

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202491879 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2024.10.15

(22) Дата подачи заявки
2023.01.18

(51) Int. Cl. C07D 519/00 (2006.01)
C07D 403/14 (2006.01)
C07D 403/04 (2006.01)
C07D 491/052 (2006.01)
A61K 31/517 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01)

(54) ЗАМЕЩЕННОЕ ПО МОСТИКОВОМУ ЦИКЛУ ГЕТЕРОАРИЛ-ПИРАНОВОЕ ПРОИЗВОДНОЕ И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ

(31) 202210074707.1; 202210082274.4;
202210254285.6; 202210346571.5;
202210642158.3; 202210813772.1;
202210964127.X; 202310029317.7

(32) 2022.01.21; 2022.01.24; 2022.03.15;
2022.03.31; 2022.06.07; 2022.07.11;
2022.08.11; 2023.01.09

(33) CN

(86) PCT/CN2023/072798

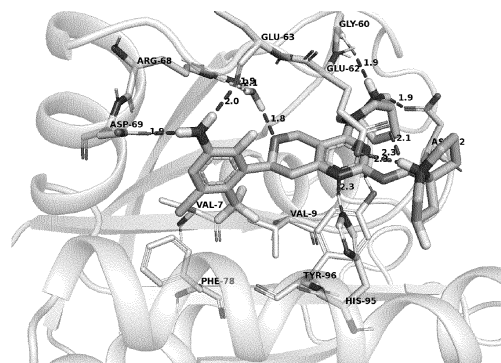
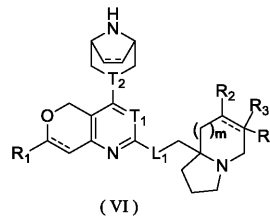
(87) WO 2023/138601 2023.07.27

(71) Заявитель:
ДЗ БАЙО (УСИ) КО., ЛТД. (CN)

(72) Изобретатель:
Чжан Ян, У Вэньтао, Ли Чжисян, Чжу
Вэньюань, Ян Пин, Ли Цю, Ли Цзянь,
Чэнь Шухуэй (CN)

(74) Представитель:
Фелицына С.Б. (RU)

(57) В настоящем изобретении описано замещенное по мостиковому циклу гетероарил-пирановое производное и его применение, и, в частности, соединение формулы (VI) или его фармацевтически приемлемая соль.



A1

202491879

202491879

A1

ЗАМЕЩЕННОЕ ПО МОСТИКОВОМУ ЦИКЛУ ГЕТЕРОАРИЛ-ПИРАНОВОЕ ПРОИЗВОДНОЕ И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ

[0001] В настоящей заявке истребуется приоритет, заявленный в заявках:

CN202210074707.1, поданной 21 января 2022;

CN202210082274.4, поданной 24 января 2022;

CN202210254285.6, поданной 15 марта 2022;

CN202210346571.5, поданной 31 марта 2022;

CN202210642158.3, поданной 7 июня 2022;

CN202210813772.1, поданной 11 июля 2022;

CN202210964127.X, поданной 11 августа 2022;

CN 202310029317.7, поданной 9 января 2023.

Область техники, к которой относится изобретение

[0002] Настоящее изобретение касается класса замещенных по мостиковому циклу конденсированных гетероарил-пирановых производных и их применения, в частности соединений формулы (VI) и их фармацевтически приемлемых солей.

Предшествующий уровень техники

[0003] Онкогенные мутации RAS являются наиболее распространенными активирующими мутациями при раковых заболеваниях человека, встречаясь в 30% всех опухолей человека. Семейство генов RAS включает три подтипа (KRAS, HRAS и NRAS), и 85% раковых заболеваний, связанных с RAS, вызваны мутациями в подтипах KRAS. KRAS мутации широко встречаются в солидных опухолях, таких как аденокарцинома легких, карцинома эпителия протоков поджелудочной железы и колоректальный рак, и т.д. В опухолях с мутацией KRAS, 80% онкогенных мутаций происходит по кодону 12, и наиболее распространенные мутации включают: p.G12D (41%), p.G12V (28%) и p.G12C (14%).

[0004] KRAS представляет собой вирусный онкоген саркомы крыс Кирстен и является важным представителем RAS белков. KRAS играет роль молекулярного переключателя, который может управлять и контролировать рост клеток, когда находится в нормальном состоянии. После мутации ген KRAS может независимо передавать сигналы к

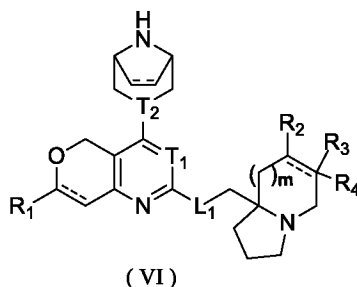
росту и пролиферации далее по сигнальному пути, независимо от сигналов рецептора фактора роста, что вызывает неконтролируемый рост клеток и развитие опухоли. Поэтому наличие или отсутствие мутаций гена KRAS является также важным индикатором прогноза развития опухоли.

[0005] В настоящее время низкомолекулярные соединения, мишенью которых напрямую являются мутации KRAS, сконцентрированы главным образом в области KRAS^{G12C}, где AMG510 от Amgen и MRTX849 от Mirati Therapeutics показали хорошее терапевтическое действие в клинических исследованиях у раковых пациентов с мутацией KRAS^{G12C}. Но до настоящего времени до стадии клинических испытаний не доходили низкомолекулярные соединения, таргетирующие KRAS^{G12D}, и прецизионная медицина пока не может помочь раковым пациентам с мутацией KRAS^{G12D}.

[0006] В настоящем изобретении описана серия низкомолекулярных ингибиторов, нацеленных на KRAS^{G12D}, и способ их получения.

Краткое описание изобретения

[0007] В настоящем изобретении описано соединение формулы (VI) или его фармацевтически приемлемая соль



[0008] где

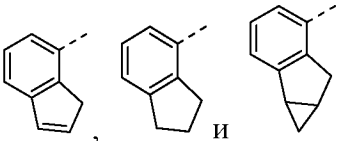
[0009] выбран из простой связи и двойной связи;

[0010] T₁ выбран из CR_a и N;

[0011] T₂ выбран из CH и N;

[0012] L₁ выбран из O и S;

[0013] R₁ выбран из фенила, нафтила, , и , где фенил,



нафтил, , каждый независимо необязательно замещены 1, 2, 3, 4 или 5 заместителями R_b;

[0014] R₂ представляет собой H;

[0015] R₃ выбран из H, F, CN, CH₃ и OCH₃, где CH₃ и OCH₃ необязательно замещены 1, 2 или 3 галогенами;

[0016] альтернативно, R₂ и R₃ вместе с атомами, к которым они присоединены, формируют фенильную группу или 5-6 членную гетероарильную группу, где фенильная группа или 5-6 членная гетероарильная группа необязательно замещена 1, 2 или 3 галогенами;

[0017] R₄ отсутствует или выбран из H, CH₃ и -CH=CH₂, где CH₃ и -CH=CH₂ необязательно замещены 1, 2 или 3 галогенами;

[0018] альтернативно, R₃ и R₄ вместе с атомом, к которому они присоединены, формируют , где  необязательно замещен 1 или 2 заместителями R_c;

[0019] альтернативно, R₃ и R₄ вместе с атомом, к которому они присоединены, формируют циклопропильную группу, которая необязательно замещена 1, 2 или 3 галогенами;

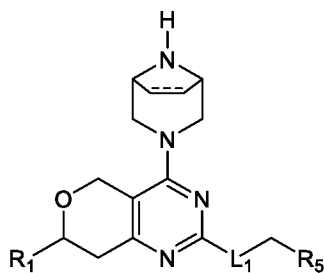
[0020] R_a выбран из H и CN;

[0021] каждый R_b независимо выбран из H, F, Cl, Br, I, OH, NH₂, CN, C₁₋₃ алкила, C₁₋₃ алкокси, C₂₋₄ алкинила, C₂₋₄ алкинил-циклопропила, C₂₋₃ алкениал, -C(=O)C₁₋₃ алкила и C₃₋₅ циклоалкила, где C₁₋₃ алкил, C₁₋₃ алкокси, C₂₋₄ алкинил, C₂₋₄ алкинил-циклопропил, C₂₋₃ алкенил, -C(=O)C₁₋₃ алкил и C₃₋₅ циклоалкил необязательно замещены 1, 2, 3, 4 или 5 галогенами;

[0022] каждый R_c независимо выбран из F, Cl, Br, I, CN, CH₃ и OCH₃;

[0023] m выбран из 0 и 1.

[0024] В настоящем изобретении также описано соединение формулы (P-1) или его фармацевтически приемлемая соль,



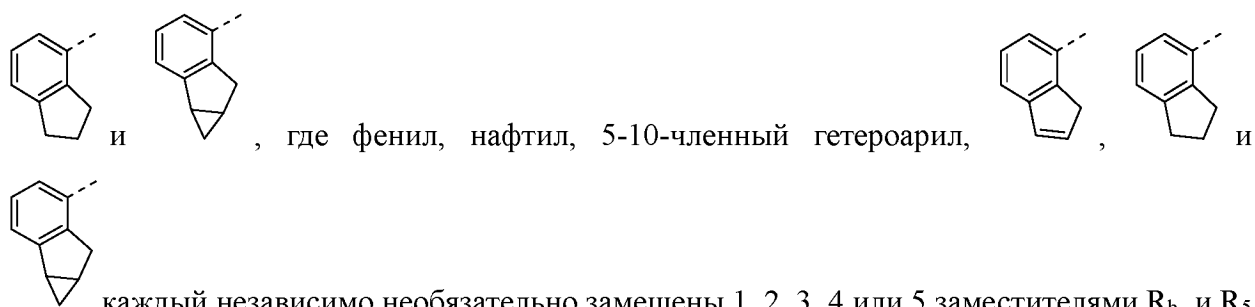
(P-1)

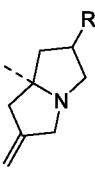
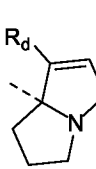
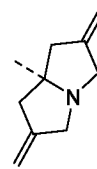
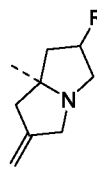
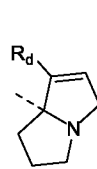
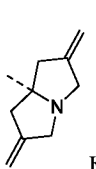
[0025] где

[0026]  выбран из простой связи и двойной связи;

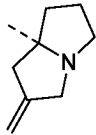
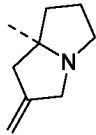
[0027] L_1 выбран из O и S;

[0028] R_1 выбран из фенила, нафтила, 5-10 членного гетероарила,



выбран из ,  и , где ,  и  каждый независимо необязательно замещены 1, 2, 3, 4 или 5 заместителями R_d ;

[0029] альтернативно, R_1 представляет собой 5-10-членный гетероарил, где 5-10-членный гетероарил необязательно замещен 1, 2, 3, 4 или 5 заместителями R_b , и R_5

представляет собой , где  необязательно замещен 1, 2, 3, 4 или 5 заместителями R_d ;

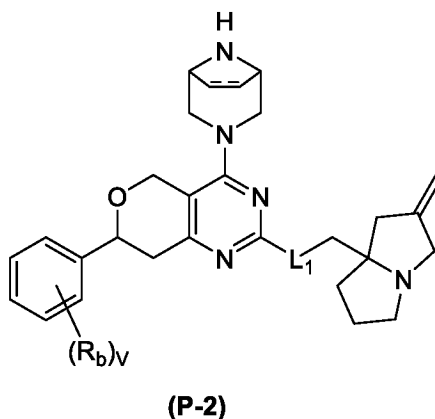
[0030] каждый R_b независимо выбран из H, F, Cl, Br, I, OH, NH₂, CN, C₁₋₃ алкила, C₁₋₃ алкокси, C₂₋₄ алкинила, C₂₋₄ алкинил-циклопропила, C₂₋₃ алкенила, -C(=O)C₁₋₃ алкила и C₃₋₅ циклоалкила, где C₁₋₃ алкил, C₁₋₃ алкокси, C₂₋₄ алкинил, C₂₋₄ алкинил-циклопропил, C₂₋₃ алкенил, -C(=O)C₁₋₃ алкил и C₃₋₅ циклоалкил необязательно замещены 1, 2, 3, 4 или 5

заместителями R;

[0031] каждый R_d независимо выбран из F, Cl, Br, I, CN, CH₃ и OCH₃;

[0032] каждый R независимо выбран из галогена и D.

