфината цинка(II) (86 мг, 0,29 ммоль) в воде (0,5 мл) порциями добавляли к перемешиваемому раствору 5-[4-[(5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамид (**иллюстративного соединения 35**) (40,0 мг, 0,10 ммоль) и TFA (7,51 мкл, 0,10 ммоль) в DMSO (3 мл) при комнатной температуре. После чего добавляли трет-бутилгидропероксид (9,44 мкл, 0,10 ммоль) и полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной HPLC (колонка: колонка XBridge Prep OBD C18, 30 × 150 мм, 5 мкм; подвижная фаза А: вода (0,05% $\text{NH}_3\text{H}_2\text{O}$), подвижная фаза В: АСN; скорость потока: 60 мл/мин; градиент: от 12% В до 32% В за 7 мин; 254/220 нм; Rt: 6,07 мин. Фракции, содержащие требуемое соединение, выпаривали до сухого состояния с получением 5-[4-[[2-(дифторметил)-5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамид (**иллюстративного соединения 37**) (2,2 мг, 5%) в виде бледно-желтого твердого вещества. ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$) 2,49 (3H, s), 2,60-2,65 (4H, m), 2,80 (3H, d), 2,92-2,99 (4H, m), 3,76 (2H, s), 7,08 (1H, t), 7,39 (1H, t), 7,48 (1H, d), 7,70 (1H, d), 7,79 (1H, d), 8,42 (1H, q), 13,01 (1H, s); ^{19}F ЯМР (376 МГц, $\text{DMSO-}d_6$) -124,324, -134,183; масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 461$.



Промежуточное соединение 72. 4-Бром-3-фторбензол-1,2-диамин

[0251] Железный порошок (3,56 г, 63,83 ммоль) добавляли к 4-бром-3-фтор-2-нитроанилину (**промежуточному соединению 71**) (3,00 г, 12,77 ммоль), концентрированному хлороводороду (10,64 мл, 127,65 ммоль) в MeOH (30 мл) при к. т. Полученную смесь перемешивали при к. т. в течение 16 ч. Реакционную смесь разбавляли водой (100 мл) и экстрагировали этилацетатом (100 мл x 3). Органический слой высушивали над MgSO₄, фильтровали и выпаривали с получением 4-бром-3-фторбензол-1,2-диамина (**промежуточного соединения 72**) (2,5 г, 96%). 1H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*6) 4,66 (2H, s), 4,94 (2H, s), 6,30 (dd, 1H), 6,56 (dd, 1H); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 205.

Промежуточное соединение 75. 7-Бром-8-фтор-3-метокси-1H-хиноксалин-2-он

[0252] Метил-2,2,2-триметоксиацетат (2,402 г, 14,63 ммоль) добавляли к 4-бром-3-фторбензол-1,2-диамину (**промежуточному соединению 72**) (1,500 г, 7,32 ммоль), трис(((трифторметил)сульфонил)окси)иттербию (0,454 г, 0,73 ммоль) в толуоле (20 мл) при комнатной температуре. Полученную смесь перемешивали при 100°C в течение 5 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали посредством хроматографии с обращенной фазой на колонке C18, градиент элюирования 5-70% MeCN в воде. Чистые фракции выпаривали до сухого состояния с получением 7-бром-8-фтор-3-метокси-1H-хиноксалин-2-она (**промежуточного соединения 75**) (0,650 г, 32%) в виде белого твердого вещества. 1H ЯМР (300 МГц, DMSO-*d*6) 3,97 (3H, s), 7,31 (1H, dd), 7,45 (1H, dd); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 273.

Промежуточное соединение 76. 8-Фтор-7-(гидроксиметил)-3-метокси-1H-хиноксалин-2-он

[0253] (Трибутилстаннил)метанол (882 мг, 2,75 ммоль) добавляли к 7-бром-8-фтор-3-метоксихиноксалин-2(1H)-ону (**промежуточному соединению 75**) (300,0 мг, 1,1 ммоль), cataCXium A-Pd-G2 (73 мг, 0,11 ммоль) в 1,4-диоксане (20 мл) при комнатной температуре в атмосфере азота. Полученную смесь перемешивали при 100°C в течение

16 ч. Реакционную смесь гасили насыщ. раствором KF (10 мл) и затем фильтровали. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали посредством хроматографии с обращенной фазой на колонке C18, градиент элюирования 5-100% MeOH в воде. Чистые фракции выпаривали до сухого состояния с получением 8-фтор-7-(гидроксиметил)-3-метокси-1H-хиноксалин-2-она (**промежуточного соединения 76**) (130 мг, 53%) в виде белого твердого вещества. 1H ЯМР (300 МГц, DMSO-*d*₆) 3,97 (3H, s), 4,88 (2H, d), 5,36 (1H, s), 7,27-7,32 (1H, m), 7,36 (1H, d), 12,45 (1H, s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 225.

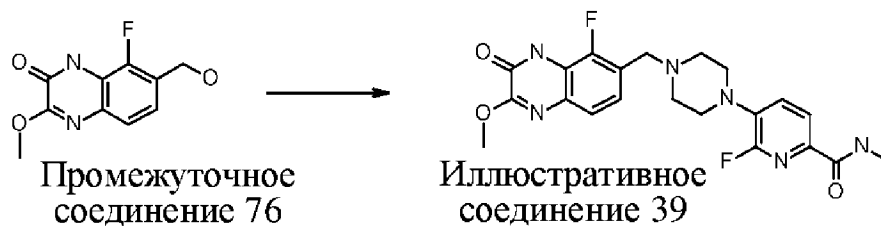
Промежуточное соединение 77. 7-(Хлорметил)-8-фтор-3-метокси-1H-хиноксалин-2-он

[0254] SOCl₂ (8 мл, 109,62 ммоль) добавляли к 8-фтор-7-(гидроксиметил)-3-метокси-1H-хиноксалин-2-ону (**промежуточному соединению 76**) (50,0 мг, 0,22 ммоль) в диэтиловом эфире (50 мл) при комнатной температуре. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении с получением 7-(хлорметил)-8-фтор-3-метокси-1H-хиноксалин-2-она (**промежуточного соединения 77**) (66,7 мг, 122%, неочищенного) в виде желтого масла. Продукт непосредственно применяли на следующей стадии без дополнительной очистки. 1H ЯМР (300 МГц, DMSO-*d*₆) 3,97 (3H, s), 4,88 (2H, s), 7,27-7,42 (2H, m), 12,60 (1H, s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 243.

Пример 38. 5-[4-[(5-Фтор-2-метокси-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид

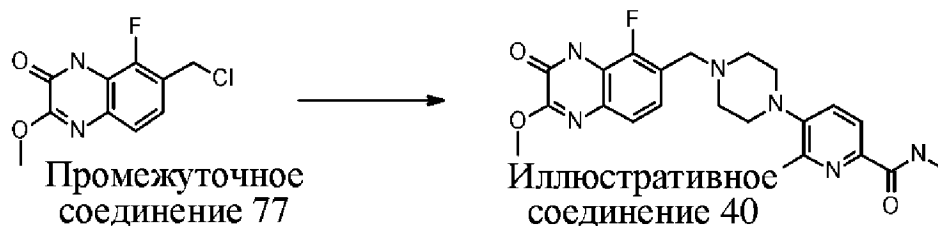
[0255] N-Метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамид (**промежуточное соединение 31**) (150 мг, 0,68 ммоль) добавляли к 7-(хлорметил)-8-фтор-3-метокси-1H-хиноксалин-2-ону (**промежуточному соединению 77**) (198 мг, 0,82 ммоль), DIPEA (0,595 мл, 3,40 ммоль) в MeCN (10 мл) при комнатной температуре. Полученную смесь перемешивали при 60°C в течение 16 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали посредством флэш-хроматографии с применением колонки для флэш-хроматографии C18, градиент элюирования 5-70% MeCN в воде. Чистые фракции выпаривали до сухого состояния с получением продукта (103,0 мг) в виде желтого твердого вещества (чистота 80%, определенная по УФ-поглощению). Повторно очищали посредством флэш-хроматографии с применением колонки для флэш-хроматографии C18, градиент элюирования 5-70% MeCN в воде. Чистые фракции выпаривали до сухого состояния с получением 5-[4-[(5-фтор-2-метокси-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид (**иллюстративного соединения 38**) (36,0 мг, 12%) в виде желтого твердого вещества. 1H ЯМР (300 МГц, DMSO-*d*₆) 2,51-2,60 (4H, m), 2,77 (3H, d), 3,18-3,45 (4H, m), 3,66 (2H,

s), 3,95 (3H, s), 7,10-7,27 (1H, m), 7,27-7,42 (2H, m), 7,81 (1H, d), 8,25 (1H, d), 8,39 (1H, q), 12,30 (1H, s); ¹⁹F ЯМР (282 МГц, DMSO-*d*₆) -134,783; масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 427.



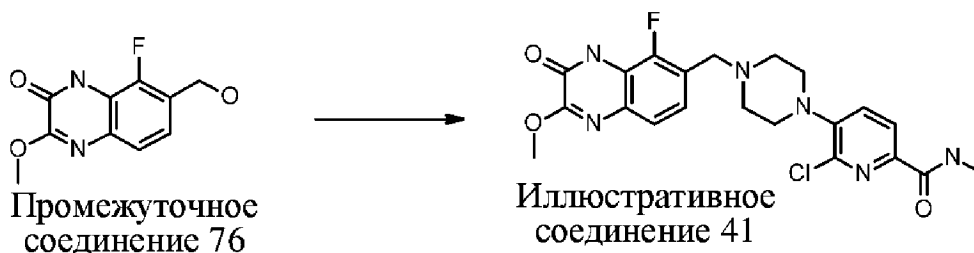
Пример 39. 6-Фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метокси-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид

[0256] SOCl₂ (0,065 мл, 0,89 ммоль) добавляли к 8-фтор-7-(гидроксиметил)-3-метокси-1H-хиноксалин-2-ону (**промежуточному соединению 76**) (0,040 г, 0,18 ммоль) в диэтиловом эфире (10 мл) при комнатной температуре. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении. 6-Фтор-N-метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамид (**промежуточное соединение 32**) (0,043 г, 0,18 ммоль) и DIPEA (0,156 мл, 0,89 ммоль) в MeCN (10,00 мл) добавляли к вышеуказанному твердому веществу при комнатной температуре. Полученную смесь перемешивали при 60°C в течение 16 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали с применением колонки для препаративной HPLC, колонка: 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 34 В до 48 В за 7 мин; 254/220 нм; RT1: 5,9. Фракции, содержащие требуемое соединение, выпаривали до сухого состояния с получением 6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метокси-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид (**иллюстративного соединения 39**) (0,020 г, 25%) в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-*d*₆) 2,55-2,61 (4H, m), 2,75 (3H, d), 3,11-3,19 (4H, m), 3,67 (2H, s), 3,96 (3H, s), 7,18-7,29 (1H, m), 7,35 (1H, d), 7,55 (1H, dd), 7,79-7,88 (1H, m), 8,41 (1H, d), 12,50 (1H, s); ¹⁹F ЯМР (282 МГц, DMSO-*d*₆) -72,581, -134,799; масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 445.



Пример 40. 5-[4-[(5-Фтор-2-метокси-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамид

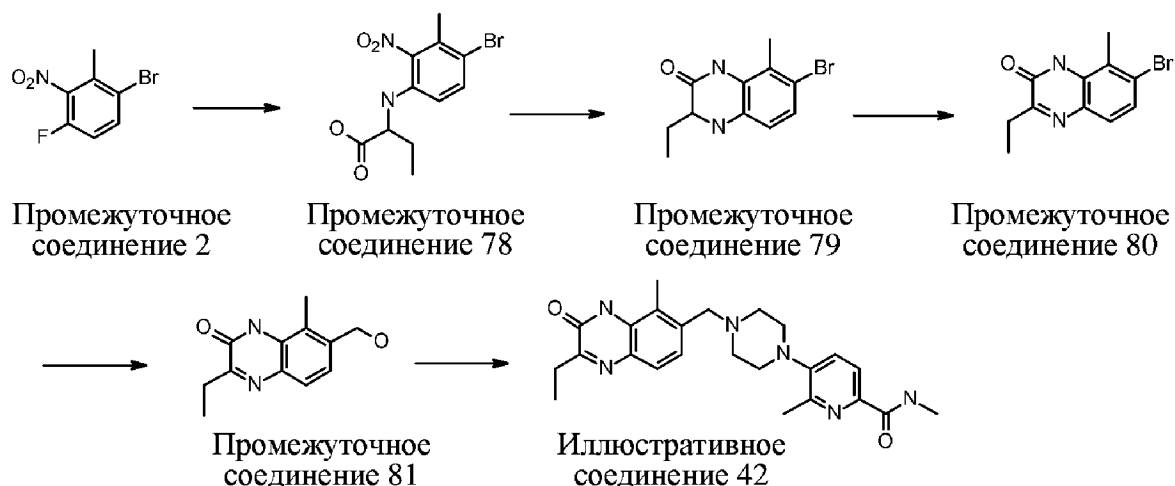
[0257] N,6-Диметил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамид (**промежуточное соединение 33**) (0,097 г, 0,41 ммоль) добавляли к 7-(хлорметил)-8-фтор-3-метоксихиноксалин-2(1H)-ону (**промежуточному соединению 77**) (0,100 г, 0,41 ммоль), DIPEA (0,360 мл, 2,06 ммоль) в MeCN (10 мл) при комнатной температуре. Полученную смесь перемешивали при 60°C в течение 16 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной HPLC; колонка: колонка XBridge Prep OBD C18, 30 × 150 мм, 5 мкм; подвижная фаза А: вода (0,05% NH₃H₂O), подвижная фаза В: ACN; скорость потока: 60 мл/мин; градиент: от 10В до 30В за 7 мин; 254/220 нм. Фракции, содержащие требуемое соединение, выпаривали до сухого состояния с получением 5-[4-[(5-фтор-2-метокси-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамида (**иллюстративного соединения 40**) (0,063 г, 35%) в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) 2,48 (3H, s), 2,58-2,63 (4H, m), 2,80 (3H, d), 2,92-2,96 (4H, m), 3,69 (2H, s), 3,97 (3H, s), 7,25 (1H, t), 7,36 (1H, d), 7,47 (1H, d), 7,79 (1H, d), 8,43 (1H, q), 12,51 (1H, s); ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-*d*₆) -134,815; масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 441.



Пример 41. 6-Хлор-5-[4-[(5-фтор-2-метокси-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид

[0258] SOCl₂ (0,065 мл, 0,89 ммоль) добавляли к 8-фтор-7-(гидроксиметил)-3-метокси-1H-хиноксалин-2-ону (**промежуточному соединению 76**) (0,040 г, 0,18 ммоль) в диэтиловом эфире (10 мл) при комнатной температуре. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении с получением неочищенного 7-(хлорметил)-8-фтор-3-метокси-1H-хиноксалин-2-она (0,045 г, 0,18 ммоль). MeCN (10,00 мл) добавляли к вышеуказанному твердому веществу с последующим добавлением 6-хлор-N-метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамида (**промежуточного соединения 30**) (0,045 г, 0,18 ммоль) и DIPEA (0,156 мл, 0,89 ммоль). Полученную смесь перемешивали при 80°C в течение 16 часов. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали с применением колонки для препаративной HPLC, колонка: YMC-Actus Triart C18, 30 * 250, 5 мкм; подвижная фаза А: вода (0,05% NH₃H₂O), подвижная фаза В: ACN; скорость потока: 60 мл/мин; градиент: от 21 В до 41 В за 7 мин; 254, 220 нм; RT1: 6,18. Фракции,

содержащие требуемое соединение, выпаривали до сухого состояния с получением 6-хлор-5-[4-[(5-фтор-2-метокси-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид (**иллюстративного соединения 41**) (0,041 г, 50%) в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-*d*₆) 2,56-2,66 (4H, m), 2,79 (3H, d), 3,06-3,16 (4H, m), 3,70 (2H, s), 3,97 (3H, s), 7,19-7,30 (m, 1H), 7,36 (d, 1H), 7,66 (d, 1H), 7,93 (d, 1H), 8,44 (d, 1H), 12,47 (s, 1H); ¹⁹F ЯМР (282 МГц, DMSO-*d*₆) -134,746; масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 461.



Промежуточное соединение 78. 2-(4-Бром-3-метил-2-нитроанилино)бутановая кислота

[0259] 2-Аминобутановую кислоту (0,793 г, 7,69 ммоль) добавляли к 1-бром-4-фтор-2-метил-3-нитробензолу (**промежуточному соединению 2**) (1,500 г, 6,41 ммоль), K₂CO₃ (2,66 г, 19,23 ммоль) в DMF (20 мл) при комнатной температуре. Полученную смесь перемешивали при 100°C в течение 6 ч. Реакционную смесь выливали в ледяную воду, медленно гасили 1 М раствором HCl (20 мл) при 0°C с получением желтой суспензии. Твердое вещество собирали посредством фильтрации, промывали водой и высушивали с получением 2-(4-бром-3-метил-2-нитроанилино)бутановой кислоты (**промежуточного соединения 78**) (1,4 г, 74%) в виде желтого твердого вещества (не очень чистого, переносили на следующую стадию без дополнительной очистки). Масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 317.

Промежуточное соединение 79. 7-Бром-3-этил-8-метил-3,4-дигидро-1H-хиноксалин-2-он

[0260] Железный порошок (1,585 г, 28,38 ммоль) медленно добавляли к 2-(4-бром-3-метил-2-нитроанилино)бутановой кислоте (**промежуточному соединению 78**) (1,800 г, 5,68 ммоль), концентрированному хлороводороду (4,73 мл, 56,76 ммоль) в MeOH (100 мл) при комнатной температуре. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 7 ч. Реакционную смесь фильтровали. Растворитель удаляли при

пониженном давлении. Реакционную смесь гасили насыщенным раствором Na_2CO_3 (40 мл) и экстрагировали с помощью EtOAc (3 x 50 мл). Органический слой высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и выпаривали с получением коричневого твердого вещества. Неочищенный продукт очищали посредством флэш-хроматографии с применением колонки для флэш-хроматографии C18, градиент элюирования 5-50% MeCN в воде. Чистые фракции выпаривали до сухого состояния с получением 7-бром-3-этил-8-метил-3,4-дигидро-1H-хиноксалин-2-она (**промежуточного соединения 79**) (650 мг, 43%) в виде белого твердого вещества. 1H ЯМР (300 МГц, $\text{DMSO-}d_6$) 0,90 (3H, t), 1,43-1,72 (2H, m), 2,22 (3H, s), 3,56 (1H, ddd), 6,16 (1H, d), 6,56 (1H, d), 6,97 (1H, d), 9,76 (1H, s); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 269$.

Промежуточное соединение 80. 7-Бром-3-этил-8-метил-1H-хиноксалин-2-он

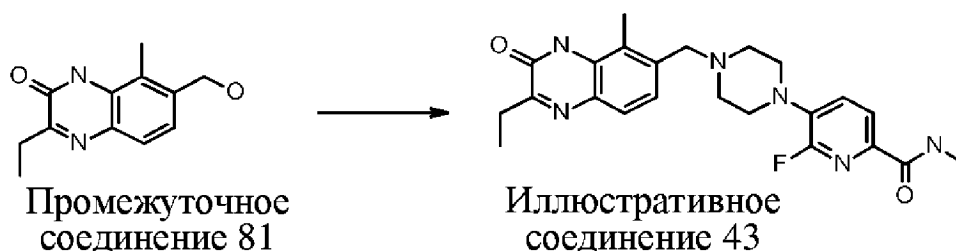
[0261] DDQ (1,316 г, 5,80 ммоль) добавляли к 7-бром-3-этил-8-метил-3,4-дигидро-1H-хиноксалин-2-ону (**промежуточному соединению 79**) (1,300 г, 4,83 ммоль) в 1,4-диоксане (150 мл) при комнатной температуре. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Реакционную смесь гасили насыщенным раствором NaHCO_3 (150 мл). Осадок собирали посредством фильтрации. Твердое вещество промывали водой (10 мл x 3) и высушивали под вакуумом с получением требуемого продукта, представляющего собой 7-бром-3-этил-8-метил-1H-хиноксалин-2-он (**промежуточное соединение 80**) (1,2 г, 93%), в виде желтого твердого вещества. 1H ЯМР (300 МГц, $\text{DMSO-}d_6$) 1,20 (3H, t), 2,44-2,53 (3H, m), 2,78 (2H, q), 7,48 (2H, s), 11,74 (1H, s); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 267$.

Промежуточное соединение 81. 3-Этил-7-(гидроксиметил)-8-метил-1H-хиноксалин-2-он

[0262] (Трибутилстаннил)метанол (1202 мг, 3,74 ммоль) добавляли к 7-бром-3-этил-8-метилхиноксалин-2(1H)-ону (**промежуточному соединению 80**) (400 мг, 1,50 ммоль), $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (173 мг, 0,15 ммоль) в 1,4-диоксане (40 мл) при комнатной температуре в атмосфере азота. Полученную смесь перемешивали при 60°C в течение 16 ч. Реакционную смесь гасили с помощью KF (10 мл) и твердое вещество отфильтровывали. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали посредством флэш-хроматографии с применением колонки для флэш-хроматографии C18, градиент элюирования 5-100% MeOH в воде. Чистые фракции выпаривали до сухого состояния с получением 3-этил-7-(гидроксиметил)-8-метил-1H-хиноксалин-2-она (**промежуточного соединения 81**) (100 мг, 31%) в виде белого твердого вещества. 1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$) 1,22 (3H, t), 2,32 (3H, s), 2,81 (2H, q), 4,59 (2H, d), 5,25 (1H, s), 7,33 (1H, d), 7,55 (1H, d); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 219$.

Пример 42. 5-[4-[(2-Этил-5-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамид

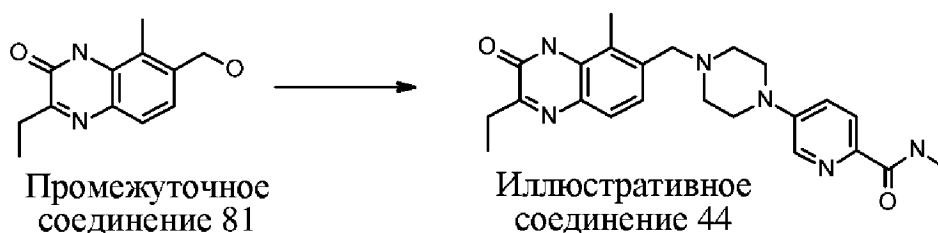
[0263] Добавляли НВг в АсОН (1 мл, 6,08 ммоль) (33 вес. %) к 3-этил-7-(гидроксиметил)-8-метилхиноксалин-2(1Н)-ону (**промежуточному соединению 81**) (65,0 мг, 0,30 ммоль) при к. т. Полученную смесь перемешивали при 60°C в течение 2 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении. N,6-Диметил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамид (**промежуточное соединение 33**) (69,8 мг, 0,30 ммоль) и DIPEA (0,156 мл, 0,89 ммоль) в NMP (3 мл) добавляли к вышеуказанному твердому веществу при комнатной температуре. Полученную смесь перемешивали при 60°C в течение 2 ч. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной HPLC (колонка, колонка: колонка Sunfire prep C18, 30 * 150, 5 мкм; подвижная фаза А: вода (0,1% FA), подвижная фаза В: АСN; скорость потока: 60 мл/мин; градиент: от 9 В до 20 В за 7 мин; 254/220 нм; RT1: 5,15. Фракции, содержащие требуемое соединение, выпаривали до сухого состояния с получением 5-[4-[(2-этил-5-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамид (**иллюстративного соединения 42**) (0,049 г, 38%) в виде бледно-желтого твердого вещества. 1Н ЯМР (300 МГц, DMSO-*d*6) 1,20 (3H, t), 2,42 (3H, s), 2,50 (3H, s), 2,53-2,59 (4H, m), 2,73-2,86 (5H, m), 2,87-2,93 (4H, m), 3,61 (2H, s), 7,23 (1H, d), 7,45 (1H, d), 7,52 (1H, d), 7,76 (1H, d), 8,39 (1H, d), 11,52 (1H, s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 435.



Пример 43. 5-[4-[(2-Этил-5-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-фтор-N-метилпиридин-2-карбоксамид

[0264] Добавляли НВг в АсОН (1 мл, 6,08 ммоль) (33 вес. %) к 3-этил-7-(гидроксиметил)-8-метил-1Н-хиноксалин-2-ону (**промежуточному соединению 81**) (65,0 мг, 0,30 ммоль) при комнатной температуре. Полученную смесь перемешивали при 60°C в течение 2 часов. Растворитель удаляли при пониженном давлении. 6-Фтор-N-метил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамид (**промежуточное соединение 32**) (71,0 мг, 0,30 ммоль) добавляли к вышеуказанному твердому веществу с последующим добавлением DIPEA (0,156 мл, 0,89 ммоль) в NMP (3 мл) при комнатной температуре. Полученную смесь перемешивали при 60°C в течение 2 часов. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной HPLC (колонка, колонка: колонка XBridge Prep

OBD C18, 30 × 150 мм, 5 мкм; подвижная фаза А: вода (0,05% NH₃H₂O), подвижная фаза В: ACN; скорость потока: 60 мл/мин; градиент: от 31 В до 51 В за 7 мин; 254/220 нм; RT1: 6,27. Фракции, содержащие требуемое соединение, выпаривали до сухого состояния с получением 5-[4-[(2-этил-5-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-фтор-N-метилпиридин-2-карбоксамида (**иллюстративного соединения 43**) (0,043 г, 33%) в виде бледно-желтого твердого вещества. ¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-*d*₆) 1,20 (3H, t), 2,41 (3H, s), 2,49-2,59 (4H, m), 2,70-2,81 (5H, m), 3,08-3,16 (4H, m), 3,59 (2H, s), 7,22 (1H, d), 7,47-7,60 (2H, m), 7,82 (1H, dd), 8,37 (1H, d), 11,52 (1H, s); ¹⁹F ЯМР (282 МГц, DMSO-*d*₆) - 72,539; масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 439.



Пример 44. 5-[4-[(2-Этил-5-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид

[0265] Добавляли НВг в АсОН (1 мл, 18,42 ммоль) (33 вес. %) к 3-этил-7-(гидроксиметил)-8-метил-1Н-хиноксалин-2-ону (**промежуточному соединению 81**) (65,0 мг, 0,30 ммоль) при комнатной температуре. Полученную смесь перемешивали при 60°C в течение 2 часов. Растворитель удаляли при пониженном давлении. N-Метил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамид (**промежуточное соединение 31**) (65,6 мг, 0,30 ммоль) и DIPEA (0,156 мл, 0,89 ммоль) добавляли к вышеуказанному твердому веществу в NMP (3 мл) при комнатной температуре. Полученную смесь перемешивали при 60°C в течение 2 ч. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной HPLC (колонка: колонка Sunfire prep C18, 30 * 150, 5 мкм; подвижная фаза А: вода (0,1% FA), подвижная фаза В: ACN; скорость потока: 60 мл/мин; градиент: от 9 В до 20 В за 7 мин; 254/220 нм; RT1: 5,15. Фракции, содержащие требуемое соединение, выпаривали до сухого состояния с получением 5-[4-[(2-этил-5-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида (**иллюстративного соединения 44**) (0,014 г, 10%) в виде бледно-желтого твердого вещества. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) 1,16-1,26 (3H, m), 2,41 (3H, s), 2,49-2,59 (4H, m), 2,70-2,81 (5H, m), 3,30-3,35 (4H, m, сливался с пиком, соответствующим воде), 3,61 (2H, s), 7,25 (1H, d), 7,38 (1H, d), 7,55 (1H, d), 7,82 (1H, d), 8,26 (1H, s), 8,38 (1H, s), 11,53 (1H, s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 421.



Промежуточное соединение 82. трет-Бутил-4-[6-(этилкарбамоил)-2-фтор-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилат

[0266] трет-Бутил-4-(2-фтор-6-метоксикарбонил-3-пиридил)пиперазин-1-карбоксилат (**промежуточное соединение 11**) (500 мг, 1,47 ммоль) добавляли к этиламину в воде (10 мл, 1,47 ммоль) (65 вес. %). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакция протекала до завершения. Осадок собирали посредством фильтрации, промывали водой (2 мл x 3) и высушивали под вакуумом с получением трет-бутил-4-[6-(этилкарбамоил)-2-фтор-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилата (**промежуточного соединения 82**) (0,515 г, 99%) в виде грязно-белого твердого вещества. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) 1,09 (3H, t), 1,42 (9H, s), 3,11 (4H, t), 3,23-3,30 (2H, m), 3,49 (4H, t), 7,59 (1H, dd), 7,85 (1H, d), 8,45 (1H, t); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 353.