[0033] В настоящем изобретении также описано соединение формулы (P-2) или его фармацевтически приемлемая соль



[0034] где

[0035] L_1 выбран из простой связи и двойной связи;

[0036] L₁ выбран из O и S;

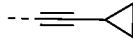
[0037] каждый R_b независимо выбран из F, Cl, Br, I, OH, NH₂, CN, C₁₋₃ алкила, C₁₋₃ алкокси, C₂₋₄ алкинила, C₂₋₄ алкинил-циклопропила, C₂₋₃ алкенила, -C(=O)C₁₋₃ алкила и C₃₋₅ циклоалкила, где C₁₋₃ алкил, C₁₋₃ алкокси, C₂₋₄ алкинил, C₂₋₄ алкинил-циклопропил, C₂₋₃ алкенил, -C(=O)C₁₋₃ алкил и C₃₋₅ циклоалкил необязательно замещены 1, 2, 3, 4 или 5 заместителями R;

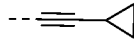
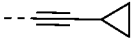
[0038] каждый R независимо выбран из галогена и D;

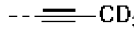
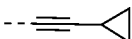
[0039] v выбран из 1, 2, 3, 4 и 5;

[0040] при условии, что по меньшей мере один R_b замещен 1, 2, 3, 4 или 5 заместителями D.

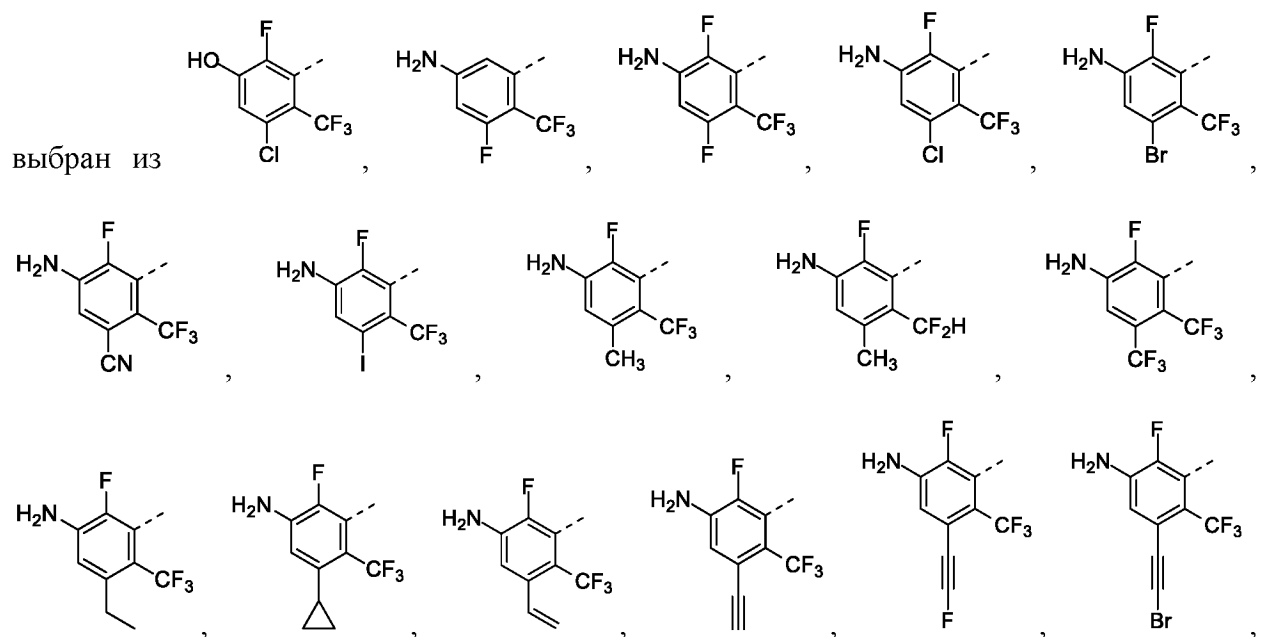
[0041] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, каждый R_b независимо выбран из H, F, Cl, Br, I, OH, NH₂, CN, CH₃, CH₂CH₃, OCH₃, OCH₂CH₃, -CH=CH₂, -C≡CH, -C≡CCH₃, -C≡CCH₂CH₃, $\text{---}\equiv\triangle$ и циклопропила, где CH₃, CH₂CH₃, OCH₃, OCH₂CH₃, -CH=CH₂, -C≡CH, -C≡CCH₃, -C≡CCH₂CH₃, $\text{---}\equiv\triangle$ и циклопропил необязательно замещены 1, 2, 3, 4 или 5 галогенами, и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

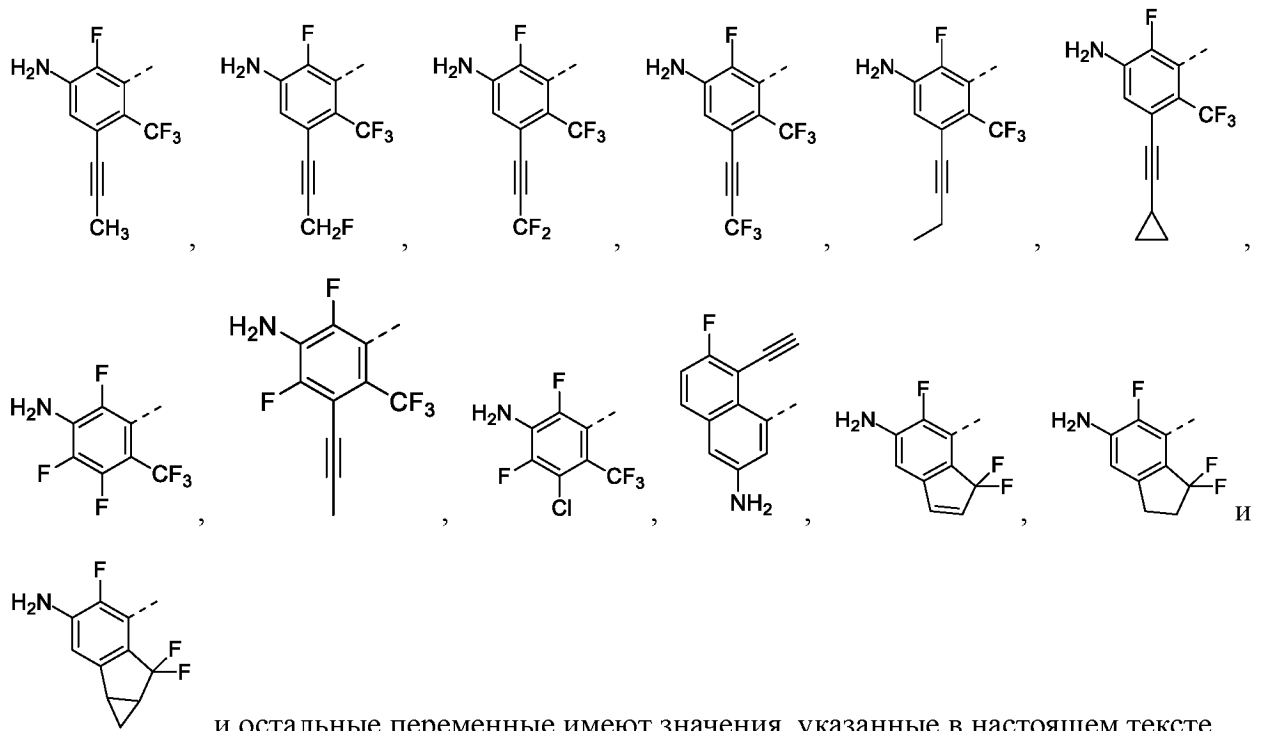
[0042] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, каждый R_b независимо выбран из H, F, Cl, Br, I, OH, NH₂, CN, CH₃, CH₂F, CF₂H, CF₃, CH₂CH₃, CF₂CF₃, -CH=CH₂, -C≡CH, -C≡CF, -C≡CBr, -C≡CCH₃, -C≡CCF₃, -C≡CCH₂CF₃, , и циклопропила, и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

[0043] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, каждый R_b независимо выбран из H, F, Cl, Br, I, OH, NH₂, CN, CH₃, CH₂CH₃, OCH₃, OCH₂CH₃, -CH=CH₂, -C≡CH, -C≡CCH₃, -C≡CCH₂CH₃,  и циклопропила, где CH₃, CH₂CH₃, OCH₃, OCH₂CH₃, -CH=CH₂, -C≡CH, -C≡CCH₃, -C≡CCH₂CH₃,  и циклопропил необязательно замещены 1, 2, 3, 4 или 5 заместителями R, и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