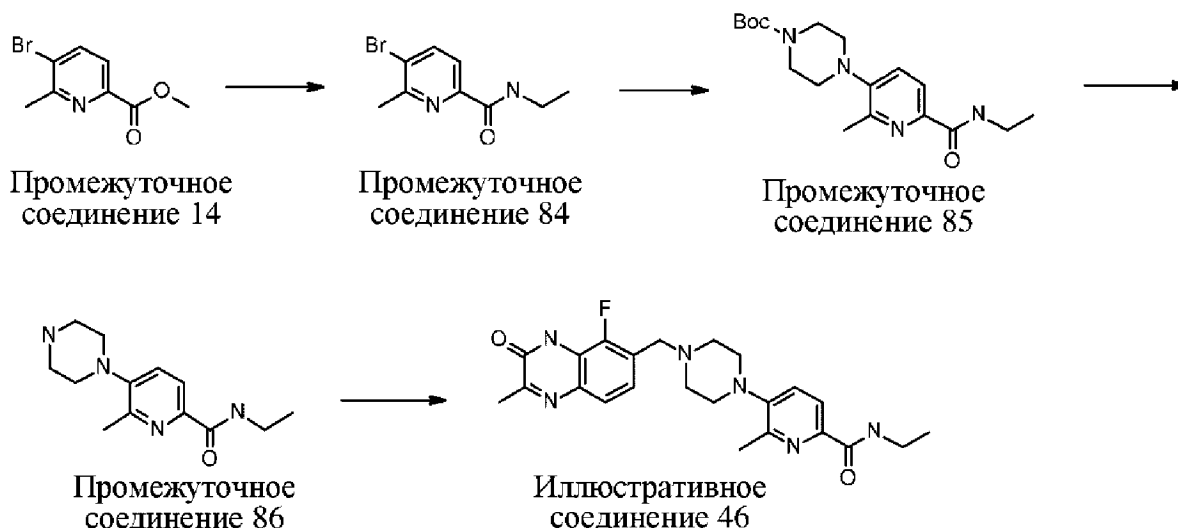
Промежуточное соединение 83. N-Этил-6-фтор-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамид

[0267] трет-Бутил-4-[6-(этилкарбамоил)-2-фтор-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилат (**промежуточное соединение 82**) (536 мг, 1,52 ммоль) добавляли к HCl в 1,4-диоксане (5 мл, 20,00 ммоль). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Добавляли DIPEA (5 мл) и полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 15 мин. Реакционную смесь выпаривали с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали посредством флэш-хроматографии с применением колонки для флэш-хроматографии C18, градиент элюирования 5-50% MeCN в воде (0,1% NH₄HCO₃). Чистые фракции выпаривали до сухого состояния с получением N-этил-6-фтор-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамида (**промежуточного соединения 83**) (0,368 г, 96%) в виде желтого твердого вещества. Образец не был чистым, его переносили на следующую стадию без дополнительной очистки; масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 253.

Пример 45. N-Этил-6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]пиридин-2-карбоксамид

[0268] Ph₃P (94 мг, 0,36 ммоль) добавляли к СВг₄ (119 мг, 0,36 ммоль), 8-фтор-7-(гидроксиметил)-3-метилхиноксалин-2(1H)-ону (**промежуточному соединению 17**) (50 мг, 0,24 ммоль) в CH₂Cl₂ (3 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной

температуре в течение 1 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении. N-Этил-6-фтор-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамид (**промежуточное соединение 83**) (60 мг, 0,24 ммоль) и DIPEA (1,5 мл, 8,59 ммоль) в NMP (3 мл) добавляли к смеси. Полученную смесь перемешивали при 80°C в течение 2 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали посредством флэш-хроматографии с применением колонки для флэш-хроматографии C18, градиент элюирования 0-25% MeCN в воде (NH₄HCO₃). Чистые фракции выпаривали до сухого состояния с получением N-этил-6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]пиридин-2-карбоксамид (**иллюстративного соединения 45**) (2,60 мг, 3%) в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-*d*₆) 1,09 (3H, t), 2,40 (3H, s), 2,52-2,62 (4H, m), 3,17-3,27 (4H, m), 3,25 (2H, q), 3,68 (2H, s), 7,28 (1H, t), 7,48-7,59 (2H, m), 7,82 (1H, d), 8,41 (1H, t), 12,48 (1H, s); ¹⁹F ЯМР (282 МГц, DMSO-*d*₆) -72,58, -135,52; масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 443.



Промежуточное соединение 84. 5-Бром-N-этил-6-метилпиридин-2-карбоксамид

[0269] Раствор этанамина в H₂O (3 мл, 2,20 ммоль) (65 вес. %) добавляли к метил-5-бром-6-метилпиридин-2-карбоксилату (**промежуточному соединению 14**) (505 мг, 2,20 ммоль). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении с получением 5-бром-N-этил-6-метилпиридин-2-карбоксамид (**промежуточного соединения 84**) (0,500 г, 94%) в виде желтого твердого вещества. ¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-*d*₆) 1,13 (3H, t), 2,66 (3H, s), 3,26-3,39 (2H, m), 7,76 (1H, d), 8,18 (1H, d), 8,67-8,72 (1H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 243.

Промежуточное соединение 85. трет-Бутил-4-[6-(этилкарбамоил)-2-метил-3-тиридил]пиперазин-1-карбоксилат

[0270] Cs₂CO₃ (1,340 г, 4,11 ммоль) добавляли к 5-бром-N-этил-6-метилпиридин-2-карбоксамиду (**промежуточному соединению 84**) (0,5 г, 2,06 ммоль), трет-

бутилпиперазин-1-карбоксилату (0,575 г, 3,09 ммоль), BINAP (0,128 г, 0,21 ммоль) и Pd(OAc)₂ (0,046 г, 0,21 ммоль) в 1,4-диоксане (5 мл). Полученную смесь перемешивали при 100°C в течение 18 ч в атмосфере азота. Реакционную смесь разбавляли с помощью EtOAc (10 мл) и последовательно промывали водой (10 мл x 2) с последующим промыванием соевым раствором (10 мл x 1). Органический слой высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и выпаривали с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле, градиент элюирования 0-40% EtOAc в петролейном эфире. Чистые фракции выпаривали до сухого состояния с получением трет-бутил-4-[6-(этилкарбамоил)-2-метил-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилата (**промежуточного соединения 85**) (0,481 г, 67%) в виде желтого твердого вещества. ¹H ЯМР (300 МГц, хлороформ-*d*) 1,26 (3H, t), 1,49 (9H, s), 2,54 (3H, s), 2,85-2,98 (4H, m), 3,49 (2H, qd), 3,56-3,65 (4H, m), 7,32 (1H, d), 7,91-8,01 (2H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 349.

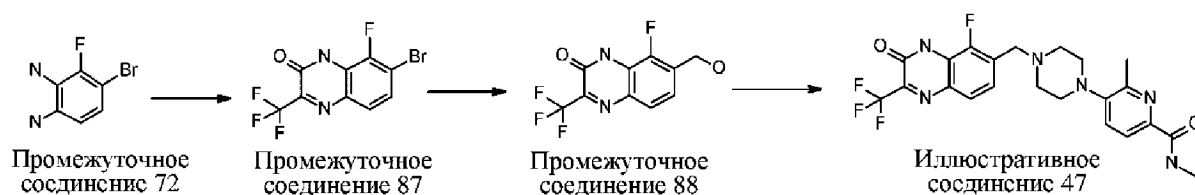
Промежуточное соединение 86. N-Этил-6-метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамид

[0271] HCl в 1,4-диоксане (4 мл, 16,00 ммоль, 4 M) добавляли к трет-бутил-4-[6-(этилкарбамоил)-2-метил-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилату (**промежуточному соединению 85**) (0,481 г, 1,38 ммоль) в MeOH (10 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Реакционную смесь подщелачивали с помощью DIPEA (1 мл) в MeOH (3 мл). Растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали посредством флэш-хроматографии с применением колонки для флэш-хроматографии C18, градиент элюирования 0-20% MeCN в воде (NH₄HCO₃). Чистые фракции выпаривали до сухого состояния с получением N-этил-6-метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамида (**промежуточного соединения 86**) (0,189 г, 55%) в виде желтого масла. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*6) 1,12 (3H, t), 2,81-2,92 (8H, m), 3,27-3,36 (5H, m), 7,46 (1H, d), 7,81 (1H, d), 8,43 (1H, t); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 249.

Пример 46. N-Этил-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-метилпиридин-2-карбоксамид

[0272] Ph₃P (299 мг, 1,14 ммоль) добавляли к 8-фтор-7-(гидроксиметил)-3-метилхиноксалин-2(1H)-ону (158 мг, 0,76 ммоль) (**промежуточному соединению 17**), CBr₄ (378 мг, 1,14 ммоль) в CH₂Cl₂ (3,00 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении. N-Этил-6-метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамид (**промежуточное соединение 86**) (188 мг, 0,76 ммоль) и DIPEA (1,5 мл, 8,59 ммоль) добавляли к смеси в NMP (3 мл).

Полученную смесь перемешивали при 80°C в течение 2 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали посредством флэш-хроматографии с применением колонки для флэш-хроматографии C18, градиент элюирования 0-25% MeCN в воде (NH₄HCO₃). Чистые фракции выпаривали до сухого состояния с получением N-этил-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-метилпиридин-2-карбоксиамида (**иллюстративного соединения 46**) (7,40 мг, 2%) в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-*d*6) 1,10 (3H, t), 2,40 (3H, s), 2,50 (3H, s), 2,54-2,64 (4H, m), 2,87-2,97 (4H, m), 3,30 (2H, q), 3,70 (2H, s), 7,28 (1H, t), 7,47 (1H, d), 7,52 (1H, d), 7,77 (1H, d), 8,42 (1H, t), 12,44 (1H, s); ¹⁹F ЯМР (282 МГц, DMSO-*d*6) -135,54; масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 439.



Промежуточное соединение 87. 7-Бром-8-фтор-3-(трифторметил)-1H-хиноксалин-2-он

[0273] Этил-3,3,3-трифтор-2-оксопропаноат (2,30 г, 13,52 ммоль) добавляли к 4-бром-3-фторбензол-1,2-диамину (**промежуточному соединению 72**) (2,20 г, 10,73 ммоль) в толуоле (10 мл). Полученную смесь перемешивали при 100°C в течение 18 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали посредством флэш-хроматографии с применением колонки для флэш-хроматографии C18, градиент элюирования 3-70% MeCN в воде (0,1% NH₄HCO₃). Чистые фракции выпаривали до сухого состояния с получением 7-бром-8-фтор-3-(трифторметил)-1H-хиноксалин-2-она (**промежуточного соединения 87**) (загрязненного 6-бром-5-фтор-3-(трифторметил)-1H-хиноксалин-2-оном) (3,40 г, 501%) в виде грязно-белого твердого вещества. Масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 311.

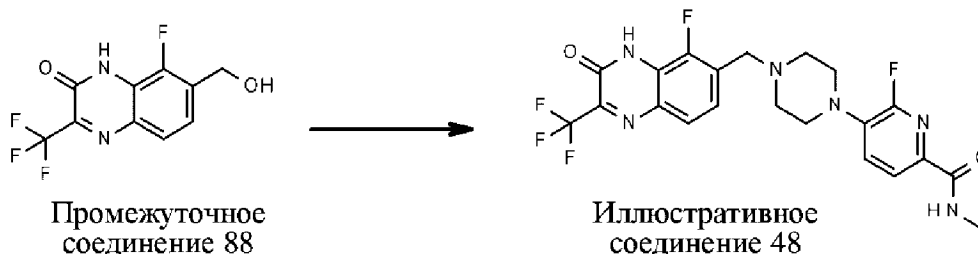
Промежуточное соединение 88. 8-Фтор-7-(гидроксиметил)-3-(трифторметил)-1H-хиноксалин-2-он

[0274] CataCxiuи A Pd G2 (53 мг, 0,08 ммоль) добавляли к 7-бром-8-фтор-3-(трифторметил)-1H-хиноксалин-2-ону (**промежуточному соединению 87**) (загрязненному 6-бром-5-фтор-3-(трифторметил)-1H-хиноксалин-2-оном) (0,5 г, 0,80 ммоль) и (трибутилстаннил)метанолу (0,5 мл, 0,80 ммоль) в 1,4-диоксане (15 мл). Полученную смесь перемешивали при 80°C в течение 18 ч в атмосфере азота. Реакционную смесь гасили насыщенным раствором KF (1,25 мл). Реакционный раствор собирали посредством фильтрации, промывали диоксаном (2,5 мл). Растворитель в объединенных органических слоях удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали посредством

флэш-хроматографии с применением колонки для флэш-хроматографии C18, градиент элюирования 3-40% MeCN в воде (0,1%, TFA). Чистые фракции выпаривали до сухого состояния с получением 8-фтор-7-(гидроксиметил)-3-(трифторметил)-1H-хиноксалин-2-она (**промежуточного соединения 88**) (загрязненного 5-фтор-6-(гидроксиметил)-3-(трифторметил)-1H-хиноксалин-2-оном) (0,217 г, 51%) в виде грязно-белого твердого вещества. Масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 263.

Пример 47. 5-[4-[[5-Фтор-3-оксо-2-(трифторметил)-4H-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамид

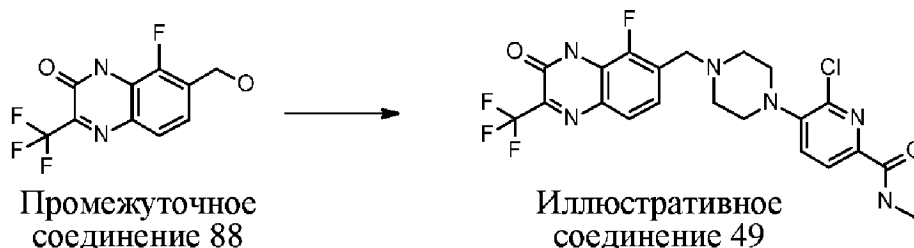
[0275] SOCl₂ (0,5 мл, 6,85 ммоль) добавляли к 8-фтор-7-(гидроксиметил)-3-(трифторметил)-1H-хиноксалин-2-ону (**промежуточному соединению 88**) (загрязненному 5-фтор-6-(гидроксиметил)-3-(трифторметил)-1H-хиноксалин-2-оном) (160 мг, 0,31 ммоль) в Et₂O (5 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении. DIPEA (4 мл, 22,90 ммоль) и N,6-диметил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамид (**промежуточное соединение 33**) (134 мг, 0,57 ммоль) добавляли к смеси в MeCN (10 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 24 ч. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной HPLC (колонка: колонка XBridge BEH C18 OBD Prep, 5 мкм, 19 мм, 250 мм; подвижная фаза А: вода (10 ммоль/л NH₄HCO₃ + 0,1% NH₃·H₂O), подвижная фаза В: ACN; скорость потока: 20 мл/мин; градиент: от 24 В до 33 В за 10 мин; 254/220 нм; RT1: 8,2/9,5). Фракции, содержащие требуемое соединение, выпаривали до сухого состояния с получением 5-[4-[[5-фтор-3-оксо-2-(трифторметил)-4H-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамид (**иллюстративного соединения 47**) (8,8 мг, 6%) в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) 2,50 (3H, s), 2,58-2,66 (4H, m), 2,79 (3H, d), 2,90-2,99 (4H, m), 3,77 (2H, s), 7,41 (1H, t), 7,47 (1H, d), 7,72 (1H, d), 7,78 (1H, d), 8,39-8,44 (1H, m), 13,21 (1H, brs); ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-*d*₆) -68,50, -133,81; масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 479.



Пример 48. 6-Фтор-5-[4-[[5-фтор-3-оксо-2-(трифторметил)-4H-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид

[0276] SOCl₂ (0,4 мл, 5,48 ммоль) добавляли к 8-фтор-7-(гидроксиметил)-3-(трифторметил)-1H-хиноксалин-2-ону (**промежуточному соединению 88**) (загрязненному

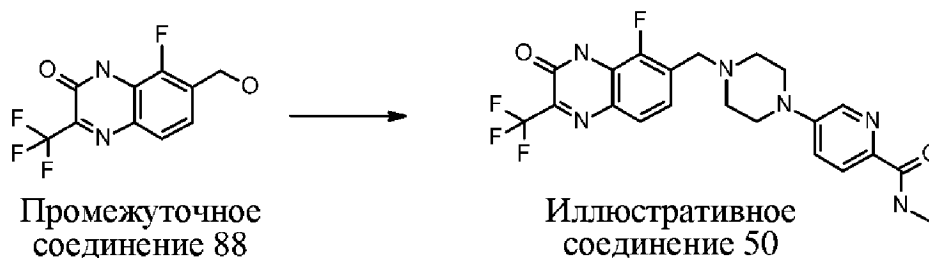
5-фтор-6-(гидроксиметил)-3-(трифторметил)-1H-хиноксалин-2-оном) (120 мг, 0,23 ммоль) в Et₂O (5 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении. DIPEA (2 мл, 11,45 ммоль) и 6-фтор-N-метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамид (**промежуточное соединение 32**) (156 мг, 0,65 ммоль) добавляли к смеси в MeCN (10 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 24 ч. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной HPLC (колонка: колонка XBridge VEN C18 OBD Prep, 5 мкм, 19 мм, 250 мм; подвижная фаза А: вода (10 ммоль/л NH₄HCO₃ + 0,1% NH₃·H₂O), подвижная фаза В: ACN; скорость потока: 20 мл/мин; градиент: от 25 В до 37 В за 10 мин; 254/220 нм; RT1: 7,58/8,97). Фракции, содержащие требуемое соединение, выпаривали до сухого состояния с получением 6-фтор-5-[4-[[5-фтор-3-оксо-2-(трифторметил)-4H-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид (**иллюстративного соединения 48**) (8,9 мг, 8%) в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) 2,58-2,65 (4H, m), 2,76 (3H, d), 3,14-3,21 (4H, m), 3,75 (2H, s), 7,39 (1H, t), 7,56 (1H, dd), 7,71 (1H, d), 7,84 (1H, dd), 8,37-8,43 (1H, m), 13,39 (1H, brs); ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-*d*₆) -68,48, -72,59, -133,78; масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 483.



Пример 49. 6-Хлор-5-[4-[[5-фтор-3-оксо-2-(трифторметил)-4H-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид

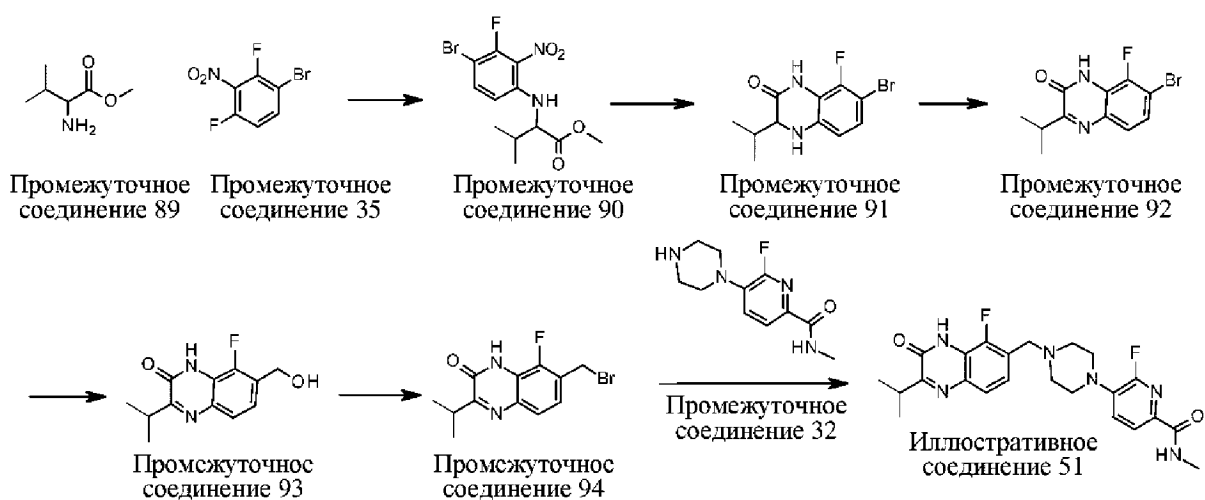
[0277] SOCl₂ (0,4 мл, 5,48 ммоль) добавляли к 8-фтор-7-(гидроксиметил)-3-(трифторметил)-1H-хиноксалин-2-ону (**промежуточному соединению 88**) (загрязненному 5-фтор-6-(гидроксиметил)-3-(трифторметил)-1H-хиноксалин-2-оном) (120 мг, 0,23 ммоль) в Et₂O (5 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении. DIPEA (2 мл, 11,45 ммоль) и 6-хлор-N-метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамид (**промежуточное соединение 30**) (157 мг, 0,62 ммоль) добавляли к смеси в MeCN (10 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 24 ч. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной HPLC (колонка: 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 45 В до 57 В за 10 мин; 254/220 нм). Фракции, содержащие требуемое соединение, выпаривали до сухого состояния с

получением 6-хлор-5-[4-[[5-фтор-3-оксо-2-(трифторметил)-4Н-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид (**иллюстративного соединения 49**) (18 мг, 16%) в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) 2,60-2,68 (4H, m), 2,78 (3H, d), 3,07-3,16 (4H, m), 3,77 (2H, s), 7,40 (1H, t), 7,66 (1H, d), 7,72 (1H, d), 7,93 (1H, d), 8,40-8,43 (1H, m), 13,25 (1H, brs); ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-*d*₆) -68,51, -133,73; масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 499.



Пример 50. 5-[4-[[5-Фтор-3-оксо-2-(трифторметил)-4Н-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид

[0278] SOCl₂ (0,4 мл, 5,48 ммоль) добавляли к 8-фтор-7-(гидроксиметил)-3-(трифторметил)-1Н-хиноксалин-2-ону (**промежуточному соединению 88**) (загрязненному 5-фтор-6-(гидроксиметил)-3-(трифторметил)-1Н-хиноксалин-2-оном) (120 мг, 0,23 ммоль) в Et₂O (5 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2. Растворитель удаляли при пониженном давлении. DIPEA (2 мл, 11,45 ммоль) и N-метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамид (**промежуточное соединение 31**) (259 мг, 1,18 ммоль) добавляли к смеси в MeCN (10 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 24 ч. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной HPLC (колонка: 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 15 В до 35 В за 10 мин; 254/220 нм; RT1: 10,18/11,2). Фракции, содержащие требуемое соединение, выпаривали до сухого состояния с получением 5-[4-[[5-фтор-3-оксо-2-(трифторметил)-4Н-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид (**иллюстративного соединения 50**) (6 мг, 6%) в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) 2,51-2,57 (4H, m), 2,76 (3H, d), 3,25-3,34 (4H, m), 3,72 (2H, s), 7,30 (1H, t), 7,39 (1H, dd), 7,65 (1H, d), 7,83 (1H, d), 8,27 (1H, d), 8,36-8,41 (1H, m); ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-*d*₆) -68,34, -133,80; масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 465.



Промежуточное соединение 90. Метил-2-(4-бром-3-фтор-2-нитроанилино)-3-метилбутаноат

[0279] DIPEA (2,202 мл, 12,61 ммоль) медленно добавляли к перемешиваемому раствору 1-бром-2,4-дифтор-3-нитробензола (**промежуточного соединения 35**) (1 г, 4,20 ммоль) и метилвалината, HCl (**промежуточного соединения 89**) (0,704 г, 4,20 ммоль) в DMF (6 мл). Полученный раствор перемешивали при к. т. в течение 18 часов (полное превращение в требуемый продукт подтверждали посредством LCMS). Реакционную смесь концентрировали, разбавляли водой и экстрагировали этилацетатом, органический слой высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали под вакуумом. Неочищенный продукт очищали посредством хроматографии с нормальной фазой с применением смеси гексан: этилацетат с получением метил-2-(4-бром-3-фтор-2-нитроанилино)-3-метилбутаноата (0,763 г, 52,0%) (**промежуточного соединения 90**) в виде ярко-оранжевого твердого вещества. ¹H ЯМР (500 МГц, дихлорметан-d₂) 1,00-1,14 (6H, m), 2,20-2,35 (1H, m), 3,78 (3H, s), 4,06 (1H, dd), 6,52 (1H, br d), 7,39 (1H, br d), 7,52 (1H, dd); ¹⁹F ЯМР (471 МГц, дихлорметан-d₂) -109,33 (1F, s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 349.

Промежуточное соединение 91. 7-Бром-8-фтор-3-изопропил-3,4-дигидро-1H-хиноксалин-2-он

[0280] Порошок цинка (1,143 г, 17,48 ммоль) порциями добавляли к смеси метил-2-(4-бром-3-фтор-2-нитроанилино)-3-метилбутаноата (0,763 г, 2,19 ммоль) (**промежуточного соединения 90**) и хлорида аммония (0,935 г, 17,48 ммоль) в MeOH (12 мл) и воде (0,3 мл) при 0°C (экзотермическая реакция), смесь перемешивали при к. т. в течение 2 ч (не оставалось SM, полное исчезновение оранжевого окрашивания свидетельствует о завершении реакции). Zn отфильтровывали, твердый осадок на фильтре промывали 20% раствором MeOH в DCM и фильтрат концентрировали под вакуумом. К

вышеуказанному неочищенному продукту добавляли воду и продукт экстрагировали в слой этилацетата. Органический слой высушивали и концентрировали под вакуумом с получением бесцветного масла. Неочищенный продукт суспендировали в смеси этилацетат:метанол 1:1, добавляли 0,5 мл 4 н. раствора HCl в диоксане и реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч (не оставалось нециклизованного продукта). Реакционную смесь концентрировали с получением 7-бром-8-фтор-3-изопропил-3,4-дигидро-1H-хиноксалин-2-она (*промежуточного соединения 91*). Неочищенный продукт подвергали воздействию реагентов на следующей стадии без какой-либо дополнительной очистки, предполагая, что выход данной реакции составляет 100%. Масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 287.

Промежуточное соединение 92. 7-Бром-8-фтор-3-изопропил-1H-хиноксалин-2-он

[0281] 4,5-Дихлор-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диен-1,2-дикарбонитрил (595 мг, 2,62 ммоль) одной порцией добавляли к перемешиваемому раствору 7-бром-8-фтор-3-изопропил-3,4-дигидрохиноксалин-2(1H)-она (627 мг, 2,18 ммоль) (*промежуточного соединения 91*) в DCM (20 мл). Полученную взвесь перемешивали при к. т. в течение 2 часов (полное превращение в требуемый продукт подтверждали посредством LCMS). Реакционную смесь концентрировали под вакуумом и гасили насыщенным водн. раствором бикарбоната натрия. Вышеуказанную взвесь перемешивали при к. т. в течение ночи и твердое вещество отфильтровывали. Отфильтрованное твердое вещество тщательно промывали водой с последующим промыванием диэтиловым эфиром и высушивали с получением 7-бром-8-фтор-3-изопропил-1H-хиноксалин-2-она (0,425 г, 68,3%) (*промежуточного соединения 92*) в виде грязно-белого твердого вещества. 1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) 1,22 (6H, d), 3,36-3,52 (1H, m), 7,45-7,58 (2H, m), 12,62 (1H, br s); 19F ЯМР (471 МГц, DMSO-d₆) -124,16 (1F, s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 285.