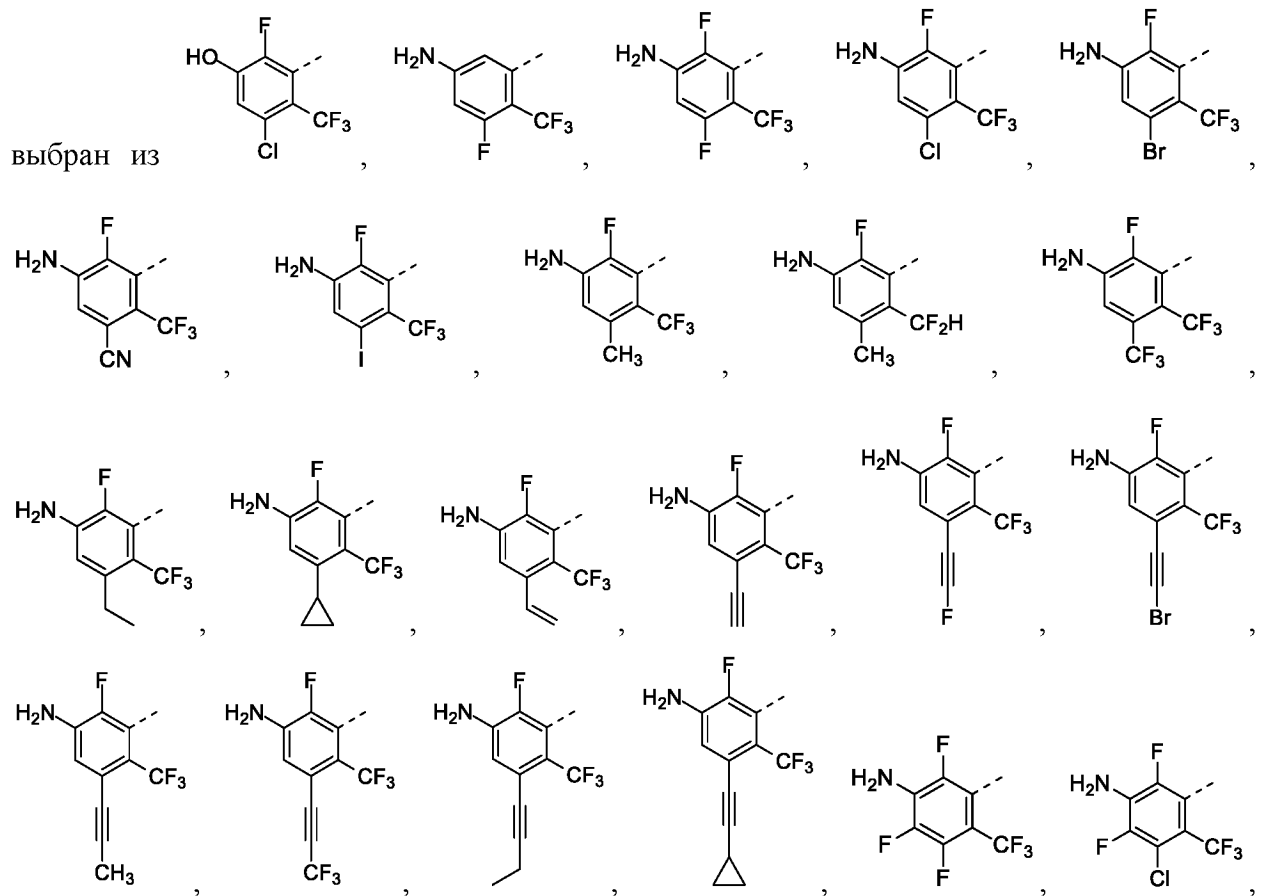
[0044] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, каждый R_b независимо выбран из H, F, Cl, Br, I, OH, NH₂, CN, CH₃, CD₃, CH₂F, CF₂H, CF₃, CH₂CH₃, CF₂CF₃, -CH=CH₂, -C≡CH, -C≡CF, -C≡CBr, -C≡CCH₃, -C≡CCH₂CH₃, , -C≡CCF₃, -C≡CCH₂CH₃,  и циклопропила, и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

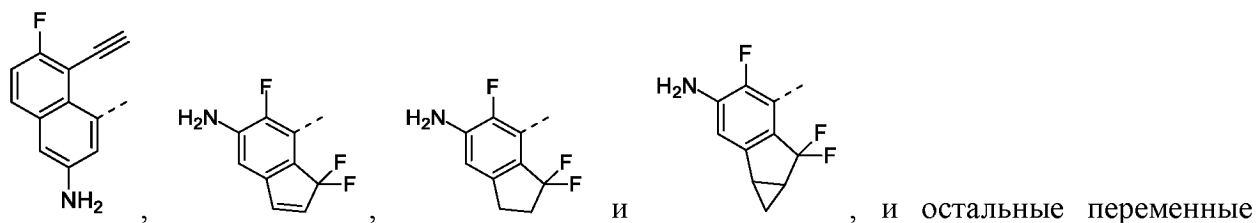
[0045] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, R_1





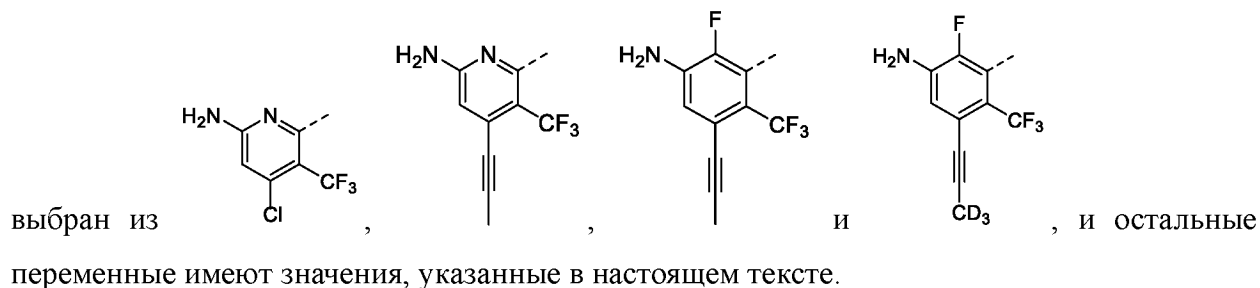
[0046] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, R_1





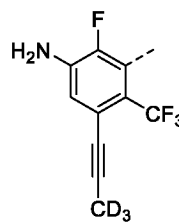
имеют значения, указанные в настоящем тексте.

[0047] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, R_1



выбран из

структурный фрагмент $(R_b)_v$ представляет собой



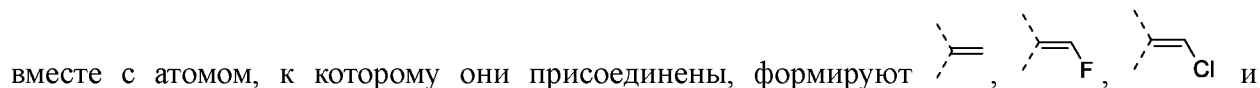
и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

[0049] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, R_3 выбран из H, F, CN, CH_3 и OCH_3 , и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

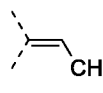
[0050] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, R_2 и R_3 вместе с атомами, к которым они присоединены, формируют фенил, фуранил и пиридирил, где фенил, фуранил и пиридирил необязательно замещены одним F, и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

[0051] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, R_4 отсутствует или выбран из H, CH_2F и $-CH=CH_2$, и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

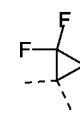
[0052] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, R_3 и R_4



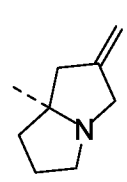
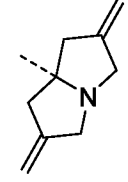
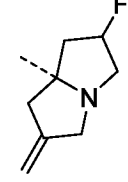
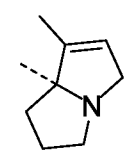
вместе с атомом, к которому они присоединены, формируют

 CH_3 , и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

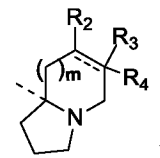
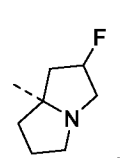
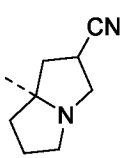
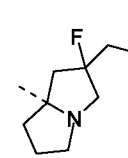
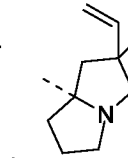
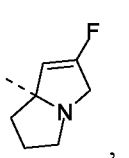
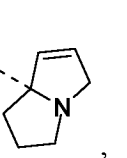
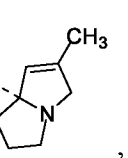
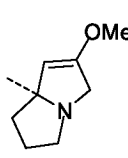
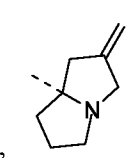
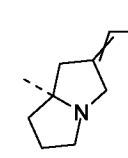
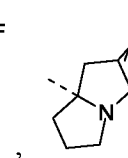
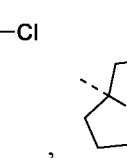
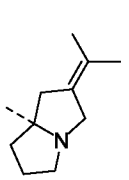
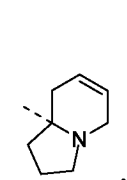
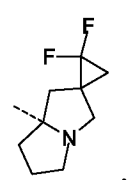
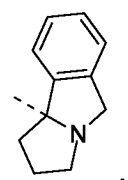
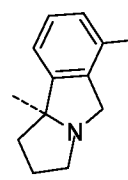
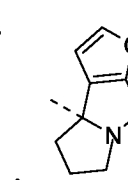
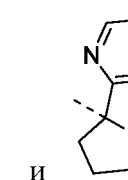
[0053] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, R_3 и R_4

вместе с атомом, к которому они присоединены, формируют , и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

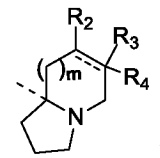
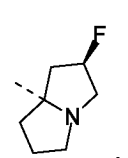
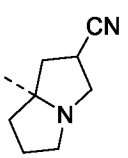
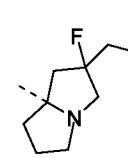
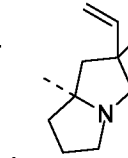
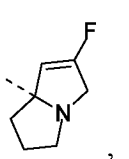

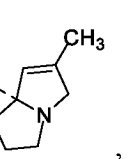
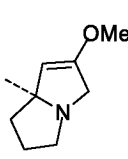
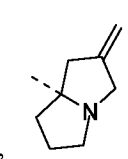
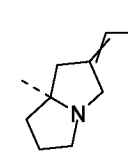
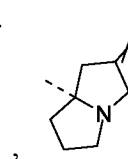
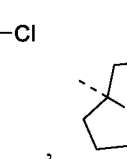
[0054] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, R_5

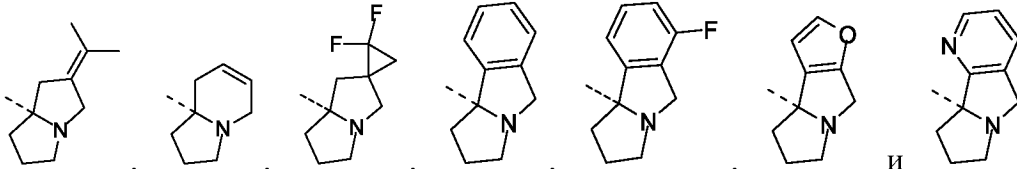
выбран из , ,  и , и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

[0055] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения,

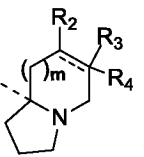
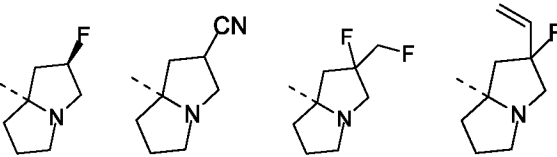
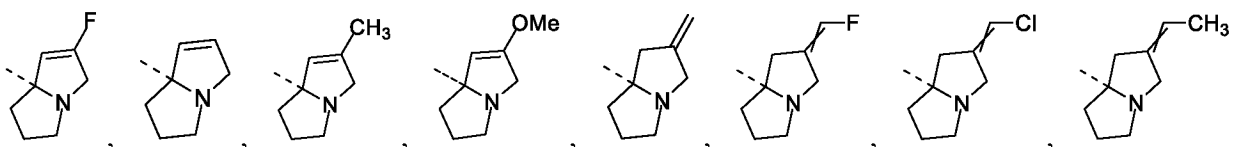
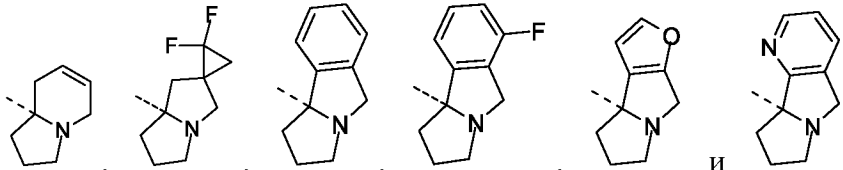
структурный фрагмент  выбран из , , , , , , , , , , , , , , , , ,  и , и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