Промежуточное соединение 93. 8-Фтор-7-(гидроксиметил)-3-изопропил-1H-хиноксалин-2-он

[0282] Xphos Pd G2 (103 мг, 0,13 ммоль) добавляли к перемешиваемому дегазированному раствору 7-бром-8-фтор-3-изопропилхиноксалин-2(1H)-она (375 мг, 1,32 ммоль) (*промежуточного соединения 92*) и (трибутилстаннил)метанола (507 мг, 1,58 ммоль) в 1,4-диоксане (6,58 мл). Полученный раствор перемешивали при 80°C в течение 16 часов. Реакционную смесь концентрировали под вакуумом и очищали посредством хроматографии с нормальной фазой с применением 0-10% MeOH в DCM с получением 8-фтор-7-(гидроксиметил)-3-изопропил-1H-хиноксалин-2-она (0,255 г, 82%) (*промежуточного соединения 93*) в виде белого твердого вещества. 1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) 1,22 (6H, d), 3,39-3,52 (1H, m), 4,64 (2H, d), 5,41 (1H, t), 7,33 (1H, s), 7,55 (1H, d),

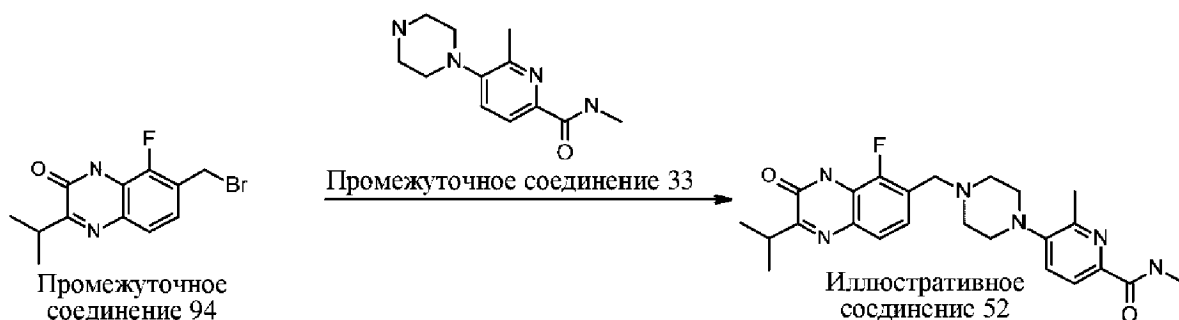
12,42 (1H, br s); 19F ЯМР (471 МГц, DMSO-d6) -137,71 (1F, s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 237.

Промежуточное соединение 94. 7-(Бромметил)-8-фтор-3-изопропил-1H-хиноксалин-2-он

[0283] Триэтилфосфан (0,477 мл, 3,23 ммоль) по каплям добавляли к перемешиваемому раствору 8-фтор-7-(гидроксиметил)-3-изопропилхиноксалин-2(1H)-она (0,2541 г, 1,08 ммоль) (*промежуточного соединения 93*) и CBr₄ (1,177 г, 3,55 ммоль) в DCM (8,49 мл) при 0°C на протяжении периода времени, составляющего 5 минут, в атмосфере азота. Реакционную смесь перемешивали при к. т. в течение 1 ч, DCM удаляли под вакуумом и полученное твердое вещество суспендировали в диэтиловом эфире. Белый осадок фильтровали под вакуумом, промывали водой с последующим промыванием эфиром. Твердое вещество высушивали под вакуумом в течение ночи (без нагревания) с получением 7-(бромметил)-8-фтор-3-изопропил-1H-хиноксалин-2-она (0,313 г, 97%) (*промежуточного соединения 94*) в виде светло-коричневого твердого вещества. Масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 299.

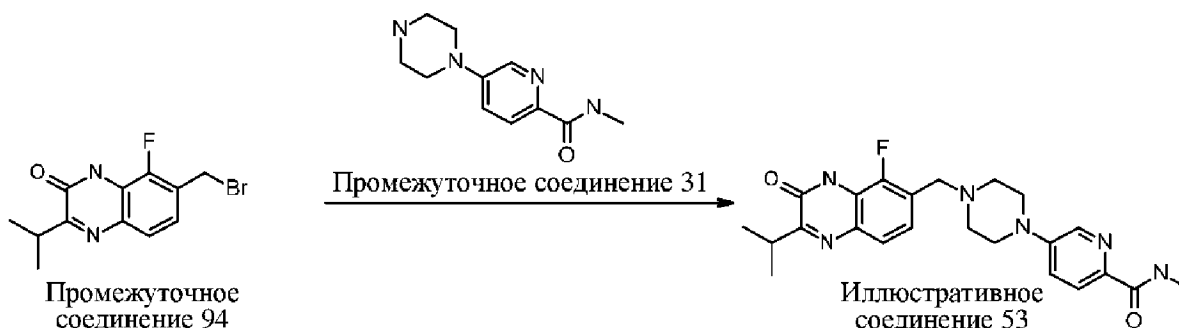
Пример 51. 6-Фтор-5-[4-[(5-фтор-2-изопропил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид

[0284] К 7-(бромметил)-8-фтор-3-изопропилхиноксалин-2(1H)-ону (100 мг, 0,33 ммоль) (*промежуточному соединению 94*) добавляли 6-фтор-N-метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамид, 2HCl (104 мг, 0,33 ммоль) (*промежуточное соединение 32*), ацетонитрил (5 мл) и N-этил-N-изопропилпропан-2-амин (291 мкл, 1,67 ммоль) и нагревали до 70°C. Результат LCMS указывал на полное исчезновение SM и образование требуемого продукта через 1 ч. Реакционную смесь охлаждали, концентрировали, гасили водн. раствором NaHCO₃ (1 мл) и перемешивали в течение 1 ч при к. т. К вышеуказанной смеси добавляли воду (3 мл) и перемешивали в течение 10 мин. Осадок фильтровали и промывали большими количествами воды (50 мл). Твердое вещество очищали посредством хроматографии с нормальной фазой с применением 0-10% MeOH в DCM с получением 6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-изопропил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид (0,050 г, 32,8%) (*иллюстративного соединения 51*) в виде белого твердого вещества. 1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d6) 1,22 (6H, d), 2,53-2,65 (4H, m), 2,77 (3H, d), 3,12-3,24 (4H, m), 3,36-3,52 (1H, m), 3,71 (2H, s), 7,30 (1H, t), 7,52-7,59 (2H, m), 7,84 (1H, d), 8,36-8,41 (1H, m), 12,46 (1H, br s); 19F ЯМР (471 МГц, DMSO-d6) -135,53 (1F, s), -72,59 (1F, s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 457.



Пример 52. 5-[4-[(5-Фтор-2-изопропил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамид

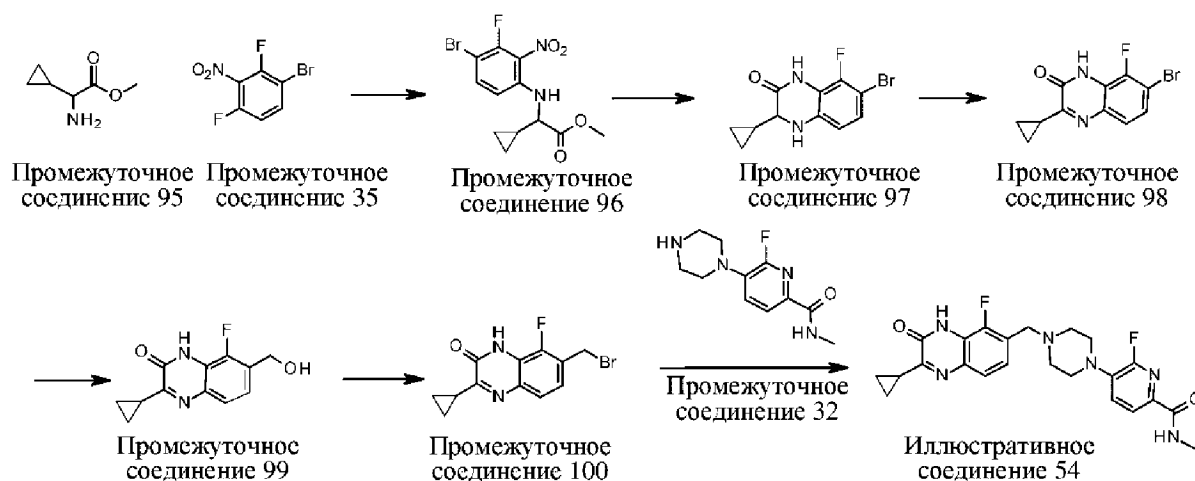
[0285] К 7-(бромметил)-8-фтор-3-изопропилхиноксалин-2(1H)-ону (109 мг, 0,36 ммоль) (*промежуточному соединению 94*) добавляли N,6-диметил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамид, 2HCl (112 мг, 0,36 ммоль) (*промежуточное соединение 33*), ацетонитрил (5 мл) и N-этил-N-изопропилпропан-2-амин (317 мкл, 1,82 ммоль) и нагревали до 70 С. Результат LCMS указывал на полное исчезновение SM и образование требуемого продукта через 1 ч. Реакционную смесь охлаждали, концентрировали, гасили водн. раствором NaHCO₃ (1 мл) и перемешивали в течение 1 ч при к. т. К вышеуказанной смеси добавляли воду (3 мл) и перемешивали в течение 10 мин. Осадок фильтровали и промывали большими количествами воды (50 мл). Твердое вещество очищали посредством хроматографии с нормальной фазой с применением 0-10% MeOH в DCM с получением 5-[4-[(5-фтор-2-изопропил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамид (0,057 г, 34,6%) в виде белого твердого вещества (*иллюстративного соединения 52*). ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) 1,22 (6H, d), 2,46-2,49 (3H, m), 2,52-2,68 (4H, m), 2,80 (3H, d), 2,94 (4H, br s), 3,36-3,52 (1H, m), 3,73 (2H, s), 7,30 (1H, t), 7,47 (1H, d), 7,56 (1H, d), 7,79 (1H, d), 8,37-8,44 (1H, m), 12,46 (1H, s); ¹⁹F ЯМР (471 МГц, DMSO-d₆) -135,55 (1F, s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 453.



Пример 53. 5-[4-[(5-Фтор-2-изопропил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид

[0286] К 7-(бромметил)-8-фтор-3-изопропилхиноксалин-2(1H)-ону (100 мг, 0,33 ммоль) (*промежуточному соединению 94*) добавляли N-метил-5-(пиперазин-1-

ил)пиколинамид, 2HCl (98 мг, 0,33 ммоль) (*промежуточное соединение 31*), ацетонитрил (5 мл) и N-этил-N-изопропилпропан-2-амин (291 мкл, 1,67 ммоль) и нагревали до 70°C. Результат LCMS указывал на полное исчезновение SM и образование требуемого продукта через 1 ч. Реакционную смесь охлаждали, концентрировали, гасили водн. раствором NaHCO₃ (1 мл) и перемешивали в течение 1 ч при к. т. К вышеуказанной смеси добавляли воду (3 мл) и перемешивали в течение 10 мин. Осадок фильтровали и промывали большими количествами воды (50 мл). Твердое вещество очищали посредством хроматографии с нормальной фазой с применением градиента 0-10% MeOH в DCM с получением 5-[4-[(5-фтор-2-изопропил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид (0,052 г, 35,5%) (*иллюстративного соединения 53*) в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) 1,22 (6H, d), 2,52-2,61 (4H, m), 2,78 (3H, d), 3,26-3,30 (4H, m), 3,36-3,52 (1H, m), 3,70 (2H, s), 7,31 (1H, t), 7,38 (1H, dd), 7,56 (1H, d), 7,82 (1H, d), 8,26 (1H, d), 8,38 (1H, br d), 12,45 (1H, br s); ¹⁹F ЯМР (471 МГц, DMSO-d₆) -135,54 (1F, s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 439.



Промежуточное соединение 96. Метил-2-(4-бром-3-фтор-2-нитроанилино)-2-циклопропилацетат

[0287] DIPEA (2,202 мл, 12,61 ммоль) медленно добавляли к перемешиваемому раствору 1-бром-2,4-дифтор-3-нитробензола (*промежуточного соединения 35*) (1 г, 4,20 ммоль) и метил-2-амино-2-циклопропилацетата, HCl (*промежуточного соединения 95*) (0,696 г, 4,20 ммоль) в DMF (6 мл) Полученный раствор перемешивали при к. т. в течение 18 часов (полное превращение в требуемый продукт подтверждали посредством LCMS). Реакционную смесь концентрировали, разбавляли водой и экстрагировали этилацетатом, органический слой высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали под вакуумом. Неочищенный продукт очищали посредством

хроматографии с нормальной фазой с применением гексана и этилацетата с получением метил-2-(4-бром-3-фтор-2-нитроанилино)-2-циклопропилацетата (0,635 г, 43,5 %) (*промежуточного соединения 96*) в виде ярко-оранжевого твердого вещества. ¹H ЯМР (500 МГц, дихлорметан-d₂) 0,39-0,49 (1H, m), 0,54 (1H, td), 0,64-0,75 (2H, m), 1,25-1,39 (1H, m), 3,74-3,83 (4H, m), 6,45 (1H, dd), 7,34 (1H, br d), 7,52 (1H, dd). ¹⁹F ЯМР (471 МГц, дихлорметан-d₂) -109,53 (1F, s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 347.

Промежуточное соединение 97. 7-Бром-3-циклопропил-8-фтор-3,4-дигидро-1H-хиноксалин-2-он

[0288] Порошок цинка (957 мг, 14,63 ммоль) порциями добавляли к смеси метил-2-((4-бром-3-фтор-2-нитрофенил)амино)-2-циклопропилацетата (635 мг, 1,83 ммоль) (*промежуточного соединения 96*) и хлорида аммония (783 мг, 14,63 ммоль) в MeOH (12 мл) и воде (0,3 мл) при 0°C (экзотермическая реакция), смесь перемешивали при к. т. в течение 2 ч (не оставалось SM, полное исчезновение оранжевого окрашивания свидетельствует о завершении реакции). Zn отфильтровывали и твердый осадок на фильтре промывали 20% раствором MeOH в DCM. Фильтрат концентрировали, в неочищенном материале присутствовал в основном нециклизованный продукт. К вышеуказанному неочищенному продукту добавляли воду и продукт экстрагировали в слой этилацетата. Органический слой высушивали и концентрировали под вакуумом с получением масла. Данный материал суспендировали в смеси этилацетат:метанол 1:1, добавляли 0,5 мл 4 н. раствора HCl в диоксане и реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч (не оставалось нециклизованного продукта). Реакционную смесь концентрировали с получением 7-бром-3-циклопропил-8-фтор-3,4-дигидро-1H-хиноксалин-2-она (*промежуточного соединения 97*) в виде серого твердого вещества. Неочищенный продукт подвергали воздействию реагентов на следующей стадии без какой-либо дополнительной очистки, предполагая, что выход данной реакции составляет 100%. Масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 285.

Промежуточное соединение 98. 7-Бром-3-циклопропил-8-фтор-1H-хиноксалин-2-он

[0289] 4,5-Дихлор-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диен-1,2-дикарбонитрил (499 мг, 2,20 ммоль) одной порцией добавляли к перемешиваемому раствору 7-бром-3-циклопропил-8-фтор-3,4-дигидрохиноксалин-2(1H)-она (522 мг, 1,83 ммоль) (*промежуточного соединения 97*) в DCM (20 мл). Полученную взвесь перемешивали при к. т. в течение 2 часов (полное превращение в требуемый продукт подтверждали посредством LCMS). Реакционную смесь концентрировали под вакуумом и гасили насыщенным водн. раствором бикарбоната натрия. Вышеуказанную взвесь перемешивали при к. т. в течение ночи и твердое вещество отфильтровывали. Твердое вещество

тщательно промывали водой с последующим промыванием диэтиловым эфиром и высушивали с получением 7-бром-3-циклопропил-8-фтор-1H-хиноксалин-2-она (0,382 г, 73,7 %) (*промежуточного соединения 98*) в виде грязно-белого твердого вещества. Масса/заряд (ES^+) $[M+H]^+ = 283$.

Промежуточное соединение 99. 3-Циклопропил-8-фтор-7-(гидроксиметил)-1H-хиноксалин-2-он

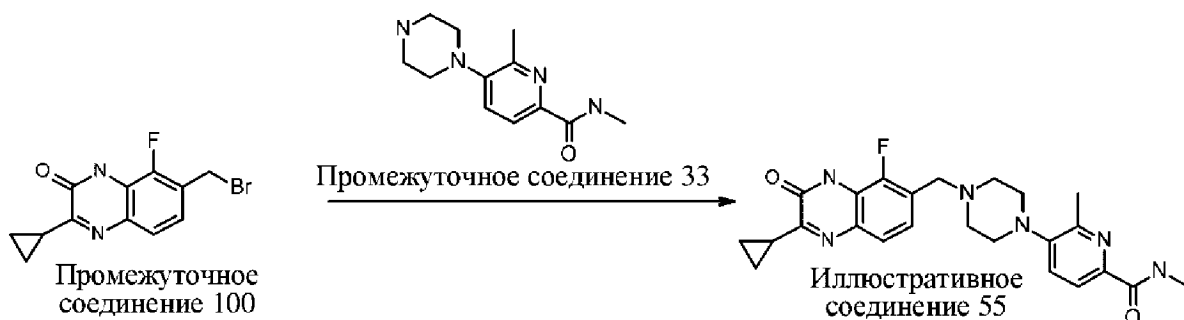
[0290] Xphos Pd G2 (92 мг, 0,12 ммоль) добавляли к перемешиваемому дегазированному раствору 7-бром-3-циклопропил-8-фторхиноксалин-2(1H)-она (332 мг, 1,17 ммоль) (*промежуточного соединения 98*) и (трибутилстаннил)метанола (452 мг, 1,41 ммоль) в 1,4-диоксане (5,86 мл) и полученный раствор перемешивали при 80°C в течение 16 часов. Реакционную смесь концентрировали под вакуумом и очищали посредством хроматографии с нормальной фазой с применением 0-10% MeOH в DCM с получением 3-циклопропил-8-фтор-7-(гидроксиметил)-1H-хиноксалин-2-она (0,224 г, 82%) (*промежуточного соединения 99*) в виде белого твердого вещества. 1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d6) 1,02-1,14 (4H, m), 2,52-2,73 (1H, m), 4,62 (2H, d), 5,38 (1H, t), 7,29 (1H, t), 7,43 (1H, d), 12,43 (1H, br s); 19F ЯМР (471 МГц, DMSO-d6) -137,67 (1F, s); масса/заряд (ES^+) $[M+H]^+ = 235$.

Промежуточное соединение 100. 7-(Бромметил)-3-циклопропил-8-фтор-1H-хиноксалин-2-он

[0291] Триэтилфосфан (0,422 мл, 2,86 ммоль) по каплям добавляли к смеси 3-циклопропил-8-фтор-7-(гидроксиметил)хиноксалин-2(1H)-она (0,223 г, 0,95 ммоль) (*промежуточного соединения 99*) и $SnBr_4$ (1,043 г, 3,14 ммоль) в DCM (7,52 мл) при 0°C на протяжении периода времени, составляющего 5 минут, в атмосфере азота. Реакционную смесь перемешивали при к. т. в течение 1 ч. DCM удаляли под вакуумом и полученное твердое вещество суспендировали в диэтиловом эфире. Светлый зеленовато-белый осадок фильтровали под вакуумом, промывали водой с последующим промыванием эфиром. Твердое вещество высушивали под вакуумом в течение ночи (без нагревания) с получением 7-(бромметил)-3-циклопропил-8-фтор-1H-хиноксалин-2-она (0,193 г, 68,2%) (*промежуточного соединения 100*) в виде светло-зеленого твердого вещества. 1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d6) 1,03-1,17 (4H, m), 2,63-2,76 (1H, m), 4,79 (2H, s), 7,33 (1H, t), 7,43 (1H, d), 12,55 (1H, br s); 19F ЯМР (471 МГц, DMSO-d6) -133,65 (1F, s); масса/заряд (ES^+) $[M+H]^+ = 297$.

Пример 54. 5-[4-[(2-Циклопропил-5-фтор-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]типеразин-1-ил]-6-фтор-N-метилтиридин-2-карбоксамид

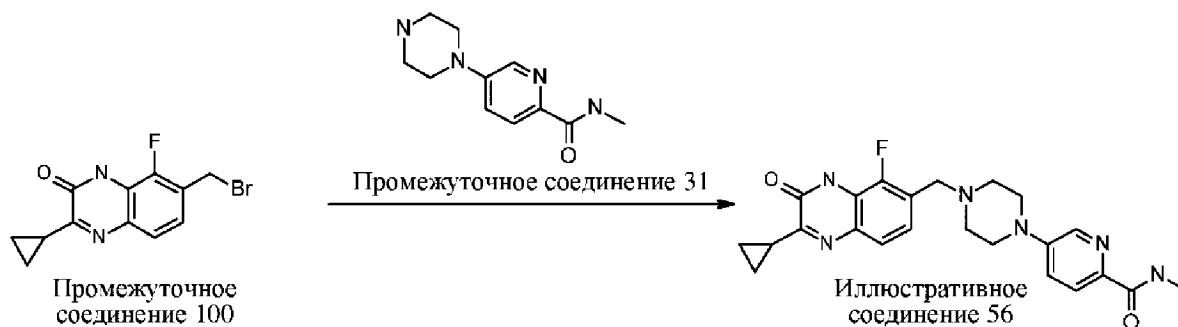
[0292] К 7-(бромметил)-3-циклопропил-8-фторхиноксалин-2(1H)-ону (75 мг, 0,25 ммоль) (*промежуточному соединению 100*) добавляли 6-фтор-N-метил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамид, 2HCl (79 мг, 0,25 ммоль) (*промежуточное соединение 32*), ацетонитрил (5 мл) и N-этил-N-изопропилпропан-2-амин (220 мкл, 1,26 ммоль) и нагревали до 70 С. Результат LCMS указывал на полное исчезновение SM и образование требуемого продукта через 1 ч. Реакционную смесь охлаждали, концентрировали, гасили водн. раствором NaHCO₃ (1 мл) и перемешивали в течение 1 ч при к. т. К вышеуказанной смеси добавляли воду (3 мл) и перемешивали в течение 10 мин. Осадок фильтровали и промывали большими количествами воды (50 мл). Твердое вещество очищали посредством хроматографии с нормальной фазой с применением 0-10% MeOH в DCM с получением 5-[4-[(2-циклопропил-5-фтор-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-фтор-N-метилпиридин-2-карбоксамида (0,048 г, 41,8%) (*иллюстративного соединения 54*) в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) 1,04-1,13 (4H, m), 2,52-2,63 (4H, m), 2,71 (1H, s), 2,77 (3H, d), 3,12-3,21 (4H, m), 3,69 (2H, s), 7,26 (1H, t), 7,43 (1H, d), 7,55 (1H, dd), 7,84 (1H, d), 8,39 (1H, br d), 12,46 (1H, br s); ¹⁹F ЯМР (471 МГц, DMSO-d₆) -135,52 (1F, s), -72,58 (1F, s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 455.



Пример 55. 5-[4-[(2-Циклопропил-5-фтор-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамид

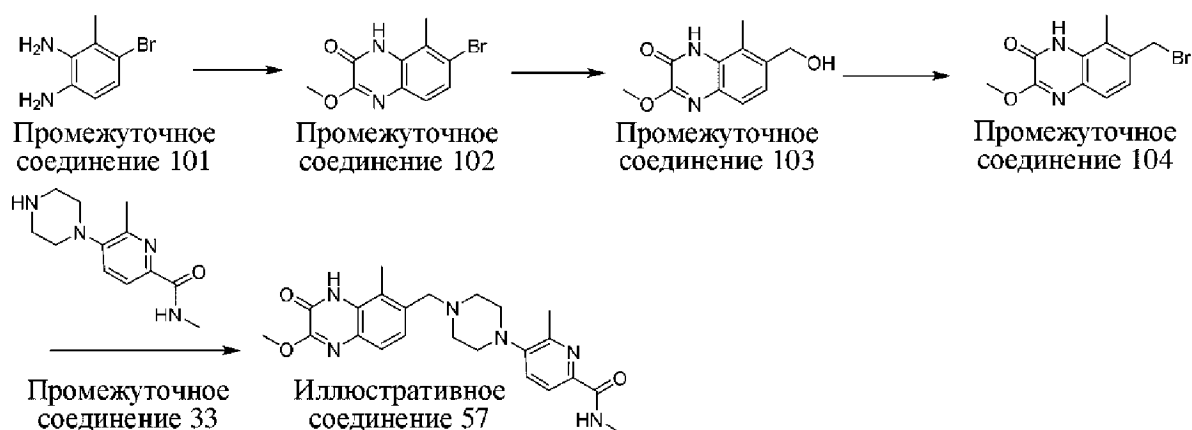
[0293] К 7-(бромметил)-3-циклопропил-8-фторхиноксалин-2(1H)-ону (75 мг, 0,25 ммоль) (*промежуточному соединению 100*) добавляли N,6-диметил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамид, 2HCl (78 мг, 0,25 ммоль) (*промежуточное соединение 33*), ацетонитрил (5 мл) и N-этил-N-изопропилпропан-2-амин (220 мкл, 1,26 ммоль) и нагревали до 70°С. Результат LCMS указывал на полное превращение в требуемый продукт через 1 ч. Реакционную смесь охлаждали, концентрировали, гасили водн. раствором NaHCO₃ (1 мл) и перемешивали в течение 1 ч при к. т. К вышеуказанной смеси добавляли воду (3 мл) и перемешивали в течение 10 мин. Осадок фильтровали и промывали большими количествами воды (50 мл). Твердое вещество очищали посредством хроматографии с нормальной фазой с применением 0-10% MeOH в DCM с получением 5-[4-[(2-

циклопропил-5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамид (0,049 г, 43,1%) (*иллюстративного соединения 55*) в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) 1,03-1,15 (4H, m), 2,46-2,49 (3H, m), 2,52-2,65 (4H, m), 2,65-2,75 (1H, m), 2,80 (3H, d), 2,94 (4H, br s), 3,71 (2H, s), 7,26 (1H, t), 7,40-7,50 (2H, m), 7,79 (1H, d), 8,37-8,44 (1H, m), 12,46 (1H, s); ¹⁹F ЯМР (471 МГц, DMSO-d₆) -135,54 (1F, s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 451.



Пример 56. 5-[4-[(2-Циклопропил-5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид

[0294] К 7-(бромметил)-3-циклопропил-8-фторхиноксалин-2(1H)-ону (43 мг, 0,14 ммоль) (*промежуточному соединению 100*) добавляли N-метил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамид, 2HCl (42,4 мг, 0,14 ммоль) (*промежуточное соединение 31*), ацетонитрил (5 мл) и N-этил-N-изопропилпропан-2-амин (126 мкл, 0,72 ммоль) и нагревали до 70°C. Результат LCMS указывал на полное исчезновение SM и образование требуемого продукта через 1 ч. Реакционную смесь охлаждали, концентрировали, гасили водн. раствором NaHCO₃ (1 мл) и перемешивали в течение 1 ч при к. т. К вышеуказанной смеси добавляли воду (3 мл) и перемешивали в течение 10 мин. Осадок фильтровали и промывали большими количествами воды (25 мл). Твердое вещество очищали посредством хроматографии с нормальной фазой с применением 0-10% MeOH в DCM с получением 5-[4-[(2-циклопропил-5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид (0,020 г, 31,7%) (*иллюстративного соединения 56*) в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) 1,03-1,16 (4H, m), 2,53-2,60 (4H, m), 2,65-2,80 (5H, m), 3,68 (2H, s), 7,25 (1H, br t), 7,38 (1H, dd), 7,42 (1H, d), 7,82 (1H, d), 8,25 (1H, d), 8,35-8,40 (1H, m), 12,38-12,51 (1H, m) (отсутствующий 3H, вероятно, перекрывается с пиком, соответствующим DMSO); ¹⁹F ЯМР (471 МГц, DMSO-d₆) -135,52 (1F, s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 437.



Промежуточное соединение 102. 7-Бром-3-метокси-8-метил-1H-хиноксалин-2-он

[0295] Смесь 4-бром-3-метилбензол-1,2-диамина (1,75 г, 8,70 ммоль) (**промежуточного соединения 101**), метил-2,2,2-триметоксиацетата (2,86 г, 17,41 ммоль) и трифторметансульфоната иттербия(III) (0,540 г, 0,87 ммоль) в толуоле (10 мл) в герметично закрытой пробирке дегазировали, повторно заполняли N₂, перемешивали при 100°C в течение ночи с получением коричневой суспензии, результат LCMS указывал на образование требуемого продукта, смесь охлаждали до к. т., твердое вещество собирали посредством фильтрации, промывали метанолом, высушивали с получением 7-бром-3-метокси-8-метил-1H-хиноксалин-2-она (1,2 г, 51,2%) (**промежуточного соединения 102**) в виде желтого твердого вещества (загрязненного приблизительно 8% его региоизомера, представляющего собой 6-бром-3-метокси-5-метилхиноксалин-2(1H)-он). 1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) 2,50 (3H, br s), 3,97 (3H, s), 7,32 (1H, d), 7,45 (1H, d), 11,79 (1H, br s); (масса/заряд) (ES⁺) [M+H]⁺ = 269.

Промежуточное соединение 103. 7-(Гидроксиметил)-3-метокси-8-метил-1H-хиноксалин-2-он

[0296] Смесь (трибутилстаннил)метанола (1,844 г, 5,74 ммоль), 7-бром-3-метокси-8-метил-1H-хиноксалин-2-она (1,03 г, 3,83 ммоль) (**промежуточного соединения 102**) и Xphos Pd G2 (0,452 г, 0,57 ммоль) в 1,4-диоксане (40 мл) перемешивали при 80°C в течение ночи в атмосфере N₂ с получением темной смеси, результат LCMS указывал на почти полное превращение. Растворитель удаляли при пониженном давлении, остаток очищали на колонке с силикагелем (элюировали смесью 0-20% метанола в DCM), фракции концентрировали с получением желтого твердого вещества, твердое вещество анализировали посредством LCMS, результат которой указывал на то, что оно было не очень чистым, затем продукт суспендировали в 20 мл метанола, твердое вещество собирали посредством фильтрации, высушивали с получением продукта с чистотой 55% в

виде желтого твердого вещества (загрязненного 30% исходного материала и 9,5% дебромированного побочного продукта).

[0297] Твердое вещество, полученное выше, загружали в сухую колбу с 1,4-диоксаном (40 мл), в колбу добавляли 900 мг (трибутилстаннил)метанола и 300 мг xphos Pd G2, смесь дегазировали, затем перемешивали при 80°C в течение ночи в атмосфере N₂. Растворитель удаляли при пониженном давлении, смесь очищали на колонке с силикагелем (элюировали смесью 0-20% метанола в DCM) с получением 7-(гидроксиметил)-3-метокси-8-метил-1H-хиноксалин-2-она (800 мг, 95%) (**промежуточного соединения** в виде желтого твердого вещества с чистотой 80%, определенной посредством LCMS. 1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) 2,32 (3H, s), 3,91-4,01 (3H, m), 4,56 (2H, d), 5,15 (1H, t), 7,27 (1H, d), 7,37 (1H, d), 11,57 (1H, br s); (масса/заряд) (ES⁺) [M+H]⁺ = 221.

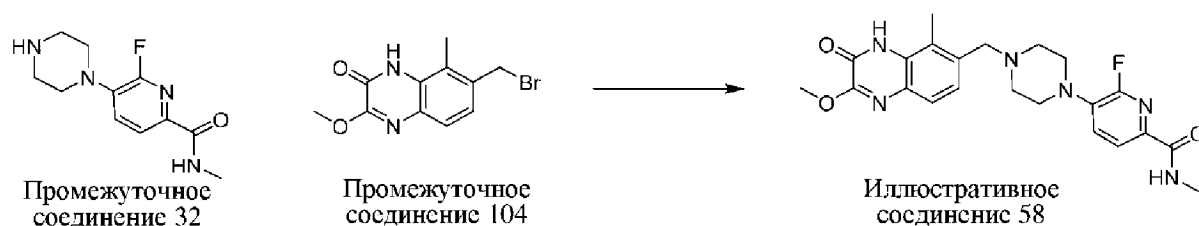
Промежуточное соединение 104. 7-(Бромметил)-3-метокси-8-метил-1H-хиноксалин-2-он

[0298] Триэтилфосфан (294 мкл, 2,04 ммоль) по каплям добавляли к суспензии 7-(гидроксиметил)-3-метокси-8-метил-1H-хиноксалин-2-она (300 мг, 1,36 ммоль) (**промежуточного соединения 103**) и 1,1,2,2-тетрабром-1,2-дихлорэтана (875 мг, 2,11 ммоль) в CH₂Cl₂ (20 мл) при 0°C в атмосфере N₂, затем полученную смесь перемешивали при к. т. в течение 3,5 ч, растворитель удаляли при пониженном давлении, остаток суспендировали в эфире (10 мл), фильтровали, твердое вещество промывали эфиром (10 мл x 2), затем твердое вещество суспендировали в воде (20 мл), фильтровали, промывали водой (5 мл x 3), высушивали с получением 7-(бромметил)-3-метокси-8-метил-1H-хиноксалин-2-она (0,250 г, 64,8%) (**промежуточного соединения 104**) в виде светло-желтого твердого вещества. Масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 285.

Пример 57. 5-[4-[(2-Метокси-5-метил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамид

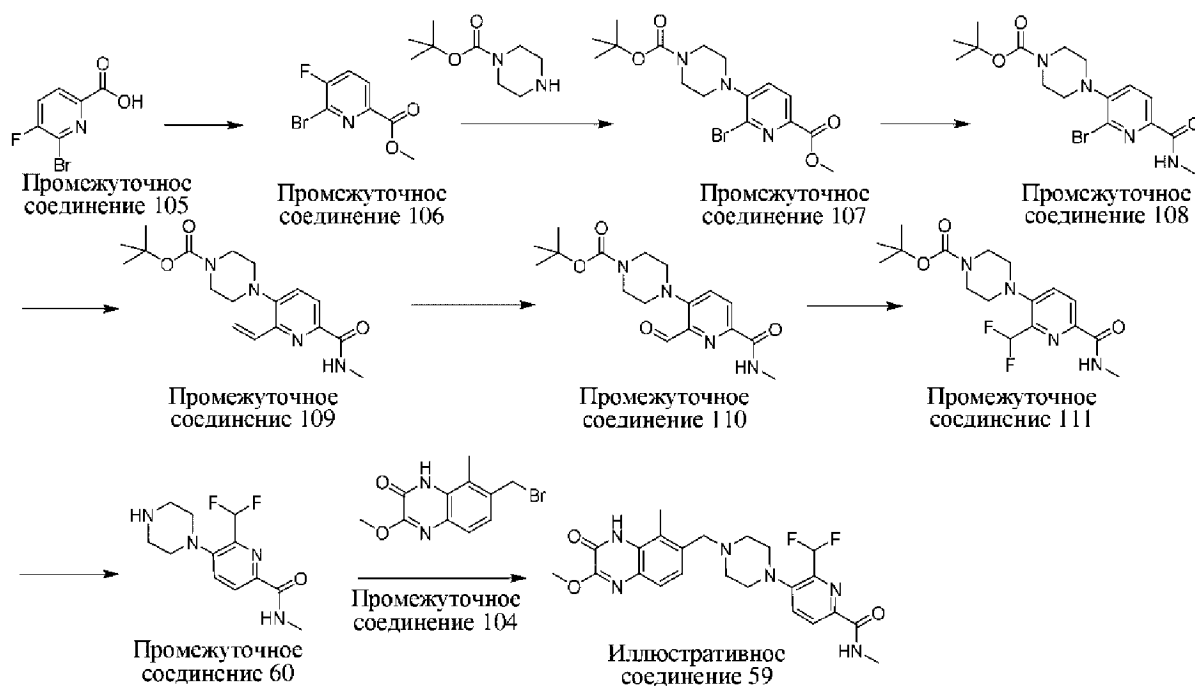
[0299] К суспензии N,6-диметил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамида, 2HCl (83 мг, 0,27 ммоль) (**промежуточного соединения 33**) и 7-(бромметил)-3-метокси-8-метил-1H-хиноксалин-2-она (85 мг, 0,27 ммоль) (**промежуточного соединения 104**) в ацетонитриле (6 мл) добавляли DIPEA (236 мкл, 1,35 ммоль), полученную смесь перемешивали при 70°C в течение 2 ч с получением прозрачного раствора, смесь охлаждали до к. т. с получением суспензии, твердое вещество собирали посредством фильтрации, промывали водой, ацетонитрилом, высушивали с получением 5-[4-[(2-метокси-5-метил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамид (0,064 г, 54,3%) (**иллюстративного соединения 57**) в виде белого твердого вещества. 1H ЯМР

(500 МГц, DMSO-d6) 2,43 (3H, s), 2,49 (3H, s), 2,57 (4H, br s), 2,80 (3H, d), 2,91 (4H, br s), 3,60 (2H, s), 3,95 (3H, s), 7,18 (1H, d), 7,35 (1H, d), 7,46 (1H, d), 7,78 (1H, d), 8,40 (1H, q), 11,58 (1H, br s); (масса/заряд) (ES⁺) [M+H]⁺ = 437.



Пример 58. 6-Фтор-5-[4-[(2-метокси-5-метил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид

[0300] К суспензии 6-фтор-N-метил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамида, 2HCl (84 мг, 0,27 ммоль) (**промежуточного соединения 32**) и 7-(бромметил)-3-метокси-8-метил-1H-хиноксалин-2-она (85 мг, 0,27 ммоль) (**промежуточного соединения 104**) в ацетонитриле (6 мл) добавляли DIPEA (236 мкл, 1,35 ммоль), полученную смесь перемешивали при 70°C в течение 2 ч с получением суспензии, смесь охлаждали до к. т., твердое вещество собирали посредством фильтрации, промывали водой, ацетонитрилом, высушивали, твердое вещество суспендировали в ацетонитриле, фильтровали и высушивали с получением 6-фтор-5-[4-[(2-метокси-5-метил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида (0,073 г, 61,3%) (**иллюстративного соединения 58**) в виде твердого вещества бежевого цвета. 1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d6) 2,42 (3H, s), 2,55 (4H, br s), 2,76 (3H, d), 3,14 (4H, br s), 3,58 (2H, s), 3,95 (3H, s), 7,17 (1H, br d), 7,35 (1H, br d), 7,50-7,63 (1H, m), 7,83 (1H, br d), 8,38 (1H, br d), 11,58 (1H, s); (масса/заряд) (ES⁺) [M+H]⁺ = 442.



Промежуточное соединение 106. Метил-6-бром-5-фторпиридин-2-карбоксилат

[0301] Серную кислоту (1,5 мл, 28,14 ммоль) медленно добавляли к смеси 6-бром-5-фторпиридин-2-карбоксилата (500 мг, 2,27 ммоль) (**промежуточного соединения 105**) в MeOH (8 мл). Смесь продолжали перемешивать при к. т. в течение 3 ч с получением белой суспензии. Результат LCMS указывал на полное превращение, смесь выливали в насыщ. водн. раствор NaHCO₃, экстрагировали с помощью DCM (40 мл x 2), органические слои высушивали (безводный Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали с получением метил-6-бром-5-фторпиридин-2-карбоксилата (532 мг, 100%) (**промежуточного соединения 106**) в виде белого твердого вещества, которое применяли на следующей стадии без дополнительной очистки. ¹H ЯМР (500 МГц, хлороформ-d) 4,01 (3H, s), 7,55 (1H, t), 8,15 (1H, dd); (масса/заряд) (ES⁺) [M+H]⁺ = 236.

Промежуточное соединение 107. трет-Бутил-4-(2-бром-6-метоксикарбонил-3-пиридил)пиперазин-1-карбоксилат

[0302] Смесь трет-бутилпиперазин-1-карбоксилата (8,21 г, 44,06 ммоль), метил-6-бром-5-фторпиридин-2-карбоксилата (6,065 г, 25,92 ммоль) (**промежуточного соединения 106**) и карбоната калия (4,66 г, 33,69 ммоль) в DMF (60 мл) перемешивали при 110°C в течение 5 часов, результат LCMS указывал на полное превращение. Смесь охлаждали до к. т., разбавляли DCM и водой, слои разделяли, водный слой два раза экстрагировали с помощью DCM, органические слои объединяли, высушивали (безводный Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали, остаток очищали на колонке с силикагелем (элюировали смесью 0-50% этилацетата в гексанах, УФ при 221, 310 нм) с получением требуемого продукта, представляющего собой трет-бутил-4-(2-бром-6-

метоксикарбонил-3-пиридил)пиперазин-1-карбоксилат (7,68 г, 74,1%) (**промежуточное соединение 107**), в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (500 МГц, хлороформ-d) 1,51 (9H, s), 3,14 (4H, br t), 3,60-3,71 (4H, m), 3,99 (3H, s), 7,32 (1H, d), 8,08 (1H, d); (масса/заряд) (ES⁺) [M+H]⁺ = 402.

Промежуточное соединение 108. трет-Бутил-4-[2-бром-6-(метилкарбамоил)-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилат

[0303] трет-Бутил-4-(2-бром-6-метоксикарбонил-3-пиридил)пиперазин-1-карбоксилат (7,67 г, 19,16 ммоль) (**промежуточное соединение 107**) в метанамина (100 мл, 19,16 ммоль) (33% в этаноле) перемешивали в герметично закрытом сосуде при 60°C в течение 4,5 ч, результат LCMS указывал на полное превращение, смесь охлаждали до к. т., концентрировали, остаток растворяли в DCM, промывали насыщ. раствором NH₄Cl, высушивали (безводный Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали с получением трет-бутил-4-[2-бром-6-(метилкарбамоил)-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилата (7,48 г, 98%) (**промежуточного соединения 108**) в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (500 МГц, хлороформ-d) 1,50 (9H, s), 3,02 (3H, d), 3,08 (4H, br t), 3,60-3,71 (4H, m), 7,36 (1H, d), 7,68 (1H, br d), 8,11 (1H, d); (масса/заряд) (ES⁺) [M+H]⁺ = 401.

Промежуточное соединение 109. трет-Бутил-4-[6-(метилкарбамоил)-2-винил-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилат

[0304] Смесь трет-бутил-4-[2-бром-6-(метилкарбамоил)-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилата (1,344 г, 3,37 ммоль) (**промежуточного соединения 108**), трибутил(винил)станнана (1,174 г, 3,70 ммоль) и Xphos Pd G2 (0,132 г, 0,17 ммоль) в 1,4-диоксане (25 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. раствором NH₄Cl, органический слой высушивали (безводный Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали, остаток очищали на колонке с силикагелем (элюировали смесью 0-80% этилацетата в гексанах, УФ при 226, 293 нм) с получением трет-бутил-4-[6-(метилкарбамоил)-2-винил-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилата (0,961 г, 82%) (**промежуточного соединения 109**) в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (500 МГц, хлороформ-d) 1,50 (9H, s), 2,90-3,01 (4H, m), 3,05 (3H, d), 3,55-3,68 (4H, m), 5,54 (1H, dd), 6,42 (1H, dd), 7,10 (1H, dd), 7,39 (1H, d), 7,98 (1H, br d), 8,07 (1H, d); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 346,6, 348,5.

Промежуточное соединение 110. трет-Бутил-4-[2-формил-6-(метилкарбамоил)-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилат

[0305] Тетраоксид осмия в H₂O (0,0435 мл, 6,00 мкмоль) добавляли к раствору трет-бутил-4-[6-(метилкарбамоил)-2-винил-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилата (960 мг,

2,77 ммоль) (**промежуточного соединения 109**), 2,6-лутидина (646 мкл, 5,54 ммоль) и перйодата натрия (2371 мг, 11,08 ммоль) в смеси THF (25 мл)/вода (5 мл)/трет-бутанол (2650 мкл, 27,71 ммоль) и 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 неочищенный материал очищали на колонке с диоксидом кремния (элюировали смесью 0-100% этилацетата в гексанах, УФ при 226, 310 нм) с получением трет-бутил-4-[2-формил-6-(метилкарбамоил)-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилата (0,732 г, 76%) (**промежуточного соединения 110**) в виде желтого твердого вещества. ¹H ЯМР (500 МГц, хлороформ-d) 1,50 (9H, s), 3,07 (3H, d), 3,15-3,30 (4H, m), 3,63-3,79 (4H, m), 7,48 (1H, d), 7,85 (1H, br d), 8,28 (1H, d), 10,10 (1H, s); (масса/заряд) (ES⁺) [M+H]⁺ = 349.

Промежуточное соединение 111. трет-Бутил-4-[2-(дифторметил)-6-(метилкарбамоил)-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилат

[0306] трет-Бутил-4-[2-формил-6-(метилкарбамоил)-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилат (730 мг, 2,10 ммоль) (**промежуточное соединение 110**) в CH₂Cl₂ (10 мл) охлаждали до 0°C, к смеси добавляли DAST (692 мкл, 5,24 ммоль) в DCM (5 мл), затем полученную смесь перемешивали при к. т. в течение 4 ч, результат TLC и LCMS указывал на полное превращение. Реакционную смесь гасили по каплям насыщ. водн. раствором NaHCO₃, экстрагировали с помощью DCM, органические вещества высушивали (безводный Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали, остаток очищали на колонке с силикагелем (элюировали смесью 0-100% этилацетата в гексанах, УФ при 254, 293 нм) с получением трет-бутил-4-[2-(дифторметил)-6-(метилкарбамоил)-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилата (0,666 г, 86%) (**промежуточного соединения 111**) в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (500 МГц, хлороформ-d) 1,50 (9H, s), 2,93-3,02 (4H, m), 3,05 (3H, d), 3,57-3,72 (4H, m), 6,99 (1H, t), 7,62 (1H, d), 7,92 (1H, br d), 8,27 (1H, d); (масса/заряд) (ES⁺) [M+H]⁺ = 371.

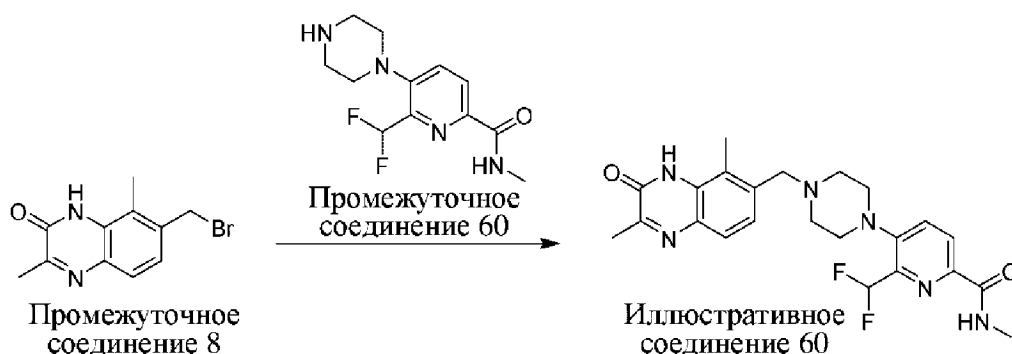
Промежуточное соединение 60. 6-(Дифторметил)-N-метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамид, 2HCl

[0307] 4 М Раствор HCl в диоксане (7 мл, 28,00 ммоль) добавляли в колбу, загруженную трет-бутил-4-[2-(дифторметил)-6-(метилкарбамоил)-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилатом (665 мг, 1,80 ммоль) (**промежуточным соединением 111**) и магнитной мешалкой, смесь перемешивали при к. т. в течение 1 ч с получением желтой суспензии. Растворитель удаляли, остаток разбавляли эфиром, твердое вещество собирали посредством фильтрации, высушивали с получением 6-(дифторметил)-N-метил-5-

пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамида, 2HCl (0,617 г, 100%) (**промежуточного соединения 60**) в виде оранжевого твердого вещества. Масса/заряд (ES^+) $[M+H]^+ = 272$.

Пример 59. 6-(Дифторметил)-5-[4-[(2-метокси-5-метил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид

[0308] К суспензии 6-(дифторметил)-N-метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамида, 2HCl (87 мг, 0,25 ммоль) (**промежуточного соединения 60**) и 7-(бромметил)-3-метокси-8-метил-1H-хиноксалин-2-она (80 мг, 0,25 ммоль) (**промежуточного соединения 104**) в ацетонитриле (6 мл) добавляли DIPEA (222 мкл, 1,27 ммоль), полученную смесь перемешивали при 70°C в течение 2 ч с получением прозрачного раствора, смесь охлаждали до к. т. с получением суспензии, твердое вещество собирали посредством фильтрации, промывали ацетонитрилом, водой, высушивали с получением 6-(дифторметил)-5-[4-[(2-метокси-5-метил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида (0,070 г, 58,3%) (**иллюстративного соединения 59**) в виде белого твердого вещества. 1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) 2,43 (3H, s), 2,59 (4H, br s), 2,83 (3H, br d), 2,98 (4H, br s), 3,60 (2H, s), 3,95 (3H, s), 6,92-7,29 (2H, m), 7,35 (1H, d), 7,85 (1H, br d), 8,08 (1H, d), 8,38 (1H, br d), 11,58 (1H, br s); (масса/заряд) (ES^+) $[M+H]^+ = 473$.



Пример 60. 6-(Дифторметил)-5-[4-[(2,5-диметил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид

[0309] Смесь 7-(бромметил)-3,8-диметил-1H-хиноксалин-2-она (196 мг, 0,73 ммоль) (**промежуточного соединения 8**), 6-(дифторметил)-N-метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамида, 2HCl (252 мг, 0,73 ммоль) (**промежуточного соединения 60**) и Et₃N (0,614 мл, 4,41 ммоль) в ацетонитриле (25 мл) перемешивали при 70°C в течение 2 ч с получением прозрачного раствора, результат LCMS указывал на полное превращение. Смесь охлаждали до к. т. в течение ночи. Твердое вещество подвергли кристаллизации из смеси, твердое вещество собирали посредством фильтрации, промывали ацетонитрилом, водой, высушивали с получением части 1 продукта массой 141 мг, фильтрат концентрировали, очищали на колонке Gilson с обращенной фазой

(элюировали смесью 5-80% АСN/вода/0,1% TFA) с получением второй порции продукта массой 92 мг в виде соли TFA. Суммарно: 6-(дифторметил)-5-[4-[(2,5-диметил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид (0,233 г, 64,0%) (**иллюстративное соединение 60**) в виде грязно-белого твердого вещества. ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) 2,40 (3H, s), 2,43 (3H, s), 2,60 (4H, br s), 2,83 (3H, d), 2,98 (4H, br d), 3,63 (2H, s), 6,95-7,22 (1H, m), 7,23-7,29 (1H, m), 7,51 (1H, d), 7,85 (1H, d), 8,08 (1H, d), 8,38 (1H, br d), 11,54 (1H, br s); (масса/заряд) (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 457$.



Промежуточное соединение 113. Метил-6-хлор-5-(пиперазин-1-ил)пиколинат

[0310] Пиперазин (1,0 г, 11,61 ммоль) добавляли к метил-6-хлор-5-фторпиколинату (**промежуточному соединению 112**, 1,0 г, 5,28 ммоль) в MeCN (30 мл). Полученную смесь перемешивали при 80°C в течение 18 часов. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали посредством хроматографии с обращенной фазой, градиент элюирования 5-60% MeCN в воде (0,1% NH_4HCO_3). Чистые фракции выпаривали до сухого состояния с получением метил-6-хлор-5-(пиперазин-1-ил)пиколината (**промежуточного соединения 113**, 1,28 г, 95%) в виде красного масла. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) 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) (протон NH не показан); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 256$.

Промежуточное соединение 30. 6-Хлор-N-метил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамид

[0311] 2 М раствор метиламина в THF (40 мл, 80,00 ммоль) добавляли к метил-6-хлор-5-(пиперазин-1-ил)пиколинату (**промежуточному соединению 113**, 1,26 г, 4,93 ммоль). Полученную смесь перемешивали при 80°C в течение 18 часов. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали посредством хроматографии с обращенной фазой, градиент элюирования 5-60% MeCN в воде (0,1% NH_4HCO_3). Чистые фракции выпаривали до сухого состояния с получением 6-хлор-N-метил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамида (**промежуточного соединения 30**, 1,12 г, 89%) в виде бледно-желтого масла. ^1H ЯМР (300 МГц, DMSO- d_6) 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) (протон пиперазин-NH не показан); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 255$.

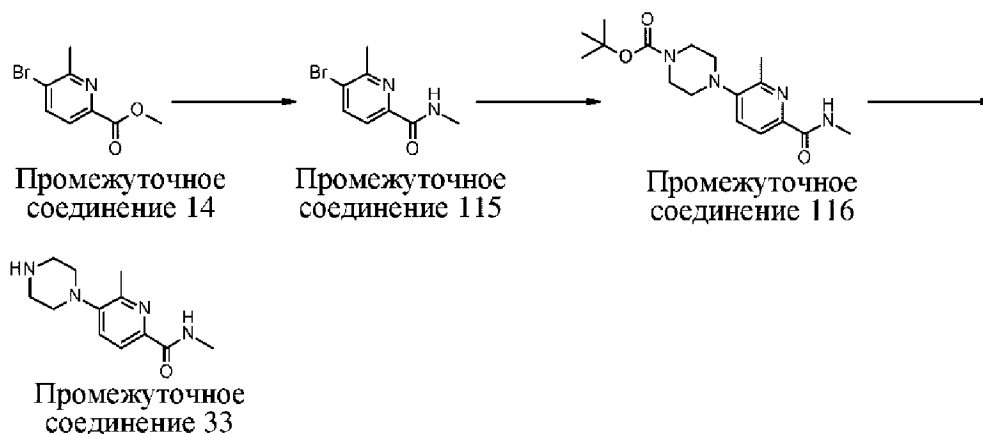


Промежуточное соединение 114. трет-Бутил-4-[2-фтор-6-(метилкарбамоил)-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилат

[0312] трет-Бутил-4-(2-фтор-6-метоксикарбонил-3-пиридил)пиперазин-1-карбоксилат (**промежуточное соединение 11**, 12,49 г, 36,80 ммоль) в метиламине (120 мл, 36,80 ммоль, 33 вес. % в этаноле) перемешивали при к. т. в течение 24 ч (в герметично закрытой пробирке). Растворитель удаляли при пониженном давлении. Остаток растворяли в DCM, и фильтровали через слой силикагеля, и промывали этилацетатом. Фильтрат концентрировали и высушивали под вакуумом с получением трет-бутил-4-[2-фтор-6-(метилкарбамоил)-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилата (**промежуточного соединения 114**, 12,45 г, 100%) в виде желтого твердого вещества. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) 1,42 (9H, s), 2,77 (3H, d), 3,04-3,16 (4H, m), 3,43-3,56 (4H, m), 7,59 (1H, dd), 7,80-7,93 (1H, m), 8,41 (1H, q); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 340.

Промежуточное соединение 32. 6-Фтор-N-метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамида

[0313] HCl (4 M раствор в диоксане, 100 мл, 400,00 ммоль) добавляли к раствору трет-бутил-4-[2-фтор-6-(метилкарбамоил)-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилата (**промежуточного соединения 114**, 12,5 г, 36,94 ммоль) в 1,4-диоксане (50 мл) при 0°C. Реакционную смесь перемешивали в течение 5 ч, в течение которых температуру повышали до комнатной температуры, с получением желтой суспензии. Суспензию разбавляли эфиром, твердое вещество отфильтровывали и промывали эфиром. Данное твердое вещество высушивали под вакуумом с получением 6-фтор-N-метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамида, 2HCl (**промежуточного соединения 32**, 11,42 г, 99%) в виде светло-желтого твердого вещества. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,8 (d, J = 4,6 Гц, 3 H), 3,3 (br s, 4 H), 3,4 (br d, J = 4,4 Гц, 4 H), 7,6-7,7 (m, 1 H), 7,9 (d, J = 8,1 Гц, 1 H), 8,4 (br d, J = 4,4 Гц, 1 H), 9,0-9,3 (m, 2 H); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 239.



Промежуточное соединение 115. 5-Бром-N,6-диметилпиколинамид

[0314] 2 М раствор метиламина в THF (20 мл, 40,00 ммоль) добавляли к метил-5-бром-6-метилпиколинату (**промежуточному соединению 14**, 2,0 г, 8,69 ммоль) и полученную смесь перемешивали при 80°C в течение 18 часов. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали посредством хроматографии с обращенной фазой, градиент элюирования 5-80% MeOH в воде (0,1% NH₄HCO₃). Чистые фракции выпаривали до сухого состояния с получением 5-бром-N,6-диметилпиколинамида (**промежуточного соединения 115**, 1,5 г, 75%) в виде бледно-желтого твердого вещества. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) 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⁺) [M+H]⁺ = 229.