[0056] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения,

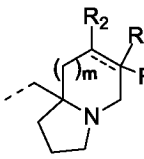
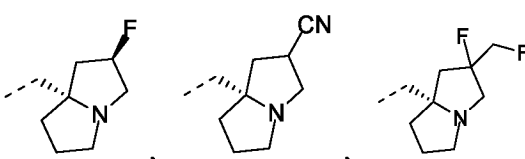
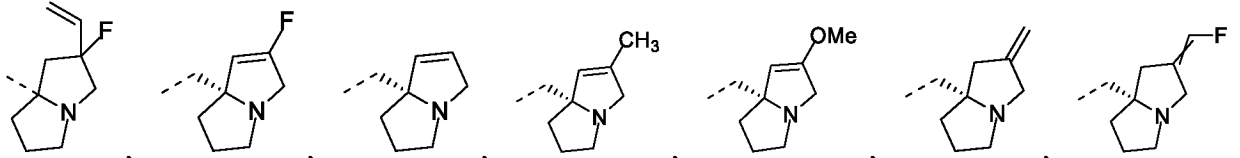
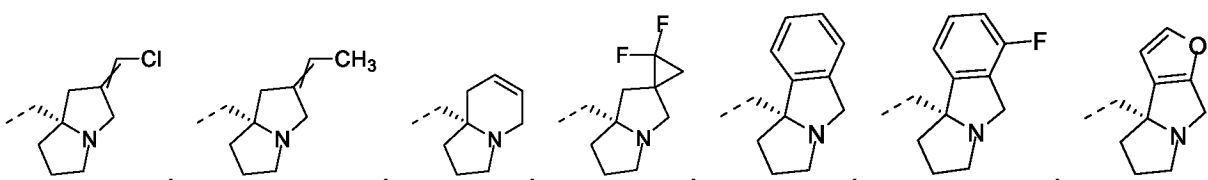
структурный фрагмент  выбран из , , , , , , , , , , , 


 , и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

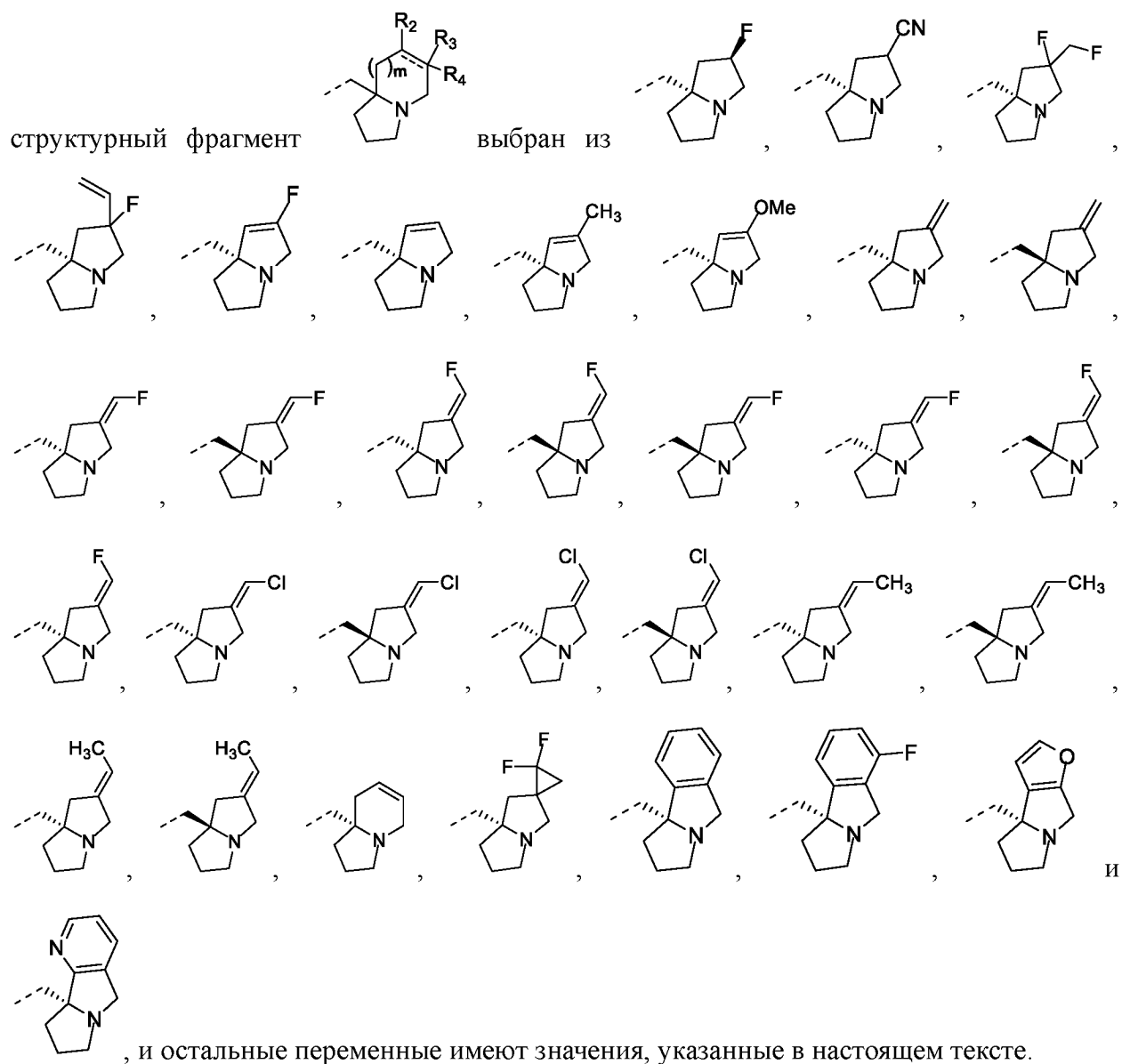
[0057] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения,

структурный фрагмент
 
 выбран из
 
 ,
 
 ,
 
 , и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

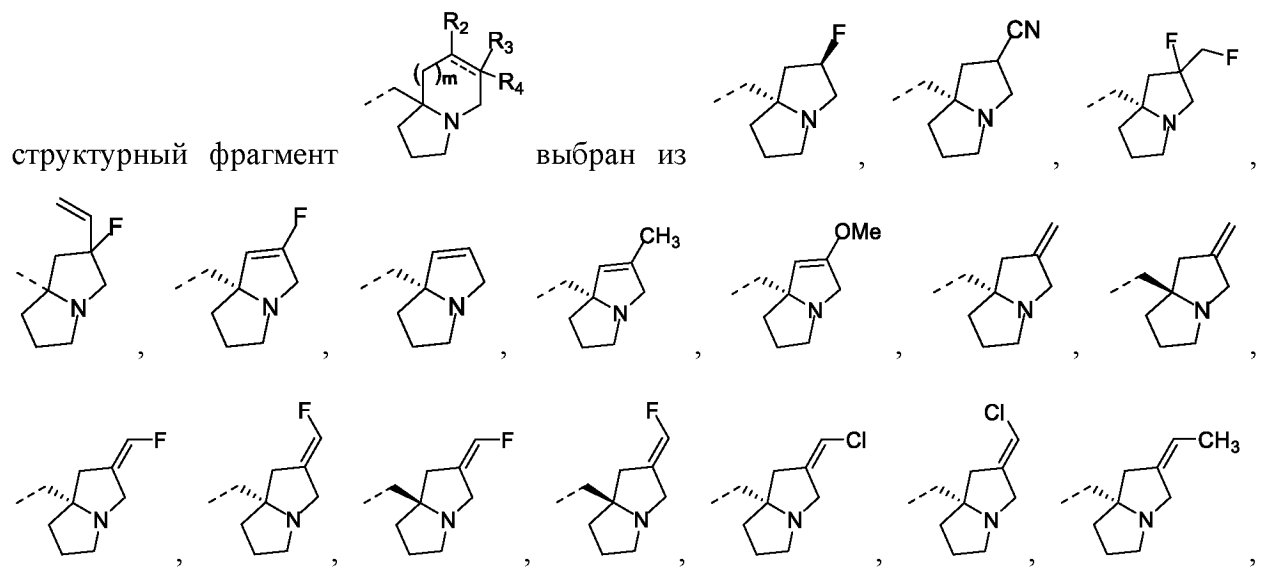
[0058] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения,

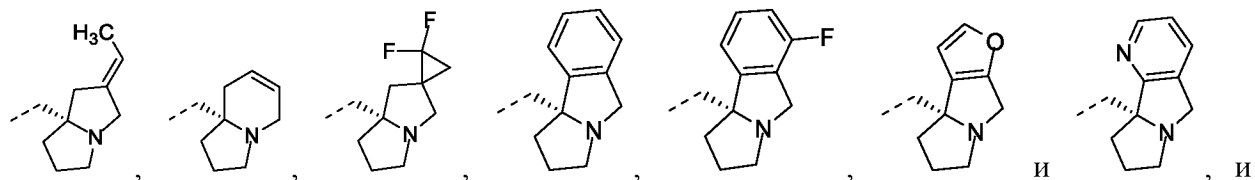
структурный фрагмент
 
 выбран из
 
 ,
 
 ,
 
 , и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

[0059] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения,



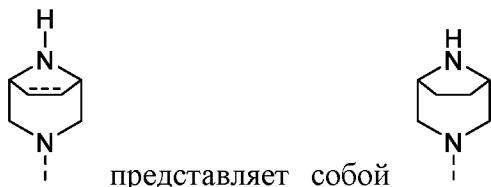
[0060] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения,

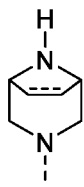
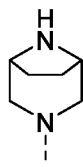




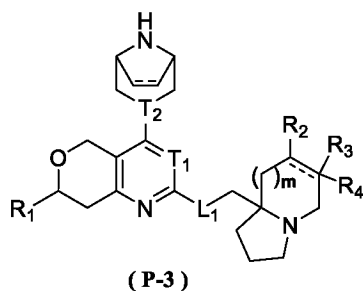
остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

[0061] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения,




структурный фрагмент  представляет собой , и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

[0062] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения описано соединение или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение представляет собой

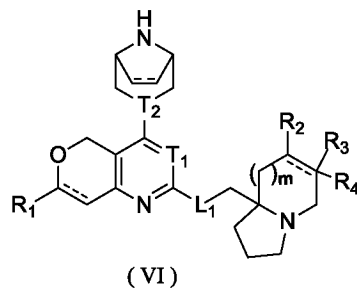


[0063] где

[0064]  выбран из простой связи и двойной связи;

[0065] T₁, T₂, R₁, R₂, R₃, R₄, L₁ и m имеют указанные в настоящем тексте значения.