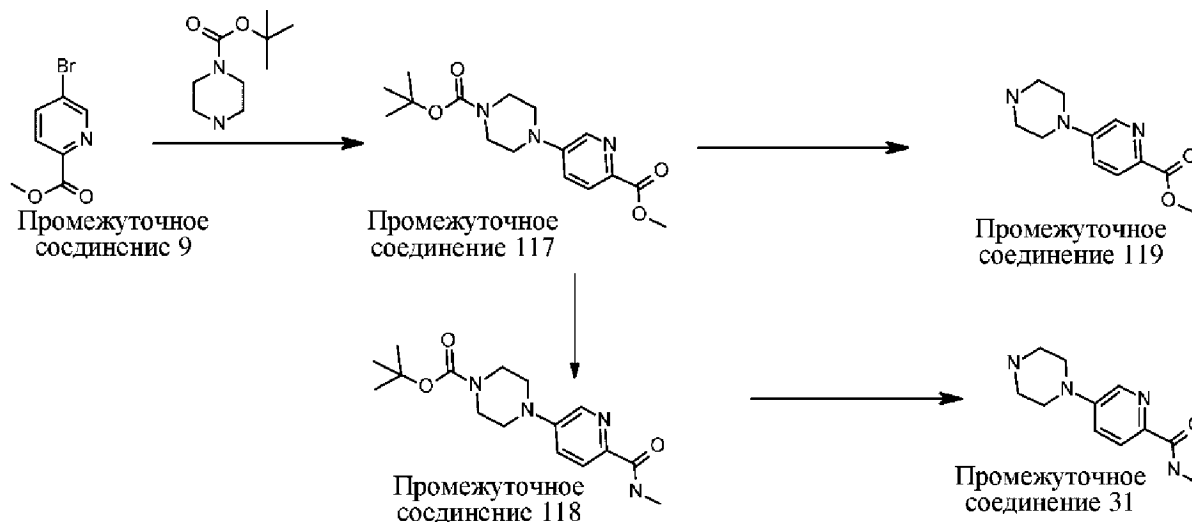
Промежуточное соединение 116. трет-Бутил-4-(2-метил-6-(метилкарбамоил)пиридин-3-ил)пиперазин-1-карбоксилат

[0315] 5-Бром-N,6-диметилпиколинамид (**промежуточное соединение 115**, 1,0 г, 4,37 ммоль) добавляли к трет-бутилпиперазин-1-карбоксилату (0,894 г, 4,80 ммоль), BINAP (0,272 г, 0,44 ммоль), Pd(OAc)₂ (0,098 г, 0,44 ммоль) и Cs₂CO₃ (3,56 г, 10,91 ммоль) в толуоле (20 мл) в атмосфере азота. Полученную смесь перемешивали при 80°C в течение 16 часов. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали посредством хроматографии с обращенной фазой, градиент элюирования 5-30% MeOH в воде (0,4% HCO₂H). Чистые фракции выпаривали до сухого состояния с получением трет-бутил-4-(2-метил-6-(метилкарбамоил)пиридин-3-ил)пиперазин-1-карбоксилата (**промежуточного соединения 116**, 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 33. N,6-Диметил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамид

[0316] трет-Бутил-4-(2-метил-6-(метилкарбамоил)пиридин-3-ил)пиперазин-1-карбоксилат (**промежуточное соединение 115**, 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 часа. Осадок собирали посредством фильтрации, промывали петролейным эфиром (5 мл x 2), Et₂O (5 мл x 2) и высушивали под вакуумом с получением N,6-диметил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинамида (**промежуточного соединения 33**, 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.



Промежуточное соединение 117. трет-Бутил-4-(6-метоксикарбонил-3-пиридил)пиперазин-1-карбоксилат

[0317] Ruphos Pd G3 (4,07 г, 4,86 ммоль) добавляли к дегазированной смеси метил-5-бромпиридин-2-карбоксилата (**промежуточного соединения 9**, 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 x 3). Объединенные органические слои высушивали над безводным Na₂SO₄ и фильтровали. К данному фильтрату добавляли 3-(диэтилентриамино)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 приблизительно 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 117**, 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 118. трет-Бутил-4-[6-(метилкарбамоил)-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилат

[0318] Метиламин (100 мл, 1155,26 ммоль, 40% в воде) добавляли к раствору трет-бутил-4-(6-метоксикарбонил-3-пиридил)пиперазин-1-карбоксилата (**промежуточного соединения 117**, 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 118**, 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 119. Метил-5-(пиперазин-1-ил)пиколинат

[0319] 4 М раствор HCl в диоксане (20 мл, 576,01 ммоль) добавляли к смеси трет-бутил-4-(6-(метоксикарбонил)пиридин-3-ил)пиперазин-1-карбоксилата (**промежуточного соединения 117**, 1,55 г, 4,82 ммоль) в MeOH (2 мл) при 0°C, реакционную смесь перемешивали при к. т. в течение 2 ч с получением суспензии, результат LCMS указывал на полное превращение, смесь разбавляли эфиром (приблизительно 80 мл), твердое вещество собирали посредством фильтрации, промывали эфиром, высушивали с получением метил-5-(пиперазин-1-ил)пиколината (**промежуточного соединения 119**) (1,384 г, 98%) в виде желтого твердого вещества. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) 3,21 (4H, br s), 3,66 (4H, br d), 3,83 (3H, s), 7,43-7,55 (1H, m), 7,95 (1H, br d), 8,43 (1H, br s), 9,49 (2H, br s); (масса/заряд) (ES⁺) [M+H]⁺ = 223,0.

Промежуточное соединение 31. Карбоксилат N-метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамид

[0320] HCl (4 М раствор в диоксане, 150 мл, 600,00 ммоль) добавляли к суспензии трет-бутил-4-[6-(метилкарбамоил)-3-пиридил]пиперазин-1-карбоксилата (**промежуточного соединения 118**, 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 смесью эфира и гексанов (200 мл, 1/1). Твердое вещество собирали посредством фильтрации, промывали гексанами, высушивали и высушивали под вакуумом с получением N-метил-5-пиперазин-1-илпиридин-2-карбоксамид, соли 2HCl (**промежуточного соединения 31**, 37,0 г, 100%) в виде желтого твердого вещества. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) 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^+) $[M+H]^+ = 221$.

Пример 61. Получение кристаллической формы В 6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида (безводной формы)

Способ 1

[0321] 43 мг (0,10 ммоль) 6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида (например, из примера 20) суспендировали в 1,0 мл MeOH и добавляли 0,11 мл 1 М водного раствора метансульфоновой кислоты (MSA) с получением прозрачного раствора. К раствору добавляли 0,11 мл 1 н. водного раствора NaOH. Белое твердое вещество начинало выпадать в осадок после завершения добавления раствора NaOH. Взвесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 дня. Фильтровали и высушивали на воздухе 36 мг белого твердого вещества. Результат XRPD демонстрирует, что твердое вещество представляет собой чистую форму В 6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида.

Способ 2

[0322] Пиридин (93,5 г) добавляли к раствору чистого мезилата 6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида (4,67 кг, полученного посредством способа 2 из примера 63) в воде (47,9 кг) и этаноле (38,0 кг) при $75 \pm 5^\circ\text{C}$ с последующим добавлением затравки, представляющей собой форму В 6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида (4,7 г), полученной согласно способу 1. Взвесь перемешивали при $75 \pm 5^\circ\text{C}$ в течение 40 мин, затем постепенно добавляли раствор пиридина (651 г) в смеси вода:этанол 50:50 объем:объем (4,2 кг) на протяжении 3 ч 40 мин. Взвесь перемешивали при $75 \pm 5^\circ\text{C}$ в течение 50 мин, затем постепенно добавляли раствор 4-метилморфолина (900 г) в смеси вода:этанол 50:50 объем:объем (4,1 кг) на протяжении 3 ч 50 мин. Взвесь перемешивали при $75 \pm 5^\circ\text{C}$ в течение 1 ч 10 мин, охлаждали до $25 \pm 5^\circ\text{C}$ на протяжении 4 ч 50 мин, перемешивали при $25 \pm 5^\circ\text{C}$ в течение 15 ч, затем фильтровали. Полученное твердое вещество два раза промывали смесью вода:этанол 50:50 объем:объем (12,5 кг x 2) и затем высушивали под вакуумом при температуре от 25°C до 50°C в течение 1 дня с получением чистой формы В 6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида (3,54 кг) с выходом 93%.

[0323] Форму В из способа 1 анализировали посредством XRPD, и результаты представлены в таблице ниже (таблица 1) и показаны на **фигуре 1**.

Таблица 1. Пики XRPD для формы В

| Угол ($2\theta \pm 0,2^\circ$) | Интенсивность (%) |
|----------------------------------|-------------------|
| 18,2 | 100,0 |
| 9,6 | 86,7 |
| 9,1 | 80,7 |
| 18,7 | 55,8 |
| 12,7 | 24,1 |
| 8,5 | 23,9 |
| 10,0 | 15,6 |
| 20,1 | 14,8 |
| 21,7 | 13,9 |
| 23,2 | 12,3 |
| 12,4 | 12,2 |
| 16,1 | 9,6 |
| 14,3 | 9,2 |
| 6,2 | 8,9 |
| 15,6 | 7,7 |
| 27,4 | 6,9 |
| 26,4 | 6,6 |
| 29,7 | 6,2 |
| 27,1 | 6,0 |
| 25,0 | 5,0 |

[0324] Форма В характеризуется тем, что обеспечивает по меньшей мере одно из следующих значений угла 2θ , измеренных с применением излучения $\text{CuK}\alpha$: 6,2, 14,3 и $15,6^\circ$.

[0325] Форму В (из способа 1) анализировали посредством методик термического анализа. Результаты DSC-анализа указывали на то, что форма В характеризуется точкой плавления с началом при 275°C и пиком при 276°C . Результаты TGA указывали на то, что форма В характеризуется потерей массы, составляющей приблизительно 0,2%, при нагревании от приблизительно 25°C до приблизительно 100°C . Иллюстративная термограмма DSC/TGA формы В показана на **фигуре 2**.

Пример 62. Получение кристаллической формы D 6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида (безводной формы).

[0326] Растворяли 5-6 мг 6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида (иллюстративного соединения 20) в смешанных растворителях MeOH/DCM/H₂O (0,50 мл/0,50 мл/0,20 мл), прозрачный раствор медленно выпаривали в условиях окружающей среды с получением белого твердого вещества. Результат XRPD демонстрирует, что полученное белое твердое вещество представляет собой форму D 6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида.

Форму D анализировали посредством XRPD и результаты приведены в таблице ниже (таблица 2) и показаны на **фигуре 3**.

Таблица 2. Пики XRPD для формы D

| Угол ($2\theta \pm 0,2^\circ$) | Интенсивность (%) |
|----------------------------------|-------------------|
| 9,6 | 100,0 |
| 18,4 | 43,0 |
| 13,1 | 32,0 |
| 19,9 | 17,9 |
| 27,1 | 17,3 |
| 9,2 | 15,9 |
| 21,7 | 14,0 |
| 23,4 | 11,2 |
| 24,5 | 9,6 |
| 19,3 | 8,8 |
| 16,8 | 8,7 |
| 22,2 | 8,3 |
| 16,3 | 8,0 |
| 18,8 | 7,6 |
| 25,4 | 6,9 |
| 10,2 | 6,6 |
| 33,0 | 6,3 |
| 22,5 | 5,8 |
| 12,6 | 5,7 |

| | |
|-----|-----|
| 7,9 | 4,5 |
|-----|-----|

[0327] Форма D характеризуется тем, что обеспечивает по меньшей мере одно из следующих значений угла 2θ , измеренных с применением излучения $\text{CuK}\alpha$: 7,9, 13,1 и 16,3°.

[0328] Монокристаллы формы D получали посредством выпаривания раствора (или смеси DMF/ H_2O) 6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид в DMF. Анализ структуры монокристалла подтверждал, что форма D представляет собой безводную форму. Молекулярная структура формы D 6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид показана на **фигуре 4**. Кристаллографические данные: моноклиническая пространственная группа $P2_1/c$, размеры элементарной ячейки: $a = 17,4559(8) \text{ \AA}$, $b = 5,0647(2) \text{ \AA}$, $c = 22,564(1) \text{ \AA}$, $\beta = 92,609(1)^\circ$, $V = 1992,8(2) \text{ \AA}^3$.

[0329] **Пример 63.** Получение кристаллической формы C соли MSA 6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид (безводной формы).

Способ 1

[0330] 427 мг 6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид (иллюстративного соединения 20) суспендировали в 8,0 мл MeOH. К суспензии добавляли 1,1 мл 1,0 М водного раствора MSA (1,1 ммоль), получали прозрачный раствор. Полученный раствор фильтровали и удаляли растворители из прозрачного раствора. Полученное твердое вещество суспендировали в 1,0 мл EtOH и 2,0 мл THF с получением взвеси. Взвесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 дня. Твердое вещество собирали посредством фильтрации и высушивали на воздухе. Получали 452 мг грязно-белого твердого вещества. Результат XRD демонстрирует, что была получена форма C соли MSA 6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид.

Способ 2

[0331] Метансульфоновую кислоту (16,8 г) добавляли к перемешиваемой суспензии 6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид (80,8 г, 92,8% вес/вес) в смеси THF:этанол 4:1 объем/объем (750 мл) при 25°C. Полученную суспензию перемешивали при 25°C в течение 16 ч и затем фильтровали. Твердое вещество промывали смесью THF:этанол 4:1 объем:объем (300 мл) и затем высушивали при 35°C под вакуумом с получением

формы С мезилата 6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксоамида (90,3 г) с выходом 98%.

[0332] MSA-форму С из способа 1 анализировали посредством XRPD и результаты представлены в таблице ниже (таблица 3) и показаны на **фигуре 5**.

Таблица 3. Пики XRPD для MSA-формы С

| Угол ($2\theta \pm 0,2^\circ$) | Интенсивность (%) |
|----------------------------------|-------------------|
| 17,5 | 100,0 |
| 24,6 | 95,7 |
| 25,4 | 75,8 |
| 16,0 | 73,8 |
| 22,5 | 72,6 |
| 19,4 | 72,5 |
| 24,3 | 71,6 |
| 13,6 | 65,6 |
| 19,0 | 61,3 |
| 20,4 | 53,3 |
| 21,5 | 43,4 |
| 15,5 | 43,2 |
| 22,0 | 40,2 |
| 28,8 | 35,8 |
| 14,6 | 34,2 |
| 26,9 | 29,7 |
| 21,0 | 29,4 |
| 18,3 | 29,1 |
| 31,4 | 26,8 |
| 16,8 | 26,0 |

[0333] MSA-форму С, полученную способом 1, анализировали посредством методик термического анализа. Результаты DSC-анализа указывали на то, что MSA-форма С начинает плавиться и разлагаться при температуре с началом при 254°C и пиком при 258°C. Результаты TGA указывали на то, что MSA-форма С характеризуется потерей массы, составляющей приблизительно 0,3%, при нагревании от приблизительно 25°C до приблизительно 100°C. Иллюстративная термограмма DSC/TGA MSA-формы С показана на **фигуре 6**.

Биологические анализы

[0334] Следующие процедуры тестирования могут быть использованы для определения ингибирующих свойств соединений, описанных в данном документе.

Анализы связывания PARP на основе анизотропии флуоресценции

[0335] Рекомбинантный полноразмерный белок PARP1 с меткой 6HIS разбавляли до 6 нМ с помощью 50 мМ Трис с pH 8, 0,001% Triton X100, 10 мМ MgCl₂, 150 мМ NaCl и инкубировали в течение четырех часов с эквивалентным объемом флуоресцентного зонда с концентрацией 2 нМ, разбавленного с помощью 50 мМ Трис с pH 8, 0,001% Triton X100, 10 мМ MgCl₂, 150 мМ NaCl. Конечную концентрацию DMSO в растворе зонда поддерживали ниже 1% (объем/объем).

[0336] Рекомбинантный полноразмерный белок PARP2 разбавляли до 6 нМ с помощью 50 мМ Трис с pH 8, 0,001% Triton X100, 10 мМ MgCl₂, 150 мМ NaCl и инкубировали в течение четырех часов с эквивалентным объемом флуоресцентного зонда с концентрацией 2 нМ, разбавленного с помощью 50 мМ Трис с pH 8, 0,001% Triton X100, 10 мМ MgCl₂, 150 мМ NaCl. Конечную концентрацию DMSO в растворе зонда поддерживали ниже 1% (объем/объем).

[0337] Рекомбинантный полноразмерный белок PARP3 разбавляли до 100 нМ с помощью 50 мМ Трис с pH 8, 0,001% Triton X100, 10 мМ MgCl₂, 150 мМ NaCl и инкубировали в течение четырех часов с эквивалентным объемом флуоресцентного зонда с концентрацией 6 нМ, разбавленного с помощью 50 мМ Трис с pH 8, 0,001% Triton X100, 10 мМ MgCl₂, 150 мМ NaCl. Конечную концентрацию DMSO в растворе зонда поддерживали ниже 1% (объем/объем).

[0338] Рекомбинантный связывающий домен PARP5a разбавляли до 160 нМ с помощью 50 мМ Трис с pH 8, 0,001% Triton X100, 10 мМ MgCl₂, 150 мМ NaCl и инкубировали в течение четырех часов с эквивалентным объемом флуоресцентного зонда с концентрацией 6 нМ, разбавленного с помощью 50 мМ Трис с pH 8, 0,001% Triton X100, 10 мМ MgCl₂, 150 мМ NaCl. Конечную концентрацию DMSO в растворе зонда поддерживали ниже 1% (объем/объем).

[0339] Рекомбинантный полноразмерный белок PARP6 с меткой GST разбавляли до 160 нМ с помощью 50 мМ Трис с pH 8, 0,001% Triton X100, 10 мМ MgCl₂, 150 мМ NaCl и инкубировали в течение четырех часов с эквивалентным объемом флуоресцентного зонда с концентрацией 6 нМ, разбавленного с помощью 50 мМ Трис с pH 8, 0,001% Triton X100, 10 мМ MgCl₂, 150 мМ NaCl. Конечную концентрацию DMSO в растворе зонда поддерживали ниже 1% (объем/объем).

[0340] Анизотропию флуоресценции зонда при связывании с белками измеряли с применением BMG Pherastar FSX[®] в присутствии тестируемых соединений или контроля с

растворителем и определяли влияние на анизотропию. Рассчитывали процентные значения ингибирования для разных концентраций тестируемого соединения и аппроксимировали относительно четырехпараметрического логистического графика с целью определения значения IC_{50} . При необходимости значение K_i соединения может быть определено 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 известного значения K_D зонда, связывающегося с соответствующим белком PARP.

Анализ пролиферации с применением PARP (введение дозы соединения в течение 7 дней)

[0341] Клетки DLD1 и BRCA2 (-/-) DLD1 собирали с получением плотности, составляющей 5000 клеток/мл и $2,5E4$ клеток/мл соответственно, в полной среде, высевали при 40 мкл/лунка в 384-луночные планшеты (Greiner, Кремс-мюнстер, Австрия; 781090) с применением Multidrop Combi, затем инкубировали при $37^{\circ}C$, 5% CO_2 в течение ночи. На следующий день (день 1) с применением Multidrop Combi добавляли sytox green (5 мкл, 2 мкМ) и сапонин (10 мкл, 0,25% исходный раствор) в планшет дня 0, герметично закрывают планшет с применением черной клейкой крышки и инкубируют в течение более 3 ч при к. т. Клетки визуализировали с применением Cell Insight (Thermo Fisher), оснащенного 4x объективом. Тестируемые соединения добавляли с применением Echo 555 и помещали в инкубатор с поддержанием $37^{\circ}C$, 5% CO_2 и инкубировали в течение 7 дней. В день 8 добавляли sytox green (5 мкл, 2 мкМ) и затем сапонин (10 мкл, 0,25% исходный раствор) в планшеты, герметично закрывают планшет с применением черной клейкой крышки и инкубируют в течение более 3 ч при к. т. Все клетки анализируют с помощью Cell Insight с 4x объективом. Скорость пролиферации определяют в Genedata посредством оценки общего числа клеток, полученного с помощью Cell Insight для планшетов дня 0 и дня 8.

Анализ эффлюкса транспортеров человека *in vitro*

[0342] Клетки MDCKII, экспрессирующие MDR1 и BCRP, высевали на полиэтиленовые мембраны в 96-луночные системы Transwell insert при плотности, обеспечивающей образование монослоя конфлюэнтных клеток. Тестируемые и эталонные соединения разбавляли буфером для переноса (HBSS HEPES, pH7,4) до концентрации, составляющей 1 или 0,1 мкМ. Конечный объемный процент органического растворителя составлял менее 1%. Проникновение тестируемых соединений в направлении от А до В и в направлении от В до А определяли на протяжении инкубации продолжительностью 90 мин при $37^{\circ}C$ и 5% CO_2 при относительной влажности, составляющей 95%. В конце инкубации отбирали образцы с апикальной и базолатеральной сторон и затем осаждали холодным ацетонитрилом, содержащим внутренний стандарт. После центрифугирования

при 4000 об./мин надосадочную жидкость разбавляли 0,1% водным раствором муравьиной кислоты и определяли количественно посредством LC-MS/MS. Целостность монослоев клеток подтверждали с применением маркера Lucifer yellow.

[0343] Коэффициент проницаемости (1×10^{-6} см/с) рассчитывали с применением следующего уравнения:

$$P_{app} = (dCr/dt) \times V_r / (A \times C_0);$$

(1) коэффициент эффлюкса рассчитывали с применением следующего уравнения:

$$\text{коэффициент эффлюкса} = P_{app}(\text{от В до А}) / P_{app}(\text{от А до В}),$$

(2) где dCr/dt представляет собой кумулятивную концентрацию соединения в приемной камере в виде функции времени (в мкМ/с); V_r представляет собой объем раствора в приемной камере (0,1 мл на апикальной стороне и 0,3 мл на базолатеральной стороне); A представляет собой площадь поверхности для переноса, то есть $0,11 \text{ см}^2$ для площади монослоя, и C_0 представляет собой исходную концентрацию в донорной камере (в мкМ).

Определение несвязанной фракции в плазме крови

[0344] Несвязанную фракцию определяли с применением RED Device.

Соединения получали в виде 10 мМ растворов в DMSO. Рабочий исходный 1 мМ раствор получали посредством смешивания не более 9 тестируемых соединений (4 мкл каждого) и 1 контроля (мкл). Если включали менее чем 9 тестируемых соединений, то добавочный объем интактного раствора DMSO добавляли для доведения объема до 40 мкл.

[0345] Замороженную плазму крови размораживали на водяной бане при 37°C . Затем плазму крови центрифугировали в течение 2 минут при 4000 об./мин с удалением сгустков и отбором надосадочной жидкости в новую пробирку. Контролировали pH плазмы крови и применяли только, если ее значение pH находилось в пределах диапазона от pH 7 до pH 8. Добавляли 3 мкл рабочего раствора из каждой кассеты к 597 мкл интактной плазмы крови и встряхивали в течение 5 минут при 1000 об./мин. Конечный объемный процент органического растворителя составляет 0,5%, и конечная концентрация тестируемого соединения составляла 5 мкМ. Немедленно переносят 50 мкл суспензии плазмы крови с добавкой в 96-луночный планшет, которая выступает в качестве контрольного образца $T = 0$. Образцы обрабатывают таким же образом, как и образцы после инкубации. Оставшуюся плазму крови выдерживают при 37°C до начала диализа.

[0346] Помещают вставки открытым концом вверх в лунки основного планшета. Добавляют 300 мкл образца плазмы крови с добавкой в камеру для образца, обозначенную с помощью красного кольца. Добавляют 500 мкл фосфатного буфера (pH 7,4) в камеру для буфера. Установку накрывают газопроницаемой крышкой и инкубируют в течение

18 часов при 37°C при 300 об./мин с 5% CO₂ на орбитальном встряхивателе в инкубаторе с CO₂. В конце инкубации убирают крышку и вносят с помощью пипетки 50 мкл образцов после диализа из камер как для буфера, так и для плазмы крови в отдельный 96-луночный планшет для анализа соответственно.

[0347] Образцы приводили в соответствие матричному раствору посредством добавления 50 мкл интактной плазмы крови крысы к образцам буфера и равного объема PBS к отобраннным образцам плазмы крови и встряхивали для перемешивания. Добавляли 400 мкл ацетонитрила, содержащего подходящий внутренний стандарт (IS), к осадку белка и высвобожденного соединения и перемешивали посредством встряхивания планшета в течение 10 минут с последующим центрифугированием в течение 30 минут при 4000 об./мин. Переносили 250 мкл надосадочной жидкости в новые 96-луночные планшеты и снова центрифугировали (4000 об./мин, 30 минут). Затем переносили 100 мкл надосадочной жидкости в новые 96-луночные планшеты и смешивали со 100 мкл дистиллированной воды для каждого образца посредством встряхивания в течение 5 минут при 1000 об./мин. Образцы анализировали посредством LC-MS/MS и концентрации лекарственного средства определяли в сравнении с калибровочной кривой, полученной для интактной плазмы крови с добавкой с типичным диапазоном концентраций, составляющим 1-7500 нМ.

[0348] Определяли % несвязанной фракции как $\% \text{ несвязанной фракции} = (\text{конц. в камере с буфером} / \text{конц. в камере с плазмой крови}) \times 100\%$. Несвязанная фракция = $\% \text{ несвязанной фракции} / 100$.

Определение несвязанной фракции в срезе головного мозга

[0349] Принцип способа определения объема несвязанной фракции в срезах головного мозга был опубликован ранее (Development of a High-Throughput Brain Slice Method for Studying Drug Distribution in the Central Nervous System; Fridén et al; Drug Metabolism and Disposition, 2009, 37 (6) 1226-1233). Краткое описание представлено ниже.

[0350] Получали исходные растворы соединения в DMSO с концентрацией, составляющей 10 мМ. Рабочий исходный 1 мМ раствор получали посредством смешивания не более 9 тестируемых соединений (4 мкл каждого) и 1 контроля (4 мкл). Если включали менее чем 9 тестируемых соединений, то интактный раствор DMSO добавляли для доведения объема до 40 мкл. В день эксперимента 4 мкл разбавляли в 40 мл буфера ECF с получением раствора каждого из тестируемых соединений с концентрацией 100 нМ, который затем предварительно нагревали до 37°C перед началом инкубации.

[0351] Для получения срезов головного мозга крыс весом примерно 300 г подвергали эвтаназии посредством ингаляции изофлурана, головной мозг осторожно

извлекали и погружали в ледяной оксигенированный буфер ECF. Головной мозг крысы переносили в емкость, содержащую ледяной буфер ECF с добавленным O₂, и подрезали лезвием перед приклеиванием к лотку микротомом, при этом головной мозг помещали задней поверхностью вниз по центру лотка. Ледяной буфер ECF добавляли для затвердевания клея и увлажнения головного мозга. Лоток помещали в микротом и с применением подходящей скорости разрезания нарезали срезы толщиной 100-400 мкм до появления области стриатума. Для каждого головного мозга нарезали от четырех до шести коронарных среза областей стриатума толщиной 300 мкм и до инкубации помещали в ледяной буфер с добавленным O₂. Шесть срезов переносили в лоток для инкубации, содержащий 40 мл предварительно нагретой (37°C) кассетной смеси. Время от момента извлечения головного мозга до помещения срезов в смесь составляло максимум 20 минут. Лоток для инкубации накрывали газопроницаемой крышкой и помещали на водяную баню при 37°C с нагнетанием в нее O₂ и инкубировали при частоте встряхивания, составляющей 45 об./мин, в течение 5 ч.

[0352] Перед инкубацией 200 мкл кассетного раствора, не подвергнутого инкубации, сохраняли под названием образец T = 0. Затем 200 мкл смешивали с 200 мкл интактного гомогената головного мозга в буфере ECF (4 объема (вес/объем)). После инкубации измеряют и регистрируют pH кассетного раствора, и значение pH должно быть выше 7,3. Переносили 200 мкл с поверхности кассетного раствора в пробирку, содержащую 200 мкл интактного гомогената головного мозга в буфере ECF (4 объема (вес/объем)). Каждый срез головного мозга высушивают на фильтровальной бумаге и взвешивают в пробирке erpendorf объемом 2 мл. После добавления 9 объемов (вес/объем) буфера ECF срезы гомогенизируют с помощью ультразвукового диспергатора. Образцы осаждали и разбавляли как описано ниже.

[0353] Аликвоты каждого образца объемом 50 мкл и 3 x 50 мкл из каждого кассетного раствора (смешанного с интактным гомогенатом) переносили в центрифужные пробирки объемом 0,6 мл. Образцы осаждают с 200 мкл ледяного ацетонитрила, содержащего внутренний стандарт, и встряхивают при 2000 об./мин в течение 3 минут с последующим центрифугированием при 14000 об./мин в течение 15 минут при 4°C. Переносили 100 мкл надосадочной жидкости в новый 96-луночный планшет для анализа и 100 мкл дистиллированной воды к каждому образцу и планшет встряхивали в течение 2 минут при 1000 об./мин для анализа посредством LC-MS/MS.

[0354] Затем смешанные образцы срезов дополнительно разбавляют в две стадии, в 10 и 100 раз, двойным объемом интактных образцов, полученных со 150 мкл интактного гомогената головного мозга в буфере ECF (4 объема (вес/объем)), переносят в

центрифужные пробирки объемом 1,5 мл, содержащие 150 мкл буфера ECF, и встряхивают при 2000 об./мин в течение 2 минут. Образцы осаждают с 1200 мкл ледяного ацетонитрила и встряхивают при 2000 об./мин в течение 3 минут с последующим центрифугированием при 14000 об./мин в течение 15 минут при 4°C. Затем переносят 100 мкл надосадочной жидкости в новый 96-луночный планшет для анализа. Добавляют 100 мкл дистиллированной воды к каждому образцу с получением интактных образцов двойного объема.