[0066] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения описано соединение или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение представляет собой

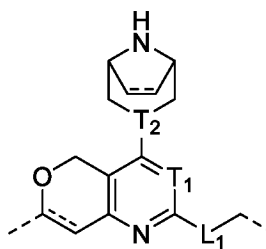


[0067] где

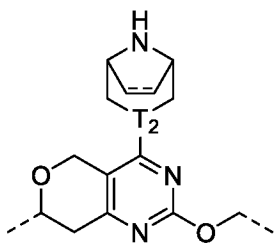
[0068] \equiv выбран из простой связи и двойной связи;

[0069] T₁, T₂, R₁, R₂, R₃, R₄, L₁ и m имеют указанные в настоящем тексте значения;

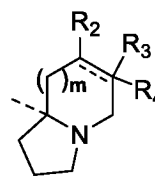
[0070] при условии, что когда структурный фрагмент



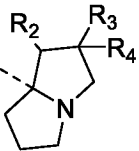
представляет собой



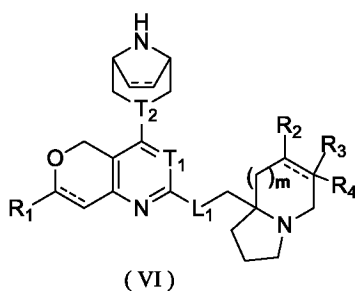
, структурный фрагмент



не

представляет собой , R₂ представляет собой H; R₃ выбран из H, F, CN, CH₃ и OCH₃, где CH₃ и OCH₃ необязательно замещены 1, 2 или 3 галогенами; R₄ выбран из H и CH₃.

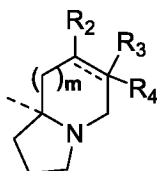
[0071] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения описано соединение или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение представляет собой



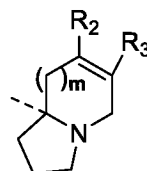
[0072] где

[0073] \equiv выбран из простой связи и двойной связи;

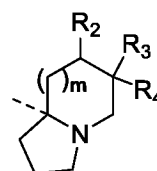
[0074] структурный фрагмент



выбран из



и





;

[0075] R_2 представляет собой H;

[0076] R_3 выбран из H, F, CN, CH_3 и OCH_3 , где CH_3 и OCH_3 необязательно замещены 1, 2 или 3 галогенами;

[0077] альтернативно, R_2 и R_3 вместе с атомами, к которым они присоединены, формируют фенильную группу или 5-6-членную гетероарильную группу, где фенильная группа или 5-6-членная гетероарильная группа необязательно замещена 1, 2 или 3 галогенами;

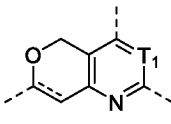
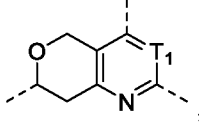
[0078] R_4 представляет собой $-CH=CH_2$, где $-CH=CH_2$ необязательно замещен 1, 2 или 3 галогенами;

[0079] альтернативно, R_3 и R_4 вместе с атомом, к которому они присоединены, формируют , где  необязательно замещена 1 или 2 заместителями R_c ;

[0080] альтернативно, R_3 и R_4 вместе с атомом, к которому они присоединены, формируют циклопропильную группу, которая необязательно замещена 1, 2 или 3 галогенами;

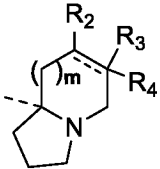
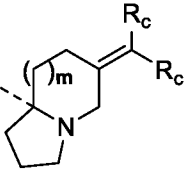
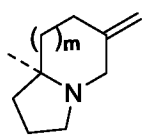
[0081] T_1 , T_2 , R_1 , каждый R_c , L_1 и m имеют указанные в настоящем тексте значения.

[0082] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения,


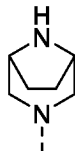
структурный фрагмент  представляет собой , и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

[0083] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, T_1 представляет собой N, и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

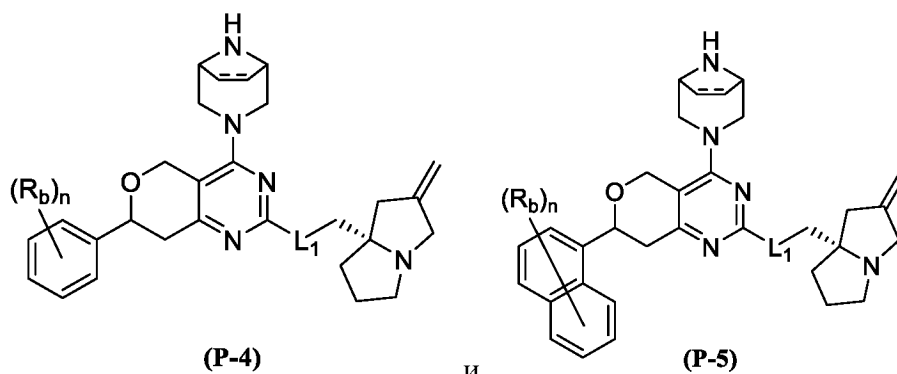
[0084] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения,

структурный фрагмент  выбран из  и , и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.


[0085] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения,

структурный фрагмент  представляет собой , и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

[0086] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения описано соединение или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение выбрано из



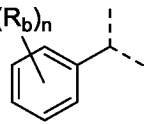
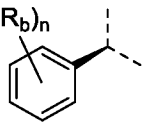
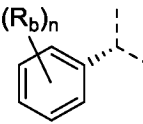
[0087] где

[0088]  выбран из простой связи и двойной связи;

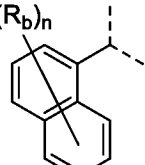
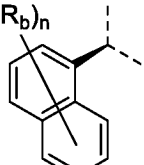
[0089] каждый R_b и L_1 имеют указанные в настоящем тексте значения;

[0090] n выбран из 0, 1, 2, 3, 4 и 5.

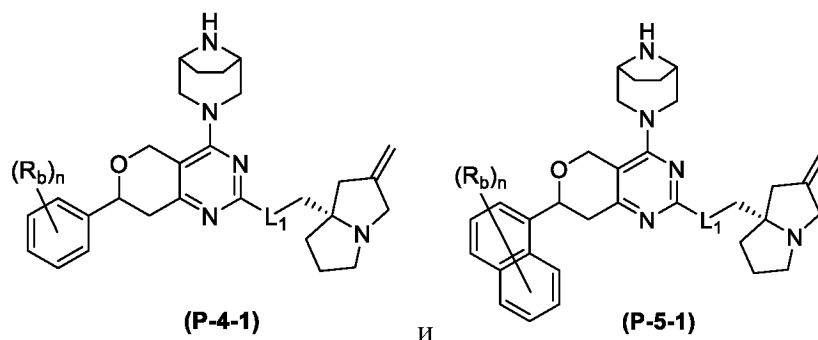
[0091] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения,

структурный фрагмент  выбран из  и , и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

[0092] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения,

структурный фрагмент  выбран из  и , и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

[0093] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения описано соединение или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение выбрано из

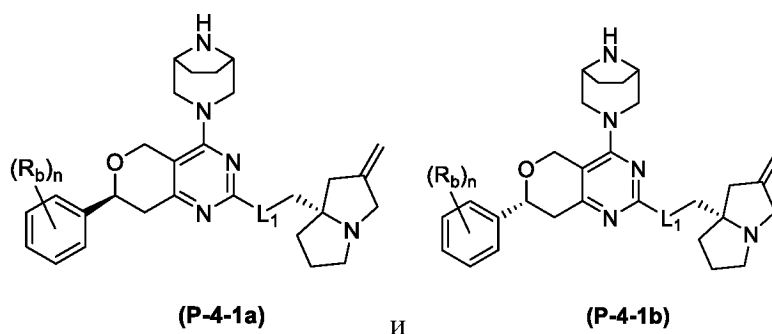


[0094] где

[0095] каждый R_b и L_1 имеют указанные в настоящем тексте значения;

[0096] n выбран из 0, 1, 2, 3, 4 и 5.

[0097] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения описано соединение или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение выбрано из

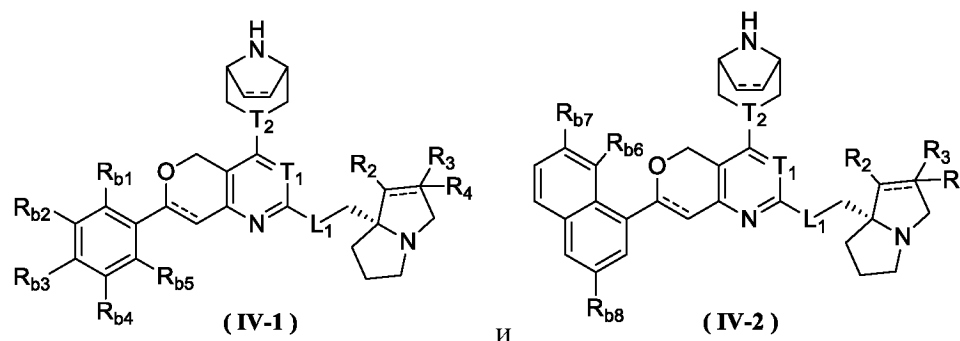


[0098] где

[0099] каждый R_b и L_1 имеют указанные в настоящем тексте значения;

[00100] n выбран из 0, 1, 2, 3, 4 и 5.

[00101] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения описано соединение или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение выбрано из



[00102] где

[00103] --- выбран из простой связи и двойной связи;

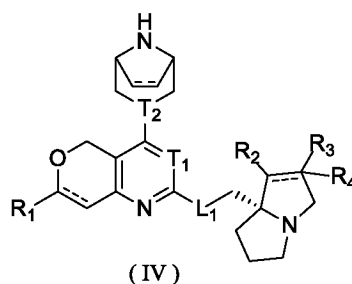
[00104] T_1 , T_2 , R_2 , R_3 , R_4 и L_1 имеют указанные в настоящем тексте значения;

[00105] R_{b1} , R_{b2} , R_{b3} , R_{b4} , R_{b5} , R_{b6} и R_{b7} независимо выбраны из H, F, Cl, Br, I, OH, NH_2 , CN, C_{1-3} алкила, C_{1-3} алкокси, C_{2-4} алкинила, C_{2-4} алкинил-циклопропила, C_{2-3} алкенила, $-C(=O)C_{1-3}$ алкила и C_{3-5} циклоалкила, где C_{1-3} алкил, C_{1-3} алкокси, C_{2-4} алкинил, C_{2-4} алкинил-циклопропил, C_{2-3} алкенил, $-C(=O)C_{1-3}$ алкил и C_{3-5} циклоалкил необязательно замещены 1, 2, 3, 4 или 5 галогенами.