[0355] Объем несвязанной фракции головного мозга ($V_{\text{несвязанная фракция, головной мозг}}$) рассчитывали как $V_{\text{несвязанная фракция}} = (C_{\text{срез}} - V_0 * C_{\text{ECF}}) / (1 - V_0) * C_{\text{ECF}}$,

[0356] где $C_{\text{срез}}$, C_{ECF} и V_0 представляют собой количество лекарственного средства в срезе, концентрацию лекарственного средства в ECF (представляющую собой концентрацию лекарственного средства в головном мозге с ECF, т. е. свободную концентрацию) и адгезию воды в срезе головного мозга (0,0931) соответственно.

[0357] Несвязанная фракция головного мозга $f_{\text{несвязанная фракция, головной мозг}} = 1 / V_{\text{несвязанная фракция, головной мозг}}$

Определение значения $K_{\text{рии}}$ у крысы

[0358] Отношение "общее количество лекарственного средства/количество несвязанного лекарственного средства" в плазме крови и "общее количество лекарственного средства/количество несвязанного лекарственного средства" в головном мозге ($K_{\text{р}}/K_{\text{рии}}$) определяли следующим образом.

[0359] Соединения составляли в виде смеси при концентрации каждого 0,5 мМ в смеси тетраэтиленгликоль:диметилацетамид:вода 1:1:1 и вводили крысам Han Wistar посредством внутривенной инфузии при 2 мкмоль/кг/ч при объеме 4 мл/кг. Через 4 ч животных умерщвляли и собирали образцы головного мозга и крови. Получали плазму крови из крови и до анализа все образцы хранили в замороженном виде при -20°C. Следующие отобранные образцы головного мозга гомогенизировали в очищенной воде в соотношении 1:3 (вес/объем) и до анализа хранили в замороженном виде при -20°C.

[0360] Образцы плазмы крови и головного мозга анализировали посредством осаждения белка с последующей LC-MS/MS и концентрации определяли по калибровочной кривой, полученной посредством внесения добавки, представляющей собой лекарственное средство, в интактную плазму крови или гомогенат головного мозга крысы в подходящем диапазоне концентраций. Концентрацию в головном мозге корректировали для остаточного количества крови посредством вычитания 0,8% концентрации в плазме крови из общей концентрации в головном мозге.

| | | | | | | | | | | |
|----|-------|------|------|------|------|-----|-------|-----|-----|------|
| 23 | 0,005 | >67 | >100 | >100 | >100 | >40 | 0,003 | >30 | 0,8 | 0,62 |
| 24 | 0,006 | >81 | >100 | >100 | >100 | >36 | 0,003 | >30 | 1,1 | |
| 25 | 0,005 | >100 | | | | | 0,297 | | | |
| 26 | 0,005 | 88 | | | | | | | | |
| 27 | 0,004 | >64 | >100 | >100 | >100 | >40 | 0,006 | 6,3 | 0,8 | 0,43 |
| 28 | 0,005 | >100 | >100 | >100 | >100 | >38 | 0,004 | | 0,8 | |
| 29 | 0,015 | >100 | >100 | >100 | >100 | >40 | 0,005 | >10 | 0,7 | 0,33 |
| 30 | 0,006 | >100 | >100 | >100 | >100 | >40 | 0,003 | >30 | 1,8 | |
| 31 | 0,007 | >100 | >100 | >100 | >100 | >40 | 0,007 | >30 | 1,6 | 0,19 |
| 32 | 0,007 | >100 | >100 | >100 | >100 | >40 | 1,08 | 23 | | |
| 33 | 0,167 | >100 | | | | | >30,0 | | | |
| 34 | 0,026 | >100 | | | | 29 | 8,44 | | | |
| 35 | 0,03 | >100 | | | | | 10,3 | >30 | | |
| 36 | 0,022 | >100 | | | | | 16,2 | | | |
| 37 | 0,026 | 57 | | | | | 0,01 | | 5,0 | |
| 38 | 0,012 | 21 | >100 | >100 | >100 | >40 | 0,547 | | | |
| 39 | 0,006 | >100 | >100 | >100 | >100 | >40 | 0,008 | | 1,9 | |
| 40 | 0,011 | >100 | >100 | 13 | >100 | >40 | 0,007 | | 2,0 | |
| 41 | 0,005 | >100 | >100 | >100 | >100 | >40 | 0,007 | | 2,4 | |
| 42 | 0,005 | >88 | | | | | 0,006 | | | |
| 43 | 0,005 | >100 | | | | | 0,01 | | | |
| 44 | 0,128 | >100 | | | | | >30,0 | | | |
| 45 | 0,006 | >100 | | | | | 0,006 | | 1,5 | |
| 46 | 0,01 | >100 | | | | | 0,013 | | | |
| 47 | 0,076 | >100 | >100 | >100 | >100 | >40 | 0,058 | | | |
| 48 | 0,039 | 26 | >100 | >100 | >100 | >40 | 0,018 | 27 | 8,8 | |
| 49 | 0,043 | 11 | >29 | >100 | >100 | >40 | 0,041 | | | |
| 50 | 0,060 | 35 | | | | >40 | 0,136 | | | |
| 51 | 0,006 | 1,2 | | | | | | | | |
| 52 | 0,085 | 3,8 | | | | | | | | |
| 53 | 0,026 | >100 | | | | | | | | |
| 54 | 0,111 | >100 | | | | | | | | |
| 55 | 0,005 | >100 | | | | | | | | |
| 56 | 0,008 | >100 | | | | | | | | |

| | | | | | | | | | |
|----|-------|------|--|--|--|--|--|--|--|
| 57 | 0,011 | >100 | | | | | | | |
| 58 | 0,008 | >100 | | | | | | | |
| 59 | 0,006 | 2,1 | | | | | | | |
| 60 | 0,023 | >100 | | | | | | | |

Таблица 4

Дополнительные материалы и способы**Клеточные линии**

[0363] Для проведения оценки активности и эффективности ингибиторов PARP, описанных в данном документе, в комбинации с темозоламидом (TMZ), являющимся стандартным средством лечения при химиотерапии, ионизирующим излучением (IR) и новым средством химиотерапии VAL-083 анализировали клетки глиобластомы U87, SJG2 и BT245. Исходные клеточные линии U87 получали из глобального банка клеток AstraZeneca в Олдерли-Парк, Соединенное королевство, и линия клеток, мутантных по изоцитратдегидрогеназе 1 (R132H IDH1mt), была лицензирована ATCC. Клеточные линии SJ-G2 (ATRX-мутантная) и BT245 (H3K27M-мутантная) получали из Научно-исследовательского института Центра здоровья Университета Макгилла, Монреаль, Квебек, H4A 3J1, Канада. Мутация IDH1 R132 была индуцирована в клеточной линии SJG2 для получения изогенной пары (SJG2 IDH1mt и SJG2 IDH1wt).

Анализ комбинации ингибитора PARP с темозоламидом (TMZ) или VAL-083

[0364] Для оценки активности комбинации ингибитора PARP, полученного в примере 20 (6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид; далее в данном документе обозначен как “соединение 20”), с TMZ или VAL-083 использовали анализ конечной точки числа ядер в отношении изогенной пары U87 и применяли конечную точку CellTiter-Glo (CTG) в случае изогенных пар SJ-G2. Так, клетки высевали при низкой плотности (500 клеток на лунку) в 96-луночный планшет и подвергали воздействию соединения 20 в течение времени, соответствующего более чем 4-5 клеточным циклам репликации (7-8 дней). После прикрепления клеток планшеты предварительно обрабатывали ингибитором PARP с помощью автоматического цифрового диспенсера D300 HP (Tecan) в течение часа, после чего автоматически распределяли TMZ или VAL-083. Лекарственные средства добавляли из исходных соединений, растворенных в DMSO (10 мМ исходного раствора ингибитора PARP, 100 мМ исходного раствора TMZ и 100 мМ исходного раствора VAL-083) в указанных титровальных разбавлениях, при этом каждую концентрацию тестировали в двух повторностях в каждом планшете. DMSO служил в качестве контроля со средой-носителем. Тестируемые диапазоны концентраций выбирали таким образом, чтобы

получить оптимальную активность ингибитора PARP, TMZ или VAL-083 в изогенных парах и провести оценку комбинации при применении многократных доз. Планшеты инкубировали при 37°C, 5% CO₂ в течение указанных периодов времени. Рост клеток и отсутствие контаминации регулярно проверяли с помощью микроскопа.

[0365] Для проведения анализа конечной точки числа ядер клетки фиксировали в течение приблизительно 15 минут (минимум) посредством добавления формальдегида (Sigma-Aldrich F8775) в количестве 50 мкл на лунку. Фиксирующий раствор затем удаляли и однократно промывали планшеты с помощью PBS перед добавлением Hoechst (Thermo Scientific 33342) в разбавлении исходного красителя 1:10000 в PBS на 30 мин при комнатной температуре (к. т.). Планшеты снова промывали и добавляли PBS. Изображения были получены с применением CellInsight CX5 (Thermo Fisher) и проанализированы путем измерения общего числа ядер, окрашенных с помощью Hoechst. Число ядер (% конфлюэнтности) в лунках, обработанных лекарственным средством, нормализовали по контролю с DMSO и рассчитывали подавление роста с применением программного обеспечения Combenefit (Di Veroli et al., 2016). Подобным образом, при проведении анализа конечной точки CTG процессы в планшетах с комбинацией средств с изогенными парами SJ-G2 останавливали посредством добавления реагентов в соответствии с инструкциями производителя (Promega, Мэдисон, Висконсин, США; G7570). Жизнеспособность клеток (% жизнеспособности) в лунках, обработанных лекарственным средством, нормализовали по контролю с DMSO и рассчитывали подавление роста с применением программного обеспечения Combenefit (Di Veroli et al., 2016).

[0366] Баллы синергии и прирост активности относительно каждого вида монотерапии в отдельности рассчитывали путем сравнения с моделью аддитивности HSA (Borisly et al., 2003; Tan et al., 2012). На представленных графиках планки погрешностей представляют собой среднее значение \pm SD.

Анализ комбинации ингибитора PARP с ионизирующим излучением (IR)

[0367] Для оценки активности комбинации соединения **20** с IR использовали анализ образования колоний с измерениями роста клеток из отдельных колоний на протяжении 10-14 дней, позволяя им пройти по меньшей мере 5 клеточных циклов репликации. Так, клетки высевали при низкой плотности (500 клеток на лунку) в 24-луночные планшеты, покрытые поли-L-лизинном для облегчения прикрепления клеток. После прикрепления клеток планшеты предварительно обрабатывали ингибитором PARP с помощью автоматического цифрового диспенсера D300 HP (Tecan) в течение часа, после чего клетки облучали дозой 0,9 Гр с помощью трубки высоковольтного генератора рентгеновского излучения (Faxitron X-Ray Corporation). Ингибитор PARP добавляли из исходных растворов соединений,

растворенных в DMSO (10 мМ исходного раствора) в указанных титровальных разбавлениях, при этом каждую концентрацию тестировали в трех повторностях в каждой планшете. DMSO служил в качестве контроля со средой-носителем. Планшеты инкубировали при 37°C, 5% CO₂ в течение указанных периодов времени. Рост клеток и отсутствие контаминации регулярно проверяли с помощью микроскопа. Далее клетки фиксировали и окрашивали с применением кислотной формы сульфородамина В (SRB) [Sigma, 341738-5g], восстановленную в 1% уксусной кислоте, поскольку краситель добавляют сразу после фиксации без какой-либо стадии промывания, что ограничивает отслоение клеток. Планшеты с окрашенными колониями сканировали с помощью счетчика колоний GelCount (Oxford OPTRONIX) при разрешении 600 dpi. Образование колоний оценивали путем количественного определения общей оптической плотности, измеренной с помощью программного обеспечения ImageJ с применением маски для области 24-луночного планшета, представляющей интерес (ROI) (КОЕ, колониеобразующие единицы). Анализ данных проводили путем нормализации по обработанному средой-носителем соответствующему планшету, который устанавливали как равный 100. Данные нормализовали по соответствующему контролю со средой-носителем (установленному как равный 100) без IR, наносили на график и рассчитывали значение IC₅₀ с помощью программного обеспечения Prism GraphPad. На представленных графиках планки погрешностей представляют собой среднее значение ± SD.

Исследования ксенотрансплантата U87MG

[0368] Клетки U87MG (2,5 миллиона в бессывороточной среде MEM) имплантировали подкожно (SC) в дорсально-боковую область живота самок бестимусных мышей (весом более 18 г). Опухоли измеряли (длина x ширина) два раза в неделю путем измерений с помощью двустороннего штангенциркуля, и объем опухоли рассчитывали с применением формулы эллипса ($\pi/6 \times \text{ширина} \times \text{ширина} \times \text{длина}$). Вес тела животных и состояние опухоли отслеживали на всем протяжении исследования. Мышей рандомизировали в группы лечения, когда средний объем опухоли достигал примерно 0,2 см³.

[0369] Обработку животных осуществляли перорально (PO), начиная со следующего дня после рандомизации. Контрольных животных обрабатывали средой-носителем (вода/метансульфоновая кислота (MSA), pH 3-3,2) один раз в день в течение 10 дней (QD x 10). Ингибитор PARP в смеси вода/MSA с pH 3-3,2 вводили в группах монотерапии и комбинированной терапии в дозах 3 мг/кг QD x 10 или QD x 33 соответственно. Темозоломид (TMZ) в OraPlus Perrigo вводили в группе монотерапии в дозе

25 мг/кг QD в дни 1-5 и 29-33, и в группе монотерапии и комбинированной терапии в дозе 6,25 мг/кг QD в дни 1-5 и 29-33.

[0370] Подавление роста опухоли от начала обработки оценивали посредством сравнения среднего изменения объема опухоли (TV) в контрольных группах и группах обработки и представляли как показатель подавления роста, выраженный в процентах (TGI, если объем опухоли (TV) \geq начальный TV), или регрессию опухоли (reg, если TV < начальный TV). Статистическую значимость оценивали с применением одностороннего t-критерия. Статистическая значимость указана следующим образом: * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$.

Обработка с применением ингибитора PARP на ATRX-мутантных моделях GBM

[0371] Авторы настоящего изобретения исследовали соединение **20** в отношении активности в качестве монотерапии на клеточных линиях IDHmt и ATRXmt (моделях GBM SJ-G2 и U87). Модель ATRXmt GBM SJ-G2 продемонстрировала чувствительность к монотерапии соединением **20** в клинически достижимом диапазоне доз, и добавление мутации IDH1 не повышало чувствительность данной модели. Модель SJ-G2 ATRXmt продемонстрировала приблизительно в 40 раз более высокую чувствительность к соединению **20** по сравнению с моделью U87 ATRXwt. Результаты представлены ниже в **таблице 5** и показаны на **фигуре 7**.

Таблица 5. Обработка ATRX-мутантных моделей GBM в виде монотерапии

| Клеточная линия | IC50 (мкМ) соединения 20 | Кратность изменения IC50 по сравнению с U87 |
|---------------------|---------------------------------|---|
| U87 IDH1wt ATRXwt | >100 | |
| U87 IDH1mt ATRXwt | >100 | |
| SJ-G2 IDH1wt ATRXmt | 2,341 | ~ 43 |
| SJ-G2 IDH1mt ATRXmt | 1,748 | ~ 57 |

[0372] Данные результаты демонстрируют, что соединение **20** характеризуется сильной активностью в качестве монотерапии в ATRX-мутантных клеточных линиях и что дополнительное наличие мутации IDH1 не повышало чувствительность данной модели.

Комбинированная обработка с применением ингибитора PARP и TMZ

[0373] Оценку комбинации соединения **20** и TMZ проводили на клетках глиобластомы (GBM) с IDH1 дикого типа (IDH1wt) и с мутантным IDH1 (IDH1mt). Соединение **20** демонстрирует повышенный эффект синергии с TMZ при нескольких концентрациях соединения **20**, которые значительно превышают концентрацию соединения **20**, соответствующую IC95 для ингибирования парилирования (0,008 мкМ; данные не

показаны) для изогенной пары U87 (**фигура 8**). Важно отметить, что соединение **20** демонстрирует эффективное блокирование PARP1 при таких низких концентрациях, как 10 нМ, в то же время не затрагивая PARP2 (данные не показаны), что позволяет предположить, что наблюдаемое здесь преимущество комбинации соединения **20** и TMZ обусловлено ингибированием каталитической активности PARP1, а также повышенным повреждением ДНК, обусловленным заблокированным PARP1 на ДНК. Кроме того, соединение **20** проявляет эффект синергии с TMZ при в 10 раз более низкой концентрации (10 мкМ для IDH1wt по сравнению с 1 мкМ для IDH1mt) в отношении линии IDH1mt GBM по сравнению с линией дикого типа, что позволяет предположить, что IDH1mt GBM является более чувствительной к обработке с помощью TMZ.

[0374] Кроме того, проводили исследование комбинации соединения **20** и TMZ на изогенных IDH1wt и IDH1mt моделях GBM SJ-G2, которые являются ATRX-мутантными и p53-мутантными. Такие IDH1wt и IDH1mt модели SJG2 более точно отображают популяцию пациентов с GBM (Ohba, Kuwahara, Yamada, Abe, & Hirose, 2020). Важно отметить, что соединение **20** в значительной степени усиливало эффект TMZ в отношении изогенных пар SJ-G2 при нескольких концентрациях ингибитора PARP, даже таких низких, как 10 нМ (**фигура 9**). Кроме того, TMZ в значительной степени проявлял синергетический эффект с соединением **20** при одной и той же концентрации в отношении IDH1wt и IDH1mt моделей.

[0375] Противоопухолевую эффективность соединения **20** в комбинации с TMZ также исследовали на модели ксенотрансплантата U87MG с применением способа, описанного выше. TMZ, вводимый в дозе 6,25 мг/кг QD в дни 1-5 и 29-33, приводил к 28% регрессии опухоли (регрессировали 2/8 опухолей), в то время как его комбинация с соединением **20** (3 мг/кг QD) обеспечивала дополнительное преимущество в отношении противоопухолевого действия в виде 95% регрессии опухоли (регрессировали 8/8 опухолей) (**фигура 10A**). Различие являлось статистически значимым. Эффект более высокой дозы TMZ (25 мг/кг QD в дни 1-5 и 29-33), заключающийся в 92% регрессии опухоли (регрессировали 7/8 опухолей), был сопоставим с эффектом комбинированной обработки. Потерю веса тела и благополучие животных отслеживали во время обработки как косвенный показатель токсичности. Высокая доза темозоломида (25 мг/кг) приводила к большей потере веса тела, чем комбинация более низкой дозы темозоломида (6,25 мг/кг) с 3 мг/кг соединения **20** (**фигура 10B**).

Комбинированная обработка с применением ингибитора PARP и VAL-083

[0376] Оценку комбинации соединения **20** и алкилирующего средства VAL-083 проводили на изогенных парах IDH1wt и IDH1mt U87. Результаты, показанные на

фигуре 11, демонстрируют, что соединение **20** проявляет эффект синергии с VAL-083 в данных клетках. Примечательно, что преимущество комбинации соединения **20** с VAL-083 не зависит от статуса модели GBM по мутации IDH1, так как в модели IDH1mt не наблюдалось снижения дозы алкилирующего средства, необходимой для эффекта синергии с ингибитором PARP.

[0377] Подобным образом, ATRX-мутантные изогенные пары IDH1wt и IDH1mt SJ-G2 демонстрируют улучшенное преимущество комбинации соединения **20** и VAL-083, которое не зависит от статуса IDH1mt (**фигура 12**). Данные результаты также демонстрируют, что соединение **20** в дозе 1 мкМ характеризуется активностью в отношении ATRX-мутантных клеточных линий в отсутствие VAL-083. Это согласуется с результатами, изложенными выше и показанными на **фигуре 7**, демонстрирующей, что соединение **20** оказывает эффект при применении в виде монотерапии при нескольких концентрациях. Таким образом, это не только демонстрирует потенциальную пригодность данного ингибитора PARP в качестве монотерапии (т. е. без химиотерапии или лучевой терапии), но и позволяет предположить, что ингибитор PARP характеризуется эффектом в отношении уменьшения опухоли, который не зависит от его способности потенцировать эффективность алкилирующих химиотерапевтических средств, таких как VAL-083 и TMZ.

Комбинированная обработка с применением ингибитора PARP и терапии ионизирующим излучением

[0378] НЗК27М-мутантные диффузные срединные глиомы представляют собой глиомы у детей, при которых лучевая терапия является стандартным средством лечения. Тем не менее, прогноз при таких типах опухолей относительно неблагоприятен. В данном исследовании проводили оценку комбинации ионизирующего излучения и соединения **20** на модели НЗК27М-мутантной глиомы.

[0379] Результаты, показанные на **фигуре 13**, демонстрируют, что исследуемый ингибитор PARP проявляет улучшенное преимущество комбинации с ионизирующим излучением при нескольких дозах ингибитора совместно со сниженной клинически значимой дозой, составляющей 0,9 Гр (клинически значимая доза составляет 1,8 Гр). Важно отметить, что значение IC₉₅ для индуцированного соединением **20** ингибирования парилирования в педиатрической модели составляет 0,004 мкМ, следовательно, соединение находится в пределах диапазона своей максимальной активности. Данные результаты позволяют предположить, что раскрытые ингибиторы PARP могут быть применены в комбинации с ионизирующим излучением для лечения трудноизлечимых глиом, таких как НЗК27М-мутантная глиома. Кроме того, данные результаты позволяют предположить, что может быть возможным лечение опухолей с применением ингибиторов PARP с

пониженными уровнями ионизирующего излучения, что может снизить вредные эффекты, ассоциированные с воздействием высоких доз излучения.

Список литературы

[0380] Ряд публикаций процитированы выше для более полного описания и раскрытия настоящего изобретения и существующего уровня в области техники, к которой относится настоящее изобретение. Полные цитирования для этих литературных источников приведены ниже. Содержание каждого из этих литературных источников полностью включено в данный документ.

WO 2004/080976

EP 699754

EP 705903

[0381] Bai P. Biology of poly(ADP-ribose) polymerases: the factotums of cell maintenance. *Mol Cell* 2015;58:947-958, doi: 10.1016/j.molcel.2015.01.034

[0382] Bartkova J, Hamerlik P, Stockhausen MT, Ehrmann J, Hlobilkova A, Laursen H, Kalita O, Kolar Z, Poulsen HS, Broholm H, Lukas J, Bartek J. Replication stress and oxidative damage contribute to aberrant constitutive activation of DNA damage signalling in human gliomas. *Oncogene*. 2010 Sep 9;29(36):5095-5102. doi: 10.1038/onc.2010.249. Epub 2010 Jun 28. PMID: 20581868.

[0383] Borisy, A. A., Elliott, P. J., Hurst, N. W., Lee, M. S., Lehar, J., Price, E. R., . . . Keith, C. T. (2003). Systematic discovery of multicomponent therapeutics. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 100(13), 7977-7982. doi:10.1073/pnas.1337088100

[0384] Chappnis, P.O. and Foulkes, W.O., *Cancer Treat Res*, **107**, 29-59 (2002), doi: 10.1007/978-1-4757-3587-1_2

[0385] Di Veroli, G. Y., Fornari, C., Wang, D., Mollard, S., Bramhall, J. L., Richards, F. M., & Jodrell, D. I. (2016). Combenefit: an interactive platform for the analysis and visualization of drug combinations. *Bioinformatics*, 32(18), 2866-2868. doi:10.1093/bioinformatics/btw230

[0386] George SL, Lorenzi F, King D, Hartlieb S, Campbell J, Pemberton H, Toprak UH, Barker K, Tall J, da Costa BM, van den Boogaard ML, Dolman MEM, Molenaar JJ, Bryant HE, Westermann F, Lord CJ, Chesler L. Therapeutic vulnerabilities in the DNA damage response for the treatment of ATRX mutant neuroblastoma. *EBioMedicine*. 2020 Sep;59:102971. doi: 10.1016/j.ebiom.2020.102971. Epub 2020 Aug 23. PMID: 32846370; PMCID: PMC7452577

[0387] Gupta, S. K., Smith, E. J., Mladek, A. C., Tian, S., Decker, P. A., Kizilbash, S. H., . . . Sarkaria, J. N. (2018). PARP Inhibitors for Sensitization of Alkylation Chemotherapy in Glioblastoma: Impact of Blood-Brain Barrier and Molecular Heterogeneity. *Front Oncol*, 8, 670. doi:10.3389/fonc.2018.00670

Haase, S., Garcia-Fabiani, M. B., Carney, S., Altshuler, D., Núñez, F. J., Méndez, F. M., Núñez, F., Lowenstein, P. R., & Castro, M. G. (2018). Mutant ATRX: uncovering a new therapeutic target for glioma. *Expert opinion on therapeutic targets*, 22(7), 599-613. doi: 10.1080/14728222.2018.1487953

[0388] Hartmann C, Meyer J, Balss J, Capper D, Mueller W, Christians A, Felsberg J, Wolter M, Mawrin C, Wick W, Weller M, Herold-Mende C, Unterberg A, Jeuken JW, Wesseling P, Reifenberger G, von Deimling A. Type and frequency of IDH1 and IDH2 mutations are related to astrocytic and oligodendroglial differentiation and age: a study of 1,010 diffuse gliomas. *Acta Neuropathol.* 2009 Oct;118(4):469-74. doi: 10.1007/s00401-009-0561-9. Epub 2009 Jun 25. PMID: 19554337.

[0389] Higuchi, F., Nagashima, H., Ning, J., Koerner, M. V. A., Wakimoto, H., & Cahill, D. P. (2020). Restoration of Temozolomide Sensitivity by PARP Inhibitors in Mismatch Repair Deficient Glioblastoma is Independent of Base Excision Repair. *Clin Cancer Res*, 26(7), 1690-1699. doi:10.1158/1078-0432.CCR-19-2000

[0390] Himes, B. T., Zhang, L., & Daniels, D. J. (2019). Treatment Strategies in Diffuse Midline Gliomas With the H3K27M Mutation: The Role of Convection-Enhanced Delivery in Overcoming Anatomic Challenges. *Front Oncol*, 9, 31. doi:10.3389/fonc.2019.00031

Hughes-Davies, et al., *Cell*, **115**, 523-535 (2003) doi: 10.1016/s0092-8674(03)00930-9

Janatova M., et al., *Neoplasma*, 50(4), 246-250 (2003)

Jancarkova, N., *Ceska Gynecol.*, 68(1), 11-6 (2003), PMID: 12708108

[0391] Jannetti, S. A., Zeglis, B. M., Zalutsky, M. R., & Reiner, T. (2020). Poly(ADP-Ribose)Polymerase (PARP) Inhibitors and Radiation Therapy. *Front. Pharmacol.*, 11:170. doi: 10.3389/fphar.2020.00170

[0392] Jimenez-Alcazar, M., Curiel-Garcia, A., Nogales, P., Perales-Paton, J., Schuhmacher, A. J., Galan-Ganga, M., . . . Squatrito, M. (2021). Dianhydrogalactitol Overcomes Multiple Temozolomide Resistance Mechanisms in Glioblastoma. *Mol Cancer Ther*, 20(6), 1029-1038. doi:10.1158/1535-7163.MCT-20-0319

[0393] Koschmann, C., Calinescu, A. A., Nunez, F. J., Mackay, A., Fazal-Salom, J., Thomas, D., Mendez, F., Kamran, N., Dzaman, M., Mulpuri, L., Krasinkiewicz, J., Doherty, R., Lemons, R., Brosnan-Cashman, J. A., Li, Y., Roh, S., Zhao, L., Appelman, H., Ferguson, D., Gorbunova, V., ... Castro, M. G. (2016). ATRX loss promotes tumor growth and impairs nonhomologous end joining DNA repair in glioma. *Science translational medicine*, 8(328), 328ra28. doi: 10.1126/scitranslmed.aac8228

[0394] Mansouri, A., Hachem, L. D., Mansouri, S., Nassiri, F., Laperriere, N. J., Xia, D., Lindeman, N. I., Wen, P. Y., Chakravarti, A., Mehta, M. P., Hegi, M. E., Stupp, R., Aldape, K.

D., & Zadeh, G. (2019). MGMT promoter methylation status testing to guide therapy for glioblastoma: refining the approach based on emerging evidence and current challenges. *Neuro-oncology*, 21(2), 167–178. doi:10.1093/neuonc/ny132

[0395] Martínez-Ricarte F, Mayor R, Martínez-Sáez E, Rubio-Pérez C, Pineda E, Cordero E, Cicuéndez M, Poca MA, López-Bigas N, Ramon Y Cajal S, Vieito M, Carles J, Taberero J, Vivancos A, Gallego S, Graus F, Sahuquillo J, Seoane J. Molecular Diagnosis of Diffuse Gliomas through Sequencing of Cell-Free Circulating Tumor DNA from Cerebrospinal Fluid. *Clin Cancer Res*. 2018 Jun 15;24(12):2812-2819. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-17-3800. Epub 2018 Apr 3. PMID: 29615461.