[00106] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, R_{b1} , R_{b2} , R_{b3} , R_{b4} , R_{b5} , R_{b6} , R_{b7} и R_{b8} независимо выбраны из H, F, Cl, Br, I, OH, NH_2 , CN, CH_3 , CH_2CH_3 , OCH_3 , OCH_2CH_3 , $-CH=CH_2$, $-C\equiv CH$, $-C\equiv CCH_3$, $-C\equiv CCH_2CH_3$, $--\equiv\triangle$ и циклопропила, где CH_3 , CH_2CH_3 , OCH_3 , OCH_2CH_3 , $-CH=CH_2$, $-C\equiv CH$, $-C\equiv CCH_3$, $-C\equiv CCH_2CH_3$, $--\equiv\triangle$ и циклопропил необязательно замещены 1, 2, 3, 4 или 5 заместителями R, и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

[00107] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, R_{b1} , R_{b2} , R_{b3} , R_{b4} , R_{b5} , R_{b6} , R_{b7} и R_{b8} независимо выбраны из H, F, Cl, Br, I, OH, NH_2 , CN, CH_3 , CF_3 , CH_2CH_3 , CF_2CF_3 , $-CH=CH_2$, $-C\equiv CH$, $-C\equiv CF$, $-C\equiv CBr$, $-C\equiv CCH_3$, $-C\equiv CCF_3$, $-C\equiv CCH_2CH_3$, $--\equiv\triangle$ и циклопропила, и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

[00108] В настоящем изобретении также описано соединение формулы (IV) или его фармацевтически приемлемая соль,



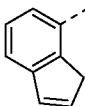
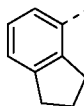
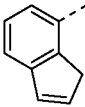
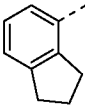
[00109] где

[00110] --- выбран из простой связи и двойной связи;

[00111] T_1 выбран из CR_a и N;

[00112] T_2 выбран из CH и N;

[00113] L_1 выбран из O и S;



[00114] R_1 выбран из фенила, нафтила,  и , где фенил, нафтил,  и  каждый независимо необязательно замещены 1, 2, 3, 4 или 5 заместителями R_b ;

[00115] R_2 представляет собой H;

[00116] R_3 выбран из H, F, CN и OCH_3 , где OCH_3 необязательно замещен 1, 2 или 3 галогенами;

[00117] альтернативно, R_2 и R_3 вместе с атомами, к которым они присоединены, формируют фенильную группу или 5-6-членную гетероарильную группу, где фенильная группа и 5-6-членная гетероарильная группа необязательно замещены 1, 2 или 3 галогенами;

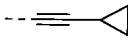
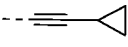
[00118] R_4 отсутствует или выбран из H, CH_3 и $-CH=CH_2$, где CH_3 и $-CH=CH_2$ необязательно замещены 1, 2 или 3 галогенами;

[00119] альтернативно, R_3 и R_4 вместе с атомом, к которому они присоединены, формируют , где  необязательно замещена 1 или 2 галогенами;

[00120] альтернативно, R_3 и R_4 вместе с атомом, к которому они присоединены, формируют циклопропильную группу, которая необязательно замещена 1, 2 или 3 галогенами;

[00121] R_a выбран из H и CN;

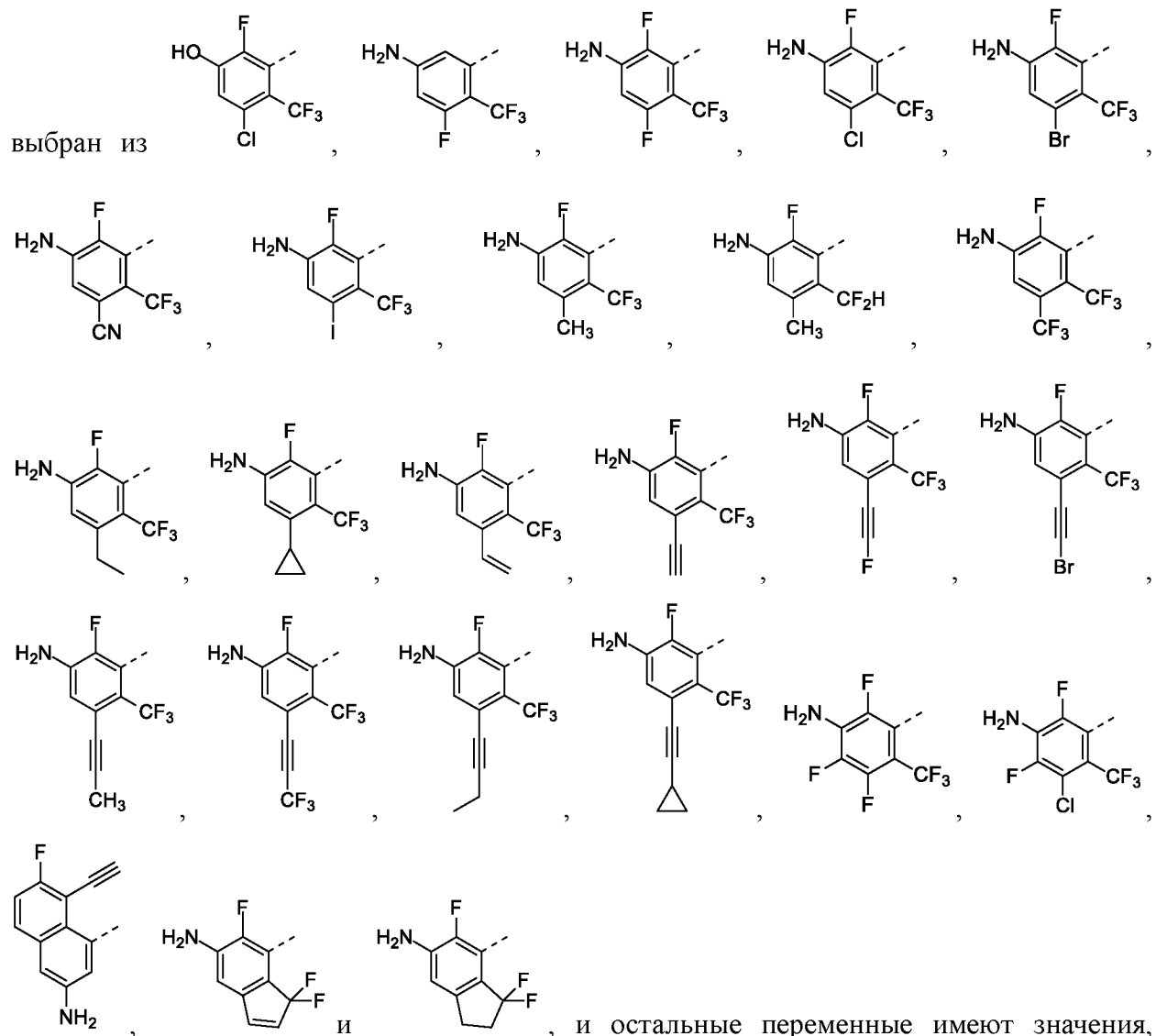
[00122] каждый R_b независимо выбран из H, F, Cl, Br, I, OH, NH_2 , CN, C_{1-3} алкила, C_{1-3} алкокси, C_{2-4} алкинила, C_{2-4} алкинил-циклопропила, C_{2-3} алкенила, $-C(=O)C_{1-3}$ алкила и C_{3-5} циклоалкила, где C_{1-3} алкил, C_{1-3} алкокси, C_{2-4} алкинил, C_{2-4} алкинил-циклопропил, C_{2-3} алкенил, $-C(=O)C_{1-3}$ алкил и C_{3-5} циклоалкил необязательно замещены 1, 2, 3, 4 или 5 галогенами.

[00123] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, каждый R_b независимо выбран из H, F, Cl, Br, I, OH, NH_2 , CN, CH_3 , CH_2CH_3 , OCH_3 , OCH_2CH_3 , $-CH=CH_2$, $-C\equiv CH$, $-C\equiv CCH_3$, $-C\equiv CCH_2CH_3$,  и циклопропила, где CH_3 , CH_2CH_3 , OCH_3 , OCH_2CH_3 , $-CH=CH_2$, $-C\equiv CH$, $-C\equiv CCH_3$, $-C\equiv CCH_2CH_3$,  и циклопропил необязательно замещены 1, 2, 3, 4 или 5 галогенами, и остальные переменные имеют

значения, указанные в настоящем тексте.

[00124] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, каждый R_b независимо выбран из H, F, Cl, Br, I, OH, NH₂, CN, CH₃, CH₂F, CF₂H, CF₃, CH₂CH₃, CF₂CF₃, -CH=CH₂, -C≡CH, -C≡CF, -C≡CBr, -C≡CCH₃, -C≡CCF₃, -C≡CCH₂CF₃, $\text{---}\equiv\text{---}$ и циклопропила, и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

[00125] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, R_1




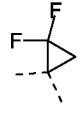
[00126] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, R_3 выбран из H, F, CN и OCH₃, и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

[00127] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, R_2 и R_3 вместе с атомами, к которым они присоединены, формируют фенил, фуранил или

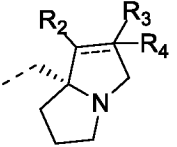
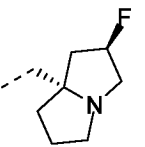
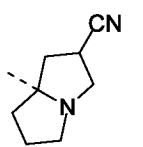
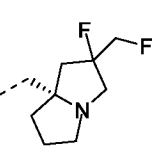
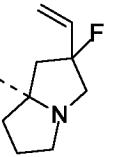
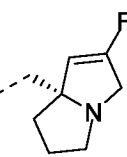
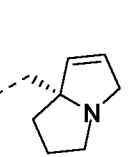
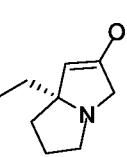
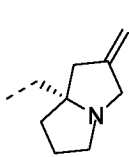
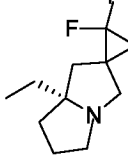
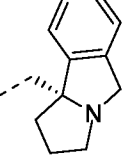
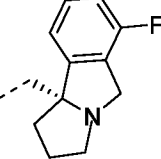
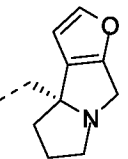
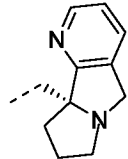
пиридинил, где фенил, фуранил и пиридинил необязательно замещены одним F, и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

[00128] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, R₄ отсутствует или выбран из H, CH₂F и -CH=CH₂, и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

[00129] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, R₃ и R₄ вместе с атомом, к которому они присоединены, формируют , и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

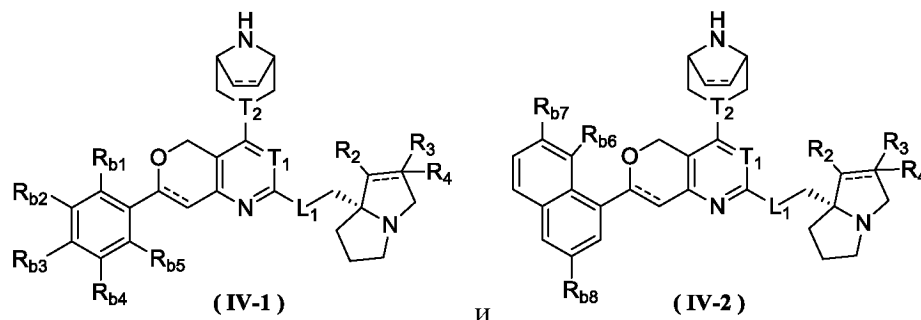
[00130] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, R₃ и R₄ вместе с атомом, к которому они присоединены, формируют , и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

[00131] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения,

структурный фрагмент  выбран из , , , , , , , , , , ,  и , и остальные переменные имеют значения,

указанные в настоящем тексте.

[00132] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения описано соединение или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение выбрано из



[00133] где

[00134] \diagup выбран из простой связи и двойной связи;

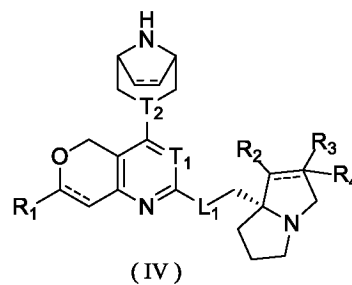
[00135] T_1 , T_2 , R_2 , R_3 , R_4 и L_1 имеют указанные в настоящем тексте значения;

[00136] R_{b1} , R_{b2} , R_{b3} , R_{b4} , R_{b5} , R_{b6} и R_{b7} каждый независимо выбраны из H, F, Cl, Br, I, OH, NH₂, CN, C₁₋₃ алкила, C₁₋₃ алкокси, C₂₋₄ алкинила, C₂₋₄ алкинил-циклопропила, C₂₋₃ алкенила, -C(=O)C₁₋₃ алкила и C₃₋₅ циклоалкила, где C₁₋₃ алкил, C₁₋₃ алкокси, C₂₋₄ алкинил, C₂₋₄ алкинил-циклопропил, C₂₋₃ алкенил, -C(=O)C₁₋₃ алкил и C₃₋₅ циклоалкил необязательно замещены 1, 2, 3, 4 или 5 галогенами.

[00137] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, R_{b1} , R_{b2} , R_{b3} , R_{b4} , R_{b5} , R_{b6} , R_{b7} и R_{b8} каждый независимо выбраны из H, F, Cl, Br, I, OH, NH₂, CN, CH₃, CH₂CH₃, OCH₃, OCH₂CH₃, -CH=CH₂, -C≡CH, -C≡CCH₃, -C≡CCH₂CH₃, $\text{---}\equiv\triangle$ и циклопропила, где CH₃, CH₂CH₃, OCH₃, OCH₂CH₃, -CH=CH₂, -C≡CH, -C≡CCH₃, -C≡CCH₂CH₃, $\text{---}\equiv\triangle$ и циклопропил необязательно замещены 1, 2, 3, 4 или 5 заместителями R, и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

[00138] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, R_{b1} , R_{b2} , R_{b3} , R_{b4} , R_{b5} , R_{b6} , R_{b7} и R_{b8} каждый независимо выбраны из H, F, Cl, Br, I, OH, NH₂, CN, CH₃, CF₃, CH₂CH₃, CF₂CF₃, -CH=CH₂, -C≡CH, -C≡CF, -C≡CBr, -C≡CCH₃, -C≡CCF₃, -C≡CCH₂CH₃, $\text{---}\equiv\triangle$ и циклопропила, и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

[00139] В настоящем изобретении также описано соединение формулы (IV) или его фармацевтически приемлемая соль,



[00140] где

[00141] \diagup выбран из простой связи и двойной связи;

[00142] T_1 выбран из CR_a и N;

[00143] T₂ выбран из CH и N;

[00144] L₁ выбран из O и S;

[00145] R₁ выбран из фенила и нафтила, где фенил и нафтил каждый независимо необязательно замещены 1, 2, 3, 4 или 5 заместителями R_b;

[00146] R₂ представляет собой H;

[00147] R₃ выбран из H, F и CN;

[00148] альтернативно, R₂ и R₃ вместе с атомами, к которым они присоединены, формируют фенильную группу;

[00149] R₄ отсутствует или выбран из H и -CH=CH₂;

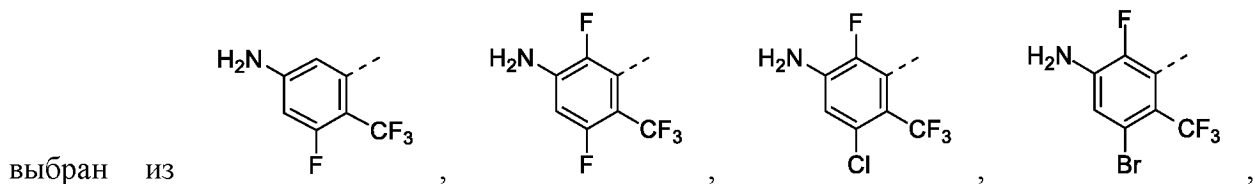
[00150] R_a выбран из H и CN;

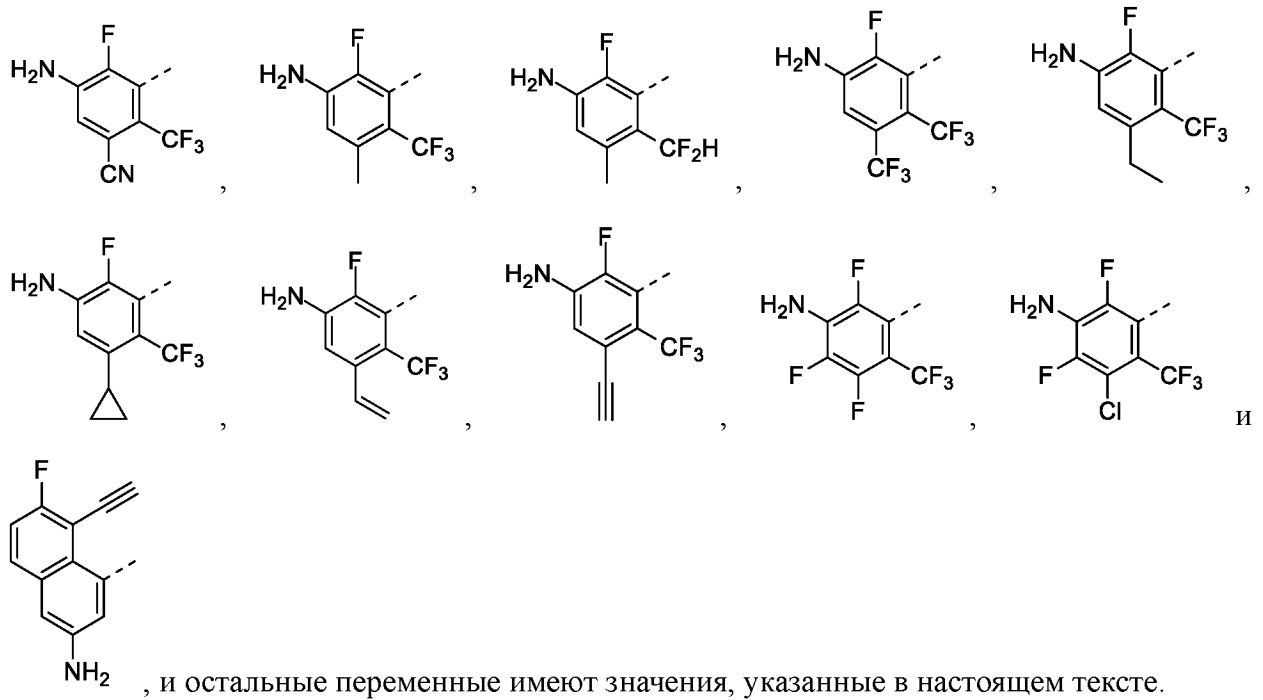
[00151] каждый R_b независимо выбран из H, F, Cl, Br, I, OH, NH₂, CN, C₁₋₃ алкила, C₁₋₃ алкокси, C₂₋₃ алкинила, C₂₋₃ алкенила, -C(=O)C₁₋₃ алкила и C₃₋₅ циклоалкила, где C₁₋₃ алкил, C₁₋₃ алкокси, C₂₋₃ алкинил, C₂₋₃ алкенил, -C(=O)C₁₋₃ алкил и C₃₋₅ циклоалкил необязательно замещены 1, 2, 3, 4 или 5 галогенами.

[00152] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, каждый R_b независимо выбран из H, F, Cl, Br, I, OH, NH₂, CN, CH₃, CH₂CH₃, OCH₃, OCH₂CH₃, -CH=CH₂, -C≡CH и циклопропила, где CH₃, CH₂CH₃, OCH₃, OCH₂CH₃, -CH=CH₂, -C≡CH и циклопропил необязательно замещены 1, 2, 3, 4 или 5 галогенами; и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

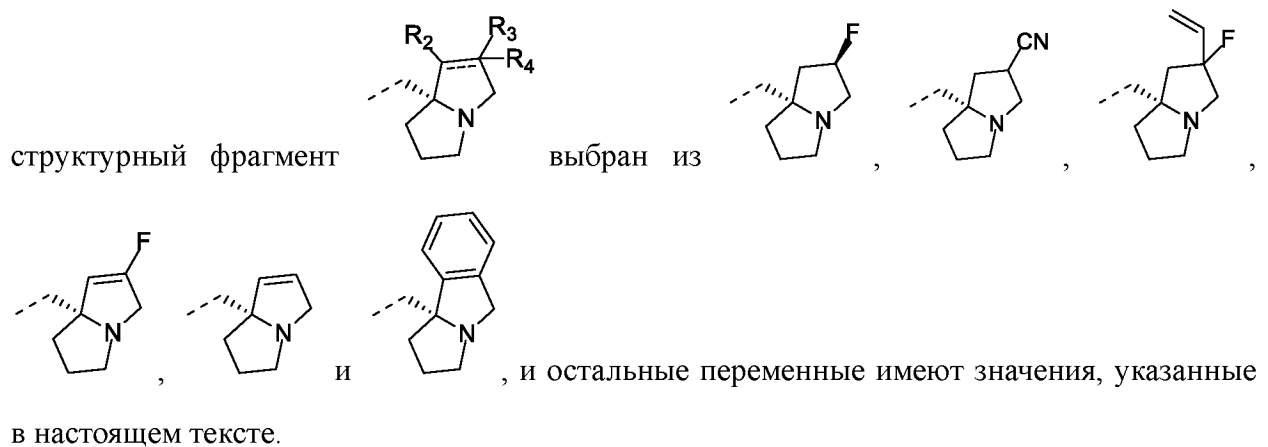
[00153] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, каждый R_b независимо выбран из H, F, Cl, Br, I, OH, NH₂, CN, CH₃, CH₂F, CF₂H, CF₃, CH₂CH₃, CF₂CF₃, -CH=CH₂, -C≡CH и циклопропила, и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

[00154] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, R₁

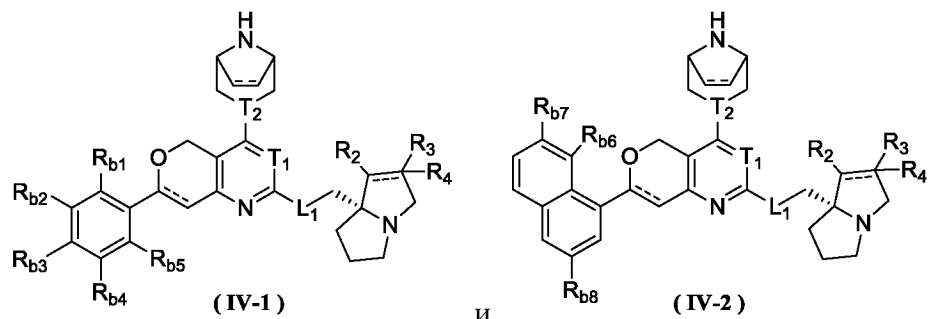




[00155] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения,



[00156] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения описано соединение или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение выбрано из



[00157] где

[00158] --- выбран из простой связи и двойной связи;

[00159] T_1 , T_2 , R_2 , R_3 , R_4 и L_1 имеют указанные в настоящем тексте значения;

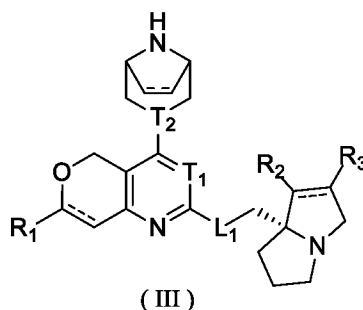
[00160] R_{b1} , R_{b2} , R_{b3} , R_{b4} , R_{b5} , R_{b6} и R_{b7} каждый независимо выбраны из H, F, Cl, Br,

I, OH, NH₂, CN, C₁₋₃ алкила, C₁₋₃ алкокси, C₂₋₃ алкинила, C₂₋₃ алкенила, -C(=O)C₁₋₃ алкила и C₃₋₅ циклоалкила, где C₁₋₃ алкил, C₁₋₃ алкокси, C₂₋₃ алкинил, C₂₋₃ алкенил, -C(=O)C₁₋₃ алкил и C₃₋₅ циклоалкил необязательно замещены 1, 2, 3, 4 или 5 галогенами.