[0396] Murai, J., Huang, S. Y., Das, B. B., Renaud, A., Zhang, Y., Doroshow, J. H., . . . Pommier, Y. (2012). Trapping of PARP1 and PARP2 by Clinical PARP Inhibitors. *Cancer Res*, 72(21), 5588-5599. doi:10.1158/0008-5472.CAN-12-2753

[0397] Murai, J., Zhang, Y., Morris, J., Ji, J., Takeda, S., Doroshow, J. H., & Pommier, Y. (2014). Rationale for poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) inhibitors in combination therapy with camptothecins or temozolomide based on PARP trapping versus catalytic inhibition. *J Pharmacol Exp Ther*, 349(3), 408-416. doi:10.1124/jpet.113.210146

[0398] Neuhausen, S.L. and Ostrander, E.A., *Genet. Test*, 1, 75-83 (1997), doi:10.1089/gte.1997.1.75

[0399] Ohba, S., Kuwahara, K., Yamada, S., Abe, M., & Hirose, Y. (2020). Correlation between IDH, ATRX, and TERT promoter mutations in glioma. *Brain Tumor Pathol*, 37(2), 33-40. doi:10.1007/s10014-020-00360-4

[0400] Patel, M. M., *Expert Opin. Drug Deliv.*, 2011, 8(10), 1247-1258, doi: 10.1517/17425247.2011.597739

[0401] Reisz, J. A., Bansal, N., Qian, J., Zhao, W., & Furdui, C. M. (2014). Effects of ionizing radiation on biological molecules--mechanisms of damage and emerging methods of detection. *Antioxid Redox Signal*, 21(2), 260-292. doi:10.1089/ars.2013.5489

[0402] Singh, N., Miner, A., Hennis, L., & Mittal, S. (2021). Mechanisms of temozolomide resistance in glioblastoma - a comprehensive review. *Cancer Drug Resist*, 4, 17-43. doi:10.20517/cdr.2020.79

[0403] SongTao, Q., Lei, Y., Si, G., YanQing, D., HuiXia, H., XueLin, Z., . . . Fei, Y. (2012). IDH mutations predict longer survival and response to temozolomide in secondary glioblastoma. *Cancer Sci*, 103(2), 269-273. doi:10.1111/j.1349-7006.2011.02134.x

[0404] Stupp, R., Brada, M., van den Bent, M. J., Tonn, J. C., Pentheroudakis, G., & Group, E. G. W. (2014). High-grade glioma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*, 25 Suppl 3, iii93-101. doi:10.1093/annonc/mdu050

Stupp, R., Tonn, J. C., Brada, M., Pentheroudakis, G., & Group, E. G. W. (2010). High-grade malignant glioma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*, 21 Suppl 5, v190-193. doi:10.1093/annonc/mdq187

[0405] Tan, X., Hu, L., Luquette, L. J., 3rd, Gao, G., Liu, Y., Qu, H., . . . Elledge, S. J. (2012). Systematic identification of synergistic drug pairs targeting HIV. *Nat Biotechnol*, 30(11), 1125-1130. doi:10.1038/nbt.2391

[0406] van Vuurden DG, Hulleman E, Meijer OL, Wedekind LE, Kool M, Witt H, Vandertop PW, Würdinger T, Noske DP, Kaspers GJ, Cloos J. PARP inhibition sensitizes childhood high grade glioma, medulloblastoma and ependymoma to radiation. *Oncotarget*. 2011 Dec;2(12):984-996. doi: 10.18632/oncotarget.362. PMID: 22184287; PMCID: PMC3282104.

[0407] Weller M, Stupp R, Reifenberger G, Brandes AA, van den Bent MJ, Wick W, Hegi ME. MGMT promoter methylation in malignant gliomas: ready for personalized medicine? *Nat Rev Neurol*. 2010 Jan;6(1):39-51. doi: 10.1038/nrneurol.2009.197. Epub 2009 Dec 8. PMID: 19997073.

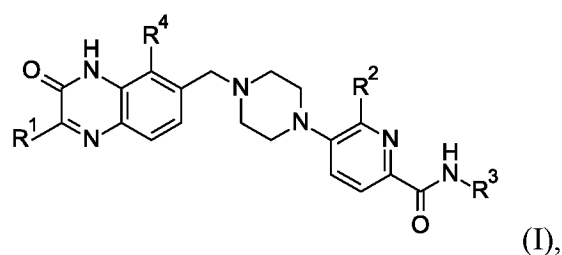
[0408] Стандартные методики молекулярной биологии см. в Sambrook, J., Russel, D.W. *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*. 3 ed. 2001, Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press

Формула изобретения

1. Способ лечения опухоли головного мозга или нейробластомы у нуждающегося в этом пациента, при этом способ включает введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора поли(ADP-рибоза)полимеразы (PARP),

где опухоль головного мозга или нейробластома характеризуются фенотипом, дефектным в отношении синдрома сцепленной с X-хромосомой альфа-талассемии с умственной отсталостью (ATRX),

где ингибитор PARP представляет собой соединение формулы I:



где

R^1 независимо выбран из H, C_{1-4} алкила, C_{3-6} циклоалкила, C_{1-4} фторалкила и C_{1-4} алкилокси;

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;

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

или его фармацевтически приемлемую соль.

2. Способ по п. 1, где опухоль головного мозга или нейробластома дополнительно характеризуются фенотипом, дефектным в отношении изоцитратдегидрогеназы 1 и/или 2 (IDH1 и/или IDH2).

3. Способ по п. 1, где опухоль головного мозга или нейробластома не предусматривают фенотип, дефектный в отношении IDH1.

4. Способ по любому из пп. 1-3, где опухоль головного мозга или нейробластома характеризуются метилированием промотора O^6 -метилгуанин-ДНК-метилтрансферазы (MGMT).

5. Способ по любому из предыдущих пунктов, дополнительно включающий перед введением ингибитора PARP стадию диагностики пациента на предмет наличия опухоли головного мозга или нейробластомы, характеризующихся дефектным в отношении ATRX фенотипом.

6. Способ по п. 5, где стадия диагностики пациента дополнительно включает определение того, характеризуются ли дополнительно опухоль головного мозга или нейробластома фенотипом, дефектным в отношении IDH1 или IDH2, и/или метилированием промотора MGMT.

7. Способ по п. 5 или п. 6, где диагностика пациента включает проведение анализа клеток, полученных из опухоли головного мозга или нейробластомы пациента.

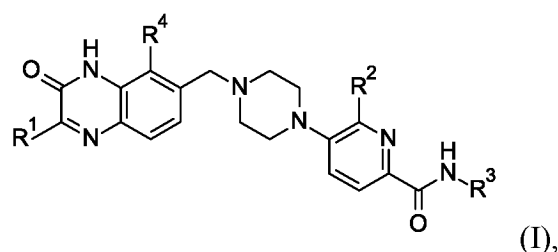
8. Способ по любому из предыдущих пунктов, где ингибитор PARP вводят пациенту в комбинации с

- i) алкилирующим химиотерапевтическим средством и/или
- ii) ионизирующим излучением.

9. Способ лечения опухоли головного мозга или нейробластомы у нуждающегося в этом пациента, при этом способ включает введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора поли(ADP-рибоза)полимеразы (PARP) и

- i) алкилирующего химиотерапевтического средства и/или
- ii) ионизирующего излучения, применяемого в дозе, составляющей 10 Гр или выше,

где ингибитор PARP представляет собой соединение формулы I:



где

R¹ независимо выбран из H, C₁₋₄алкила, C₃₋₆циклоалкила, C₁₋₄фторалкила и C₁₋₄алкилокси;

R² независимо выбран из H, галогена, C₁₋₄алкила и C₁₋₄фторалкила, и

R³ представляет собой H или C₁₋₄алкил;

R⁴ представляет собой галоген или C₁₋₄алкил,

или его фармацевтически приемлемую соль.

10. Способ по п. 9, где опухоль головного мозга или нейробластома характеризуются

(i) фенотипом, дефектным в отношении синдрома сцепленной с X-хромосомой альфа-талассемии с умственной отсталостью (ATR-X);

(ii) фенотипом, дефектным в отношении изоцитратдегидрогеназы 1 или 2 (IDH1 или IDH2), и/или

(iii) метилированием промотора O⁶-метилгуанин-ДНК-метилтрансферазы (MGMT).

11. Способ по любому из пп. 8-10, где алкилирующее химиотерапевтическое средство представляет собой темозоломид (TMZ) или диангидрогалактитол (VAL-083).

12. Способ по п. 11, где TMZ вводят

(i) в дозе, составляющей менее приблизительно 200 мг/м², в дозе, составляющей менее приблизительно 150 мг/м², в дозе, составляющей менее приблизительно 125 мг/м² или менее приблизительно 100 мг/м²;

(ii) в дозе, составляющей от приблизительно 50 до 150 мг/м², в дозе, составляющей от приблизительно 75 до 150 мг/м², или в дозе, составляющей от приблизительно 50 мг/м² до 125 мг/м².

13. Способ по п. 11, где VAL-083 вводят

(i) в дозе, составляющей менее приблизительно 50 мг/м², в дозе, составляющей менее приблизительно 40 мг/м², в дозе, составляющей менее приблизительно 30 мг/м² или менее приблизительно 20 мг/м²;

(ii) в дозе, составляющей от приблизительно 10 до 50 мг/м², в дозе, составляющей от приблизительно 10 до 40 мг/м², или в дозе, составляющей от приблизительно 10 мг/м² до 30 мг/м².

14. Способ по любому из пп. 8-13, где ионизирующее излучение применяют

(i) в дозе, составляющей менее приблизительно 60 Гр, менее приблизительно 55 Гр, менее приблизительно 50 Гр, менее приблизительно 45 Гр или менее приблизительно 40 Гр, или

(ii) в дозе, составляющей от приблизительно 20 Гр до приблизительно 60 Гр, от приблизительно 20 Гр до приблизительно 55 Гр, от приблизительно 20 Гр до приблизительно 50 Гр, от приблизительно 20 Гр до приблизительно 45 Гр или от приблизительно 20 Гр до приблизительно 40 Гр, от приблизительно 30 Гр до приблизительно 60 Гр, от приблизительно 30 Гр до приблизительно 55 Гр, от приблизительно 30 Гр до приблизительно 50 Гр, от приблизительно 30 Гр до приблизительно 45 Гр, от приблизительно 30 Гр до приблизительно 40 Гр,

где необязательно дозу ионизирующего излучения применяют в виде фракционной лучевой терапии.

15. Способ по любому из пп. 8-14, где ингибитор PARP синергетически потенцирует активность алкилирующего химиотерапевтического средства и/или радиотерапевтического средства.

16. Способ по любому из пп. 8-15, где ингибитор PARP обеспечивает лечение опухоли головного мозга или нейроblastомы независимо от какого-либо эффекта в отношении глиомы, вызванного введением химиотерапевтических или радиотерапевтических средств.

17. Способ по любому из пп. 1-16, где R¹ выбран из любого из метила, этила, изопропила, циклопропила, 1,1-дифторэтила, 1-фторэтила, трифторметила, дифторметила и метокси.

18. Способ по п. 17, где R^1 представляет собой метил или этил.
19. Способ по любому из пп. 1-18, где R^2 выбран из любого из H, хлора, фтора, метила и дифторметила.
20. Способ по п. 19, где R^2 представляет собой фтор или метил.
21. Соединение способ по любому из пп. 1-20, где R^3 представляет собой метил или этил.
22. Способ по любому из пп. 1-21, где R^4 выбран из любого из хлора, фтора и метила.
23. Способ по п. 22, где R^4 представляет собой фтор.
24. Способ по любому из пп. 1-16, где R^1 представляет собой C_{1-4} алкил, R^2 представляет собой галоген, R^3 представляет собой C_{1-4} алкил, R^4 представляет собой галоген или C_{1-4} алкил или его фармацевтически приемлемую соль.
25. Способ по любому из пп. 1-16, где ингибитор PARP выбран из
- 5-[4-[(2,5-диметил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-фтор-N-метилпиридин-2-карбоксамида,
- 5-[4-[(2,5-диметил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида,
- 6-хлор-5-[4-[(2,5-диметил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида,
- 5-[4-[(2,5-диметил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамида,
- 5-[4-[(2,5-диметил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-фторпиридин-2-карбоксамида,
- 5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-метилпиридин-2-карбоксамида,
- 5-[4-[(2,5-диметил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-метилпиридин-2-карбоксамида,
- 6-хлор-5-[4-[(5-хлор-2-этил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида,
- 5-[4-[(5-хлор-2-этил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-фтор-N-метилпиридин-2-карбоксамида,
- 5-[4-[(5-хлор-2-этил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида,
- 5-[4-[(5-хлор-2-этил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамида,

6-фтор-5-[4-[[5-фтор-2-[(1S и 1R)-1-фторэтил]-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида,
5-[4-[[5-фтор-2-[(1S и 1R)-1-фторэтил]-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамида,
5-[4-[(5-хлор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида,
5-[4-[(5-хлор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-фтор-N-метилпиридин-2-карбоксамида,
5-[4-[(5-хлор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамида,
5-[4-[[2-(1,1-дифторэтил)-5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамида,
6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида,
6-(дифторметил)-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида,
6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]пиридин-2-карбоксамида,
5-[4-[(2-этил-5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамида,
6-(дифторметил)-5-[4-[(2-этил-5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида,
5-[4-[(2-этил-5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]пиридин-2-карбоксамида,
5-[4-[(2-этил-5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-метилпиридин-2-карбоксамида,
5-[4-[(2-этил-5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-фтор-N-метилпиридин-2-карбоксамида,
6-хлор-5-[4-[(2-этил-5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида,
5-[4-[(2-этил-5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида,
6-хлор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида,

5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамида,

5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида,

5-[4-[(5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида,

6-хлор-5-[4-[(5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида,

5-[4-[(5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамида,

6-фтор-5-[4-[(5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида,

5-[4-[[2-(дифторметил)-5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамида,

5-[4-[(5-фтор-2-метокси-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида,

6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метокси-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида,

5-[4-[(5-фтор-2-метокси-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамида,

6-хлор-5-[4-[(5-фтор-2-метокси-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида,

5-[4-[(2-этил-5-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамида,

5-[4-[(2-этил-5-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-фтор-N-метилпиридин-2-карбоксамида,

5-[4-[(2-этил-5-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида,

N-этил-6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]пиридин-2-карбоксамида,

N-этил-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-метилпиридин-2-карбоксамида,

5-[4-[[5-фтор-3-оксо-2-(трифторметил)-4Н-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамида,

6-фтор-5-[4-[[5-фтор-3-оксо-2-(трифторметил)-4Н-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида,
 6-хлор-5-[4-[[5-фтор-3-оксо-2-(трифторметил)-4Н-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида,
 5-[4-[[5-фтор-3-оксо-2-(трифторметил)-4Н-хиноксалин-6-ил]метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида,
 6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-изопропил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида,
 5-[4-[(5-фтор-2-изопропил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамида,
 5-[4-[(5-фтор-2-изопропил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида,
 5-[4-[(2-циклопропил-5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-6-фтор-N-метилпиридин-2-карбоксамида,
 5-[4-[(2-циклопропил-5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамида,
 5-[4-[(2-циклопропил-5-фтор-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида,
 5-[4-[(2-метокси-5-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N,6-диметилпиридин-2-карбоксамида,
 6-фтор-5-[4-[(2-метокси-5-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида,
 6-(дифторметил)-5-[4-[(2-метокси-5-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида и
 6-(дифторметил)-5-[4-[(2,5-диметил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида,
 или их фармацевтически приемлемой соли.

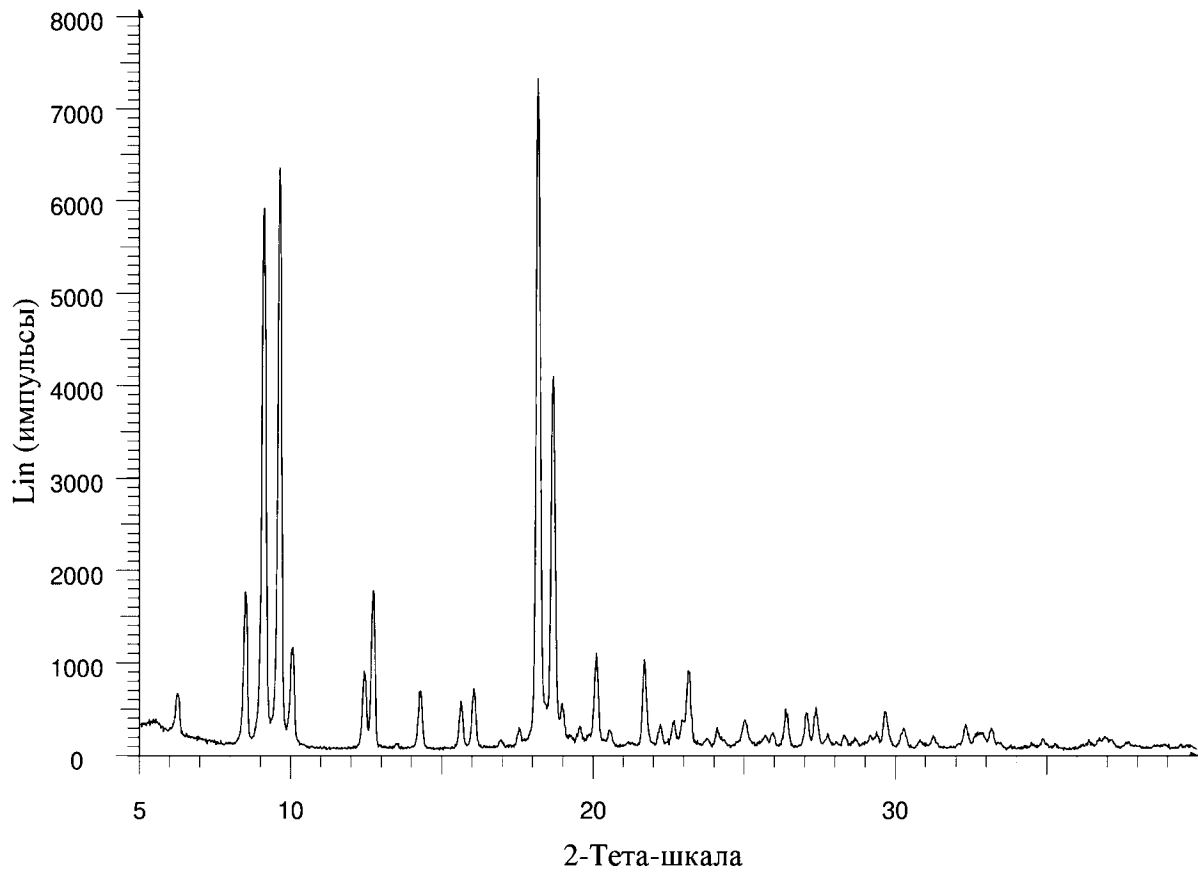
26. Способ по любому из пп. 1-16, где ингибитор PARP представляет собой 6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид или его фармацевтически приемлемую соль.

27. Способ по любому из пп. 1-16, где ингибитор PARP представляет собой 6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид.

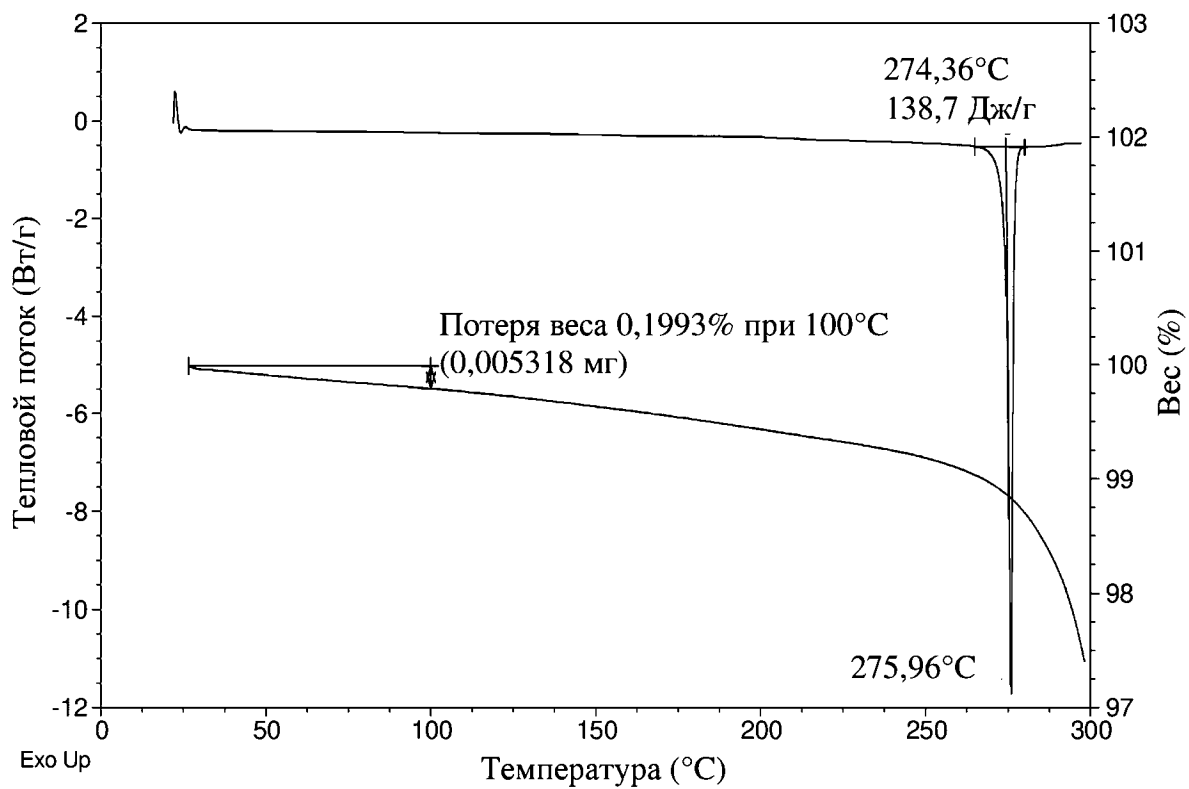
28. Способ по любому из пп. 1-27, где опухоль головного мозга представляет собой глиому или эпендимому.

29. Способ по п. 28, где опухоль головного мозга представляет собой глиому.
30. Способ по п. 29, где глиома представляет собой глиому у детей.
31. Способ по п. 29 или п. 30, где глиома представляет собой глиому высокой степени злокачественности, необязательно выбранную из перечня, состоящего из олигодендроглиомы, анапластической астроцитомы, глиобластомы и диффузной срединной глиомы.
32. Способ по любому из пп. 29-31, где глиома представляет собой НЗК27М-мутантную глиому.
33. Способ по любому из пп. 1-27, где опухоль головного мозга или нейробластома характеризуются высоким уровнем нестабильности генома.

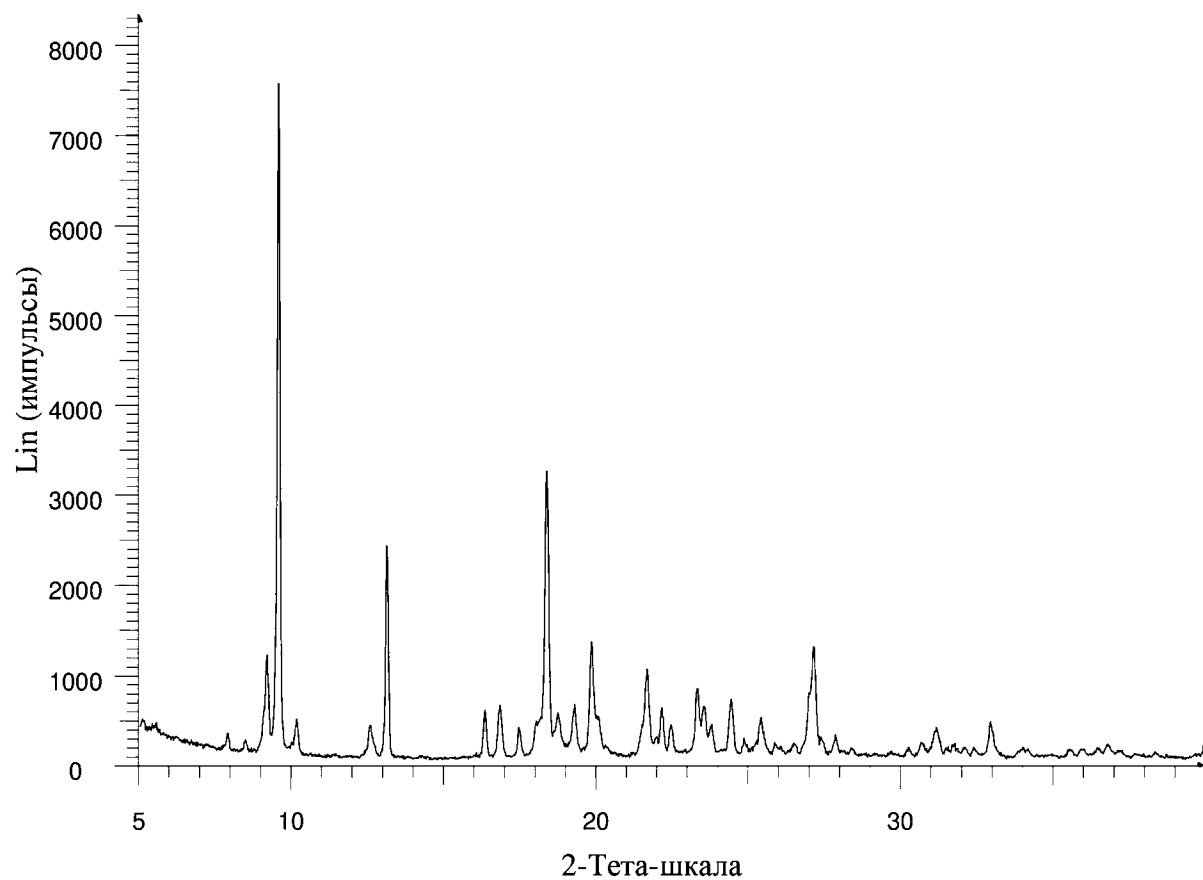
Фиг. 1. XRPD-дифрактограмма формы В 6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида



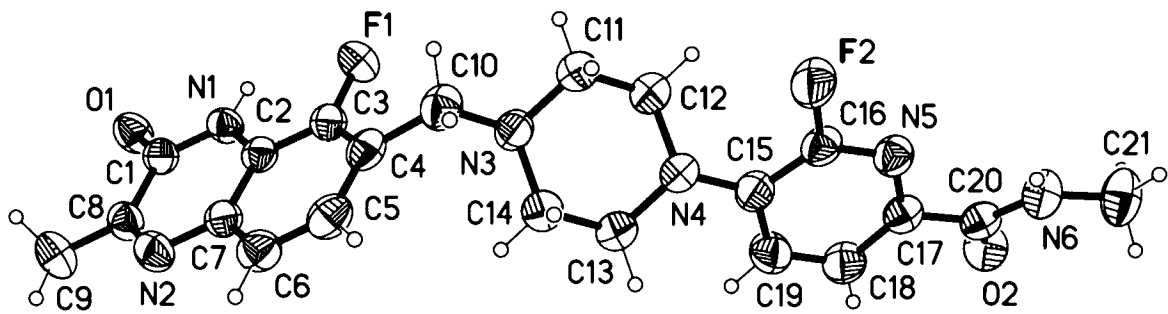
Фиг. 2. Кривая DSC для формы В 6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксиамида



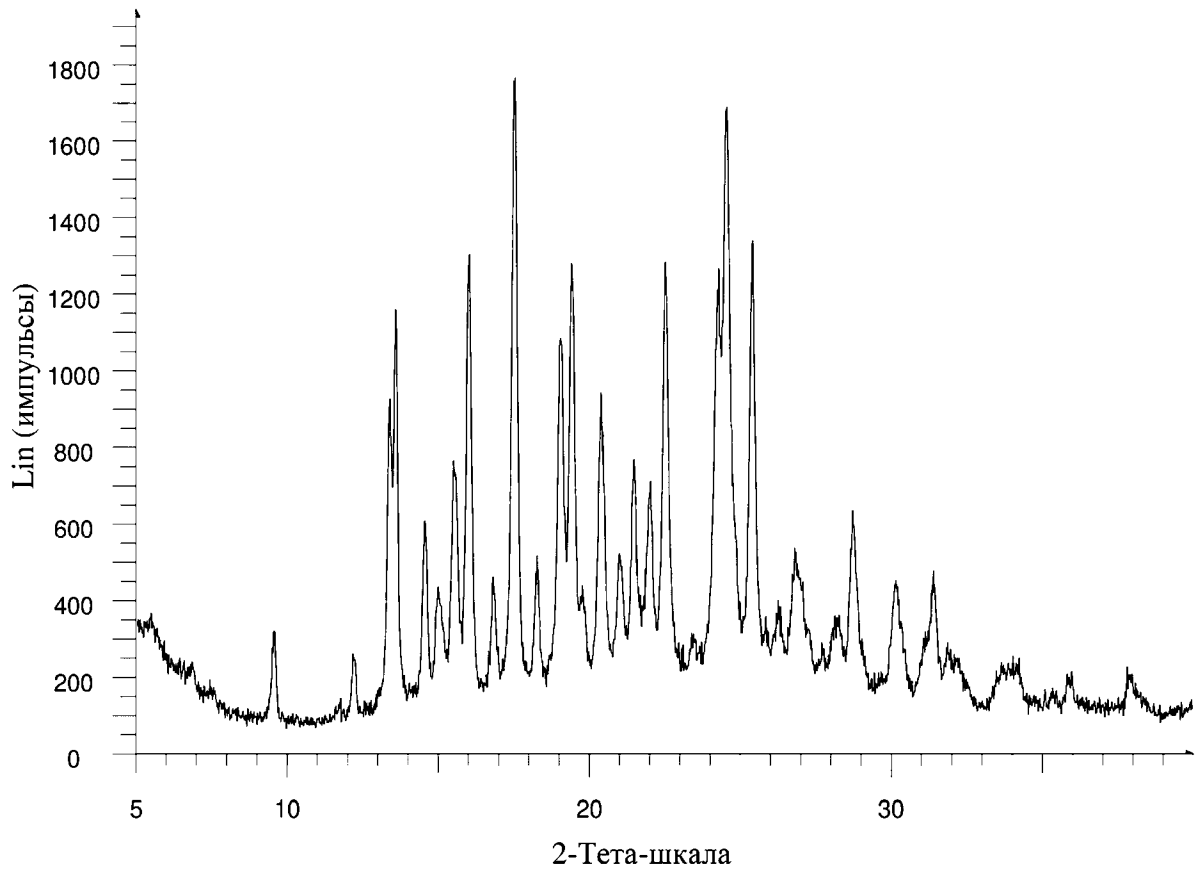
Фиг. 3. XRPD-дифрактограмма формы D 6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида



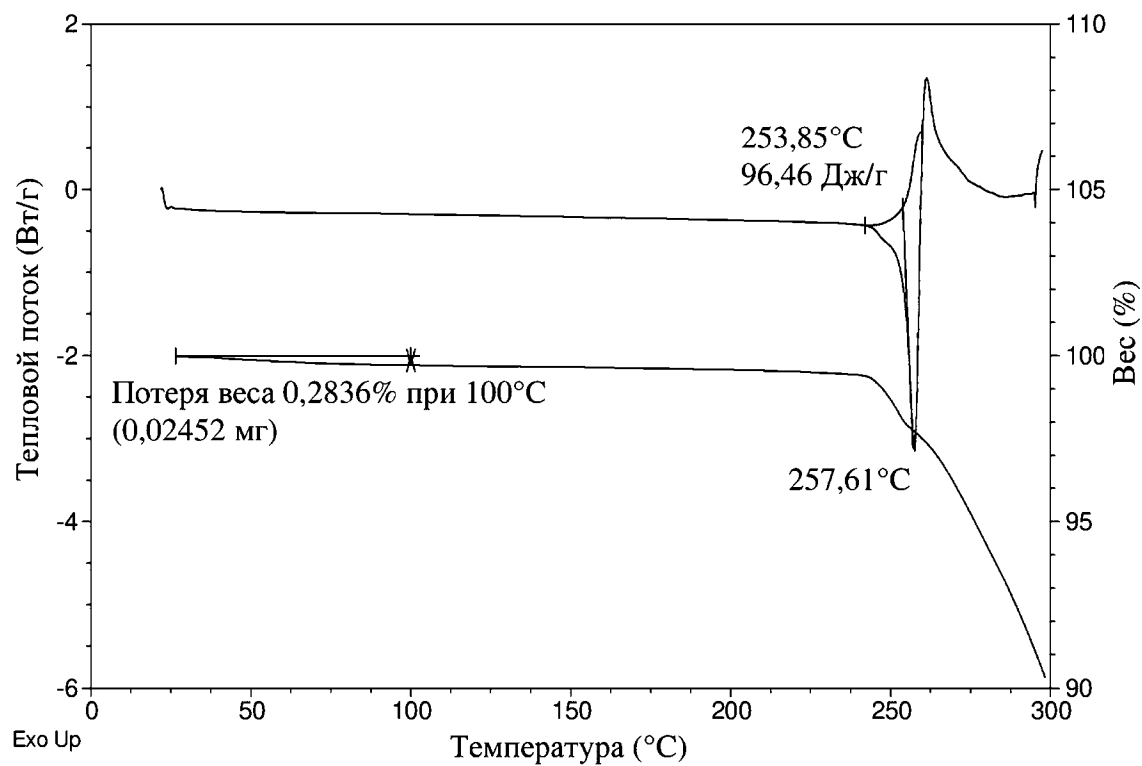
Фиг. 4. Структура монокристалла формы D **6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксиамида** (ORTEP50)



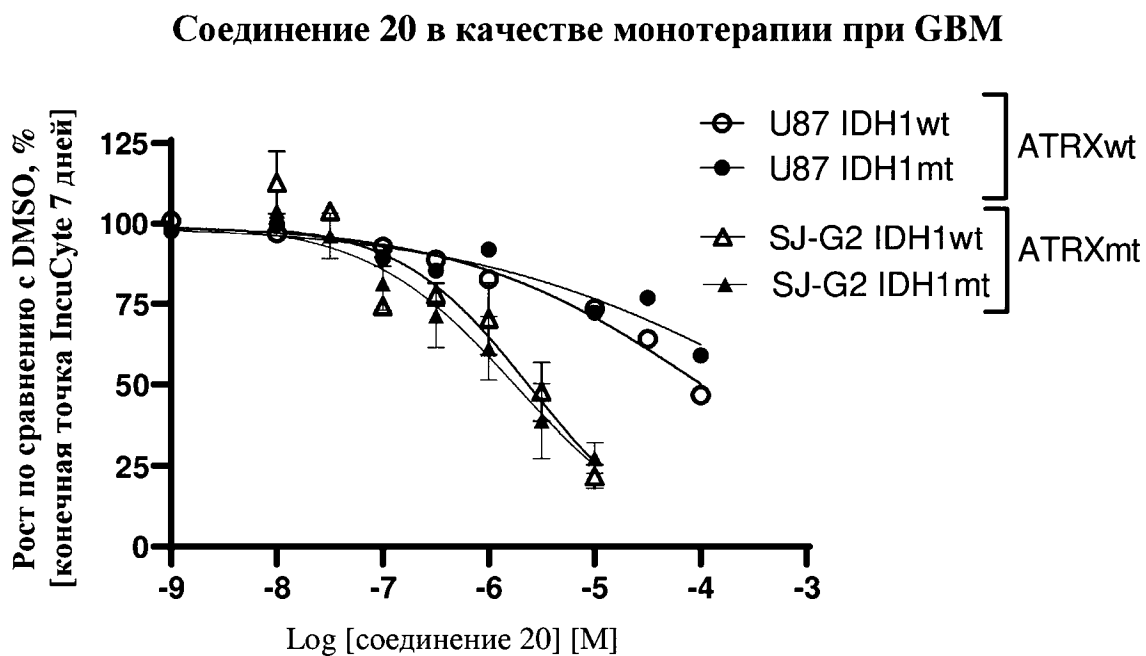
Фиг. 5. XRPD-дифрактограмма соли MSA формы С 6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4H-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамид



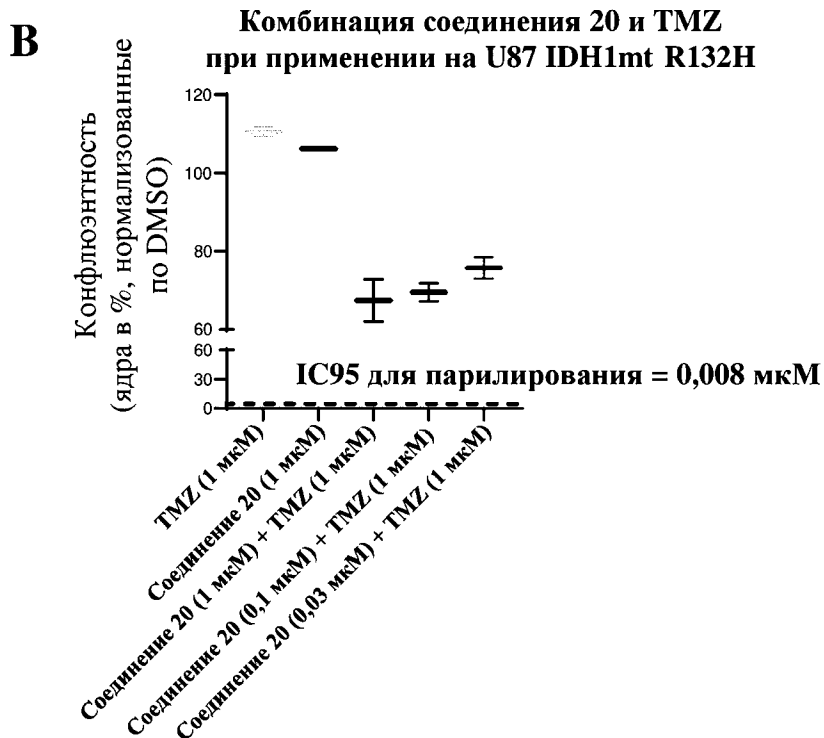
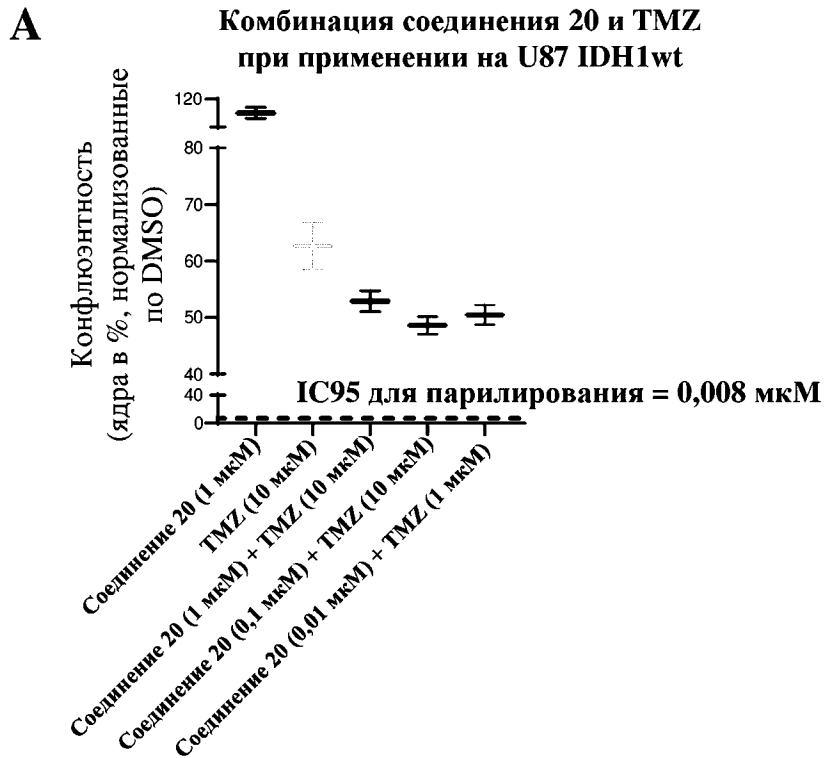
Фиг. 6. Кривая DSC для соли MSA формы С 6-фтор-5-[4-[(5-фтор-2-метил-3-оксо-4Н-хиноксалин-6-ил)метил]пиперазин-1-ил]-N-метилпиридин-2-карбоксамида



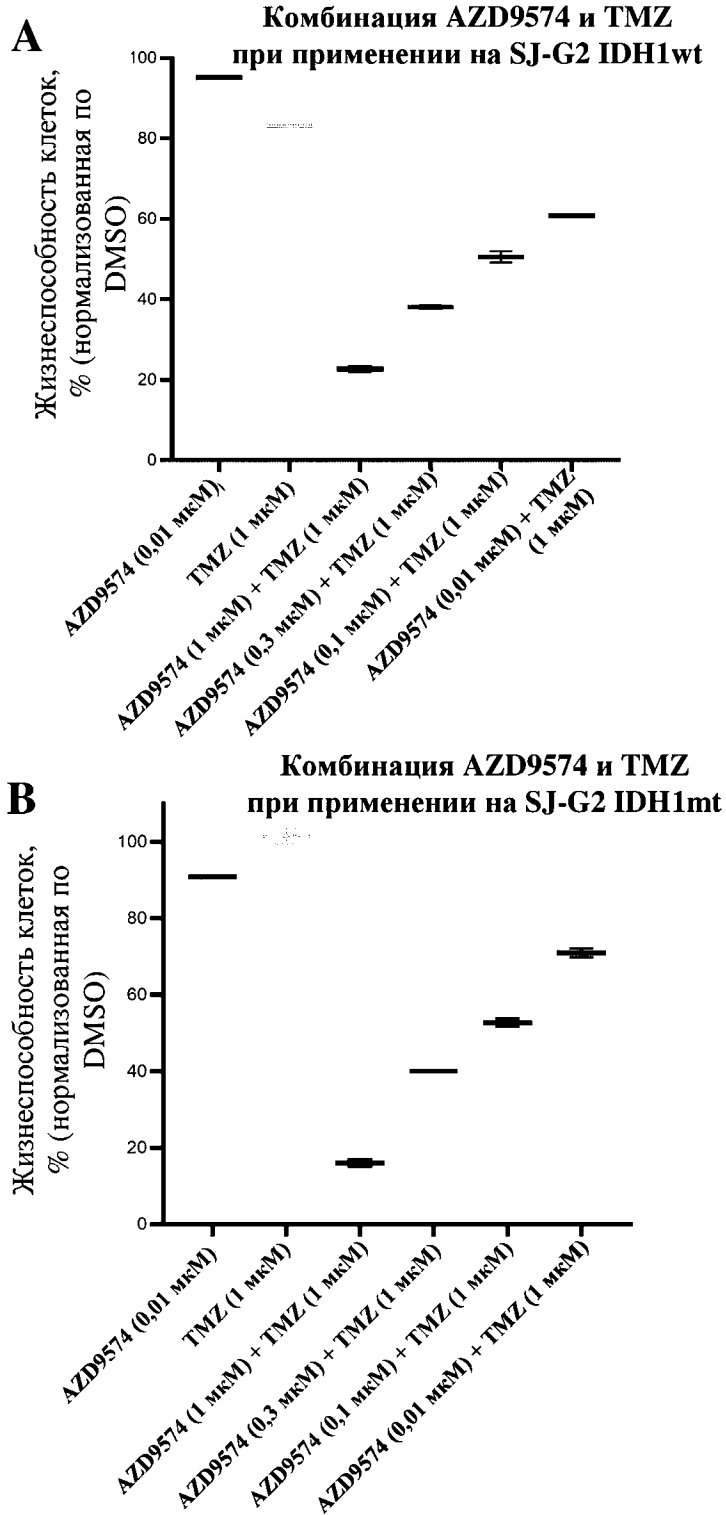
Фиг. 7. Графики на основе данных о конфлюэнтности клеток, свидетельствующие о сильной активности ингибитора PARP при использовании в качестве монотерапии в отношении клеток глиомы с мутацией ATRX (SJG2IDH1wt и SJG2IDH1mt), но не в отношении таковых с ATRX дикого типа (U87 IDH1wt и U87 IDH1mt)



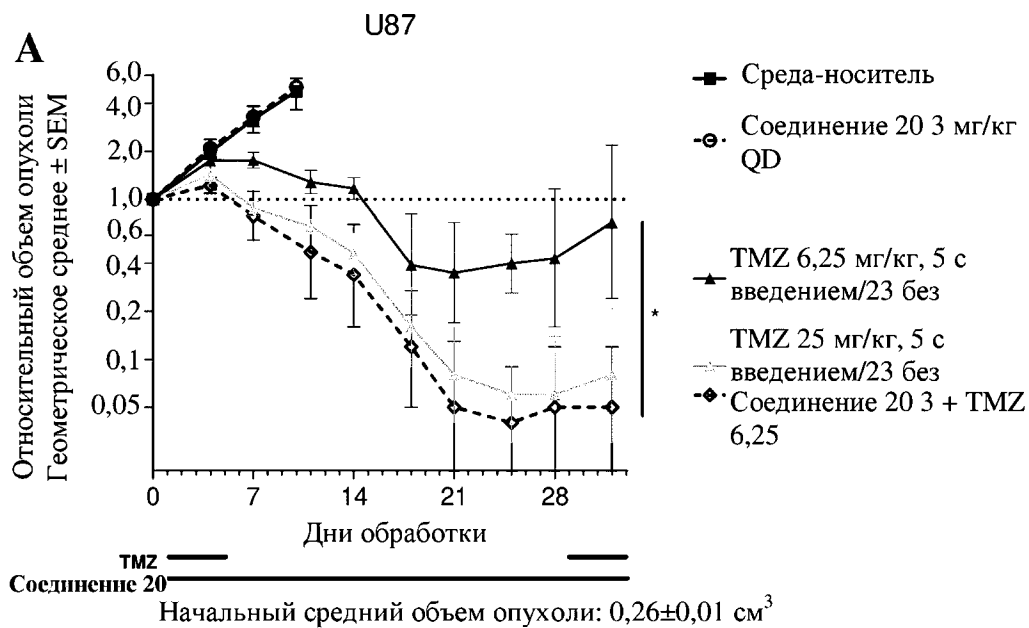
Фиг. 8. Графики на основе данных о конфлюэнтности клеток, свидетельствующие о потенциации ингибитором PARP эффективности TMZ при применении на изогенных парах U87 IDH1wt (A) и U87 IDH1mt R132H (B). Иллюстративные графики показаны в 3 биологических повторностях



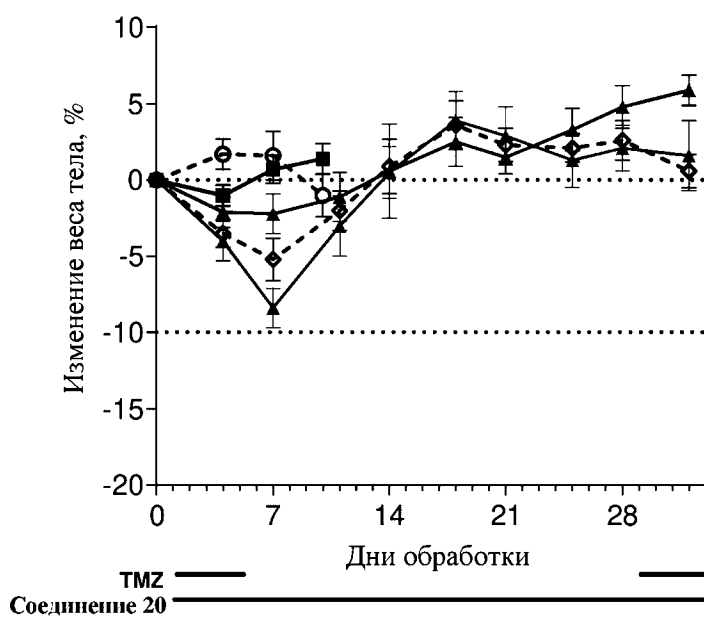
Фиг. 9. Графики на основе данных о жизнеспособности клеток, свидетельствующие о потенциации ингибитором PARP эффективности TMZ при применении на изогенных парах SJ-G2 IDH1wt (A) и SJ-G2 IDH1mt R132H (B). Показаны иллюстративные графики, планки погрешностей представляют +/- SD



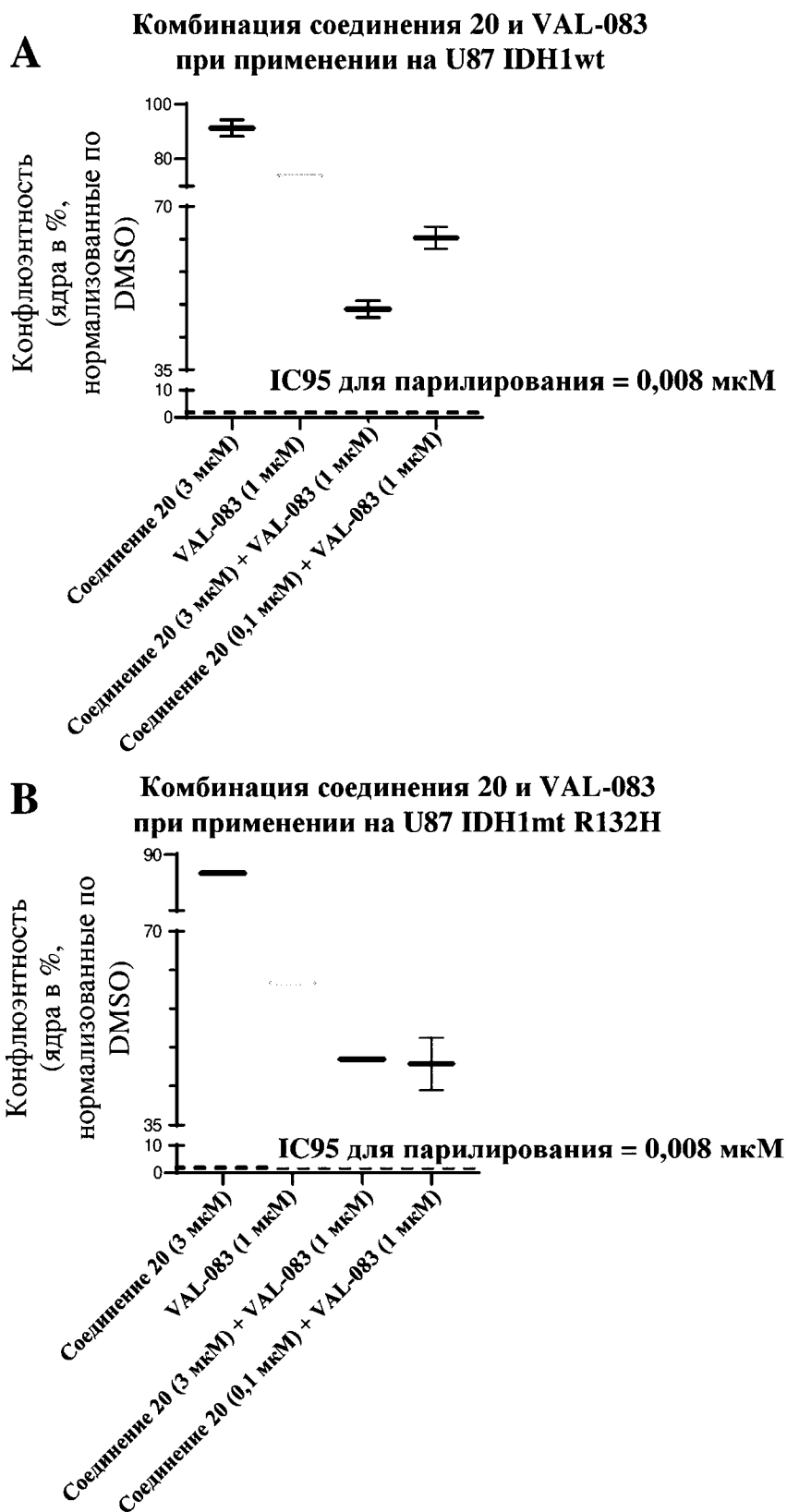
Фиг. 10. Противоопухолевая эффективность (А) и изменение веса тела (В) модели ксенотранспланта U87MG, которой вводили i) среду-носитель; ii) только соединение 20 (3 мг/кг QD); iii) TMZ в более низкой дозе (6,25 мг/кг QD в дни 1-5 и 29-33); iv) TMZ в более высокой дозе (25 мг/кг QD в дни 1-5 и 29-33) и v) комбинацию соединения 20 и TMZ в более низкой дозе

**В**

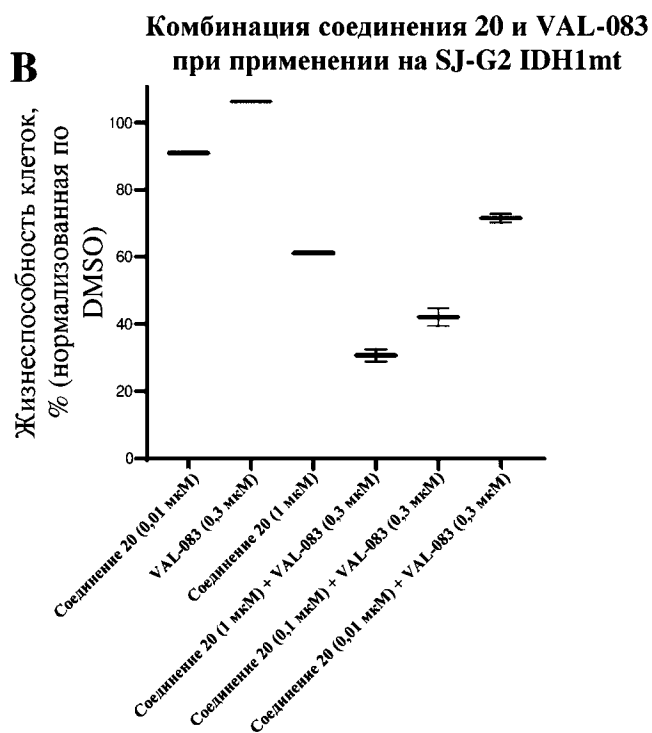
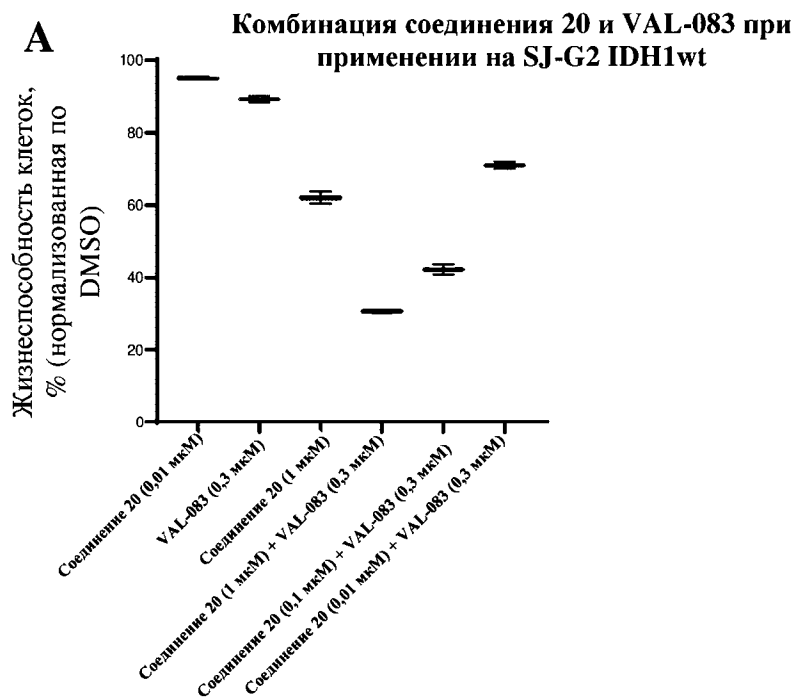
Изменение веса тела



Фиг. 11. Графики на основе данных о конфлюэнтности клеток, свидетельствующие о потенциации ингибитором PARP эффективности VAL-083 при применении на изогенных парах U87 IDH1wt (A) и U87 IDH1mt R132H (B). Показаны иллюстративные графики, планки погрешностей представляют +/- SD



Фиг. 12. Графики на основе данных о конфлюэнтности клеток, свидетельствующие о потенциации ингибитором PARP эффективности VAL-083 при применении на изогенных парах SJ-G2 IDH1wt (А) и SJ-G2 IDH1mt R132H (В). Показаны иллюстративные графики, планки погрешностей представляют +/- SD



Фиг. 13. График на основе данных о конфлюэнтности клеток, свидетельствующий о потенциации ингибитором PARP эффективности ИР при применении на глиомах BT245 H3K27M у детей