[00161] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, R_{b1}, R_{b2}, R_{b3}, R_{b4}, R_{b5}, R_{b6}, R_{b7} и R_{b8} каждый независимо выбраны из H, F, Cl, Br, I, OH, NH₂, CN, CH₃, CH₂CH₃, OCH₃, OCH₂CH₃, -CH=CH₂, -C≡CH и циклопропила, где CH₃, CH₂CH₃, OCH₃, OCH₂CH₃, -CH=CH₂, -C≡CH и циклопропил необязательно замещены 1, 2, 3, 4 или 5 заместителями R, и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

[00162] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, R_{b1}, R_{b2}, R_{b3}, R_{b4}, R_{b5}, R_{b6}, R_{b7} и R_{b8} каждый независимо выбраны из H, F, Cl, Br, I, OH, NH₂, CN, CH₃, CF₃, CH₂CH₃, CF₂CF₃, -CH=CH₂, -C≡CH и циклопропила, и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

[00163] В настоящем изобретении также описано соединение формулы (III) или его фармацевтически приемлемая соль,



[00164] где

[00165] \diagup выбран из простой связи и двойной связи;

[00166] T₁ выбран из CR_a и N;

[00167] T₂ выбран из CH и N;

[00168] L₁ выбран из O и S;

[00169] R₁ выбран из фенила и нафтила, где фенил и нафтил каждый независимо необязательно замещены 1, 2, 3, 4 или 5 заместителями R_b;

[00170] R₂ представляет собой H;

[00171] R₃ выбран из H и F;

[00172] альтернативно, R₂ и R₃ вместе с атомами, к которым они присоединены,

формируют фенильную группу;

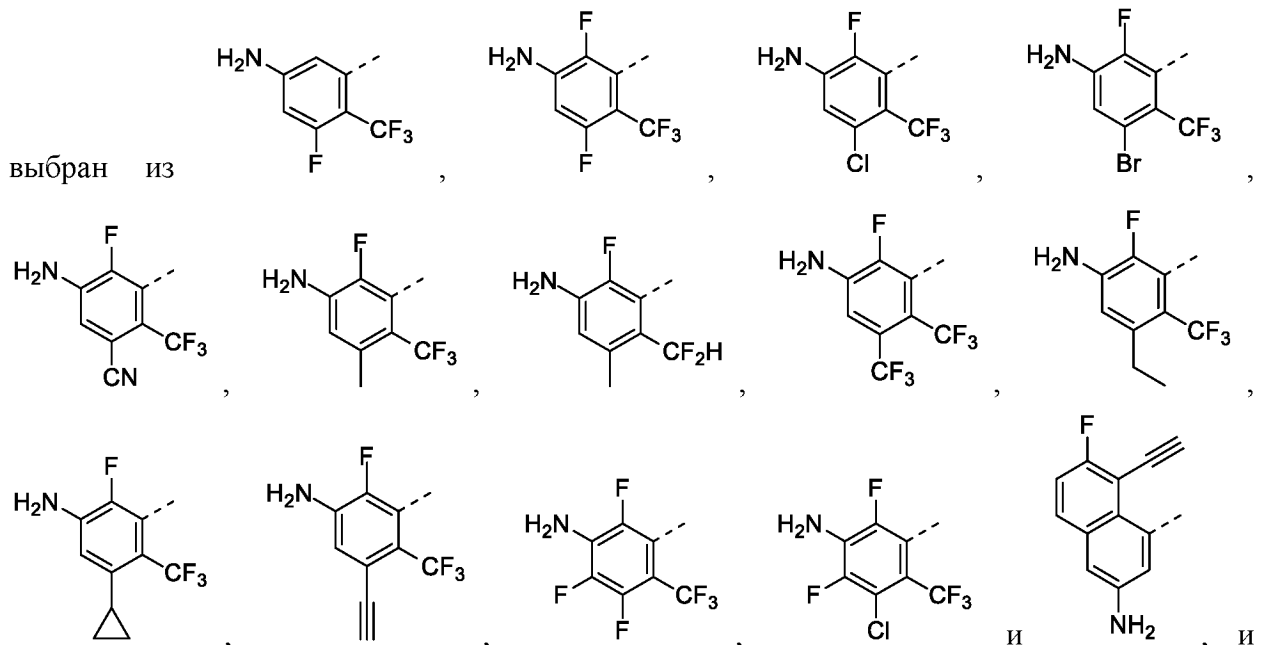
[00173] R_a выбран из H и CN;

[00174] каждый R_b независимо выбран из H, F, Cl, Br, I, OH, NH₂, CN, C₁₋₃ алкила, C₁₋₃ алкокси, C₂₋₃ алкинила, C₂₋₃ алкенила, -C(=O)C₁₋₃ алкила и C₃₋₅ циклоалкила, где C₁₋₃ алкил, C₁₋₃ алкокси, C₂₋₃ алкинил, C₂₋₃ алкенил, -C(=O)C₁₋₃ алкил и C₃₋₅ циклоалкил необязательно замещены 1, 2, 3, 4 или 5 галогенами.

[00175] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, каждый R_b независимо выбран из H, F, Cl, Br, I, OH, NH₂, CN, CH₃, CH₂CH₃, OCH₃, OCH₂CH₃, -CH=CH₂, -C≡CH и циклопропила, где CH₃, CH₂CH₃, OCH₃, OCH₂CH₃, -CH=CH₂, -C≡CH и циклопропил необязательно замещены 1, 2, 3, 4 или 5 галогенами; и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

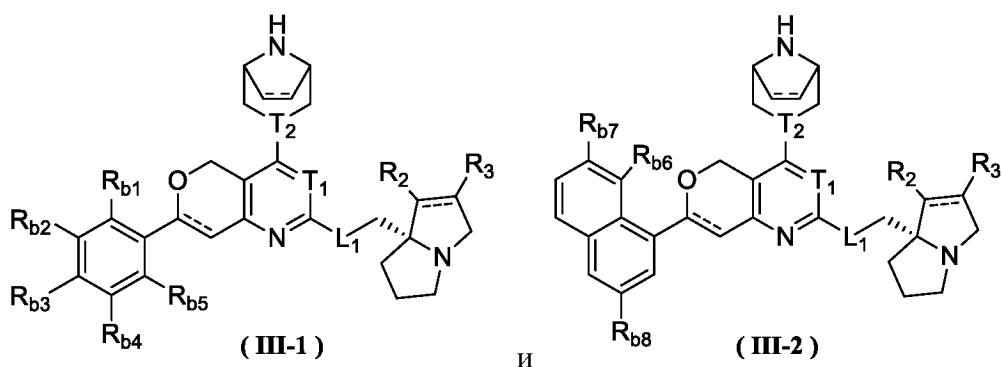
[00176] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, каждый R_b независимо выбран из H, F, Cl, Br, I, OH, NH₂, CN, CH₃, CH₂F, CF₂H, CF₃, CH₂CH₃, CF₂CF₃, -CH=CH₂, -C≡CH и циклопропила, и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

[00177] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, R₁



остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

[00178] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения описано соединение или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение выбрано из



[00179] где

[00180] --- выбран из простой связи и двойной связи;

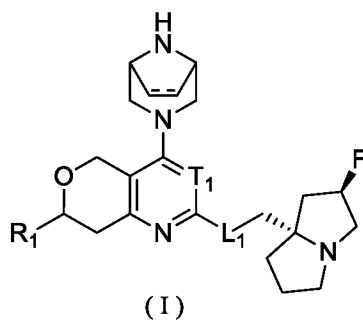
[00181] T_1 , T_2 , R_2 , R_3 и L_1 имеют указанные в настоящем тексте значения;

[00182] R_{b1} , R_{b2} , R_{b3} , R_{b4} , R_{b5} , R_{b6} и R_{b7} каждый независимо выбраны из H, F, Cl, Br, I, OH, NH₂, CN, C₁₋₃ алкила, C₁₋₃ алкокси, C₂₋₃ алкинила, C₂₋₃ алкенила, -C(=O)C₁₋₃ алкила и C₃₋₅ циклоалкила, где C₁₋₃ алкил, C₁₋₃ алкокси, C₂₋₃ алкинил, C₂₋₃ алкенил, -C(=O)C₁₋₃ алкил и C₃₋₅ циклоалкил необязательно замещены 1, 2, 3, 4 или 5 галогенами.

[00183] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, R_{b1} , R_{b2} , R_{b3} , R_{b4} , R_{b5} , R_{b6} , R_{b7} и R_{b8} каждый независимо выбраны из H, F, Cl, Br, I, OH, NH₂, CN, CH₃, CH₂CH₃, OCH₃, OCH₂CH₃, -CH=CH₂, -C≡CH и циклопропила, где CH₃, CH₂CH₃, OCH₃, OCH₂CH₃, -CH=CH₂, -C≡CH и циклопропил необязательно замещены 1, 2, 3, 4 или 5 заместителями R, и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

[00184] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, R_{b1} , R_{b2} , R_{b3} , R_{b4} , R_{b5} , R_{b6} , R_{b7} и R_{b8} каждый независимо выбраны из H, F, Cl, Br, I, OH, NH₂, CN, CH₃, CF₃, CH₂CH₃, CF₂CF₃, -CH=CH₂, -C≡CH и циклопропила, и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

[00185] В настоящем изобретении также описано соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль,



[00186] где

[00187] \diagup выбран из простой связи и двойной связи;

[00188] T_1 выбран из CR_a и N;

[00189] L_1 выбран из O и S;

[00190] R_1 выбран из фенила и нафтила, где фенил и нафтил каждый независимо необязательно замещены 1, 2, 3, 4 или 5 заместителями R_b ;

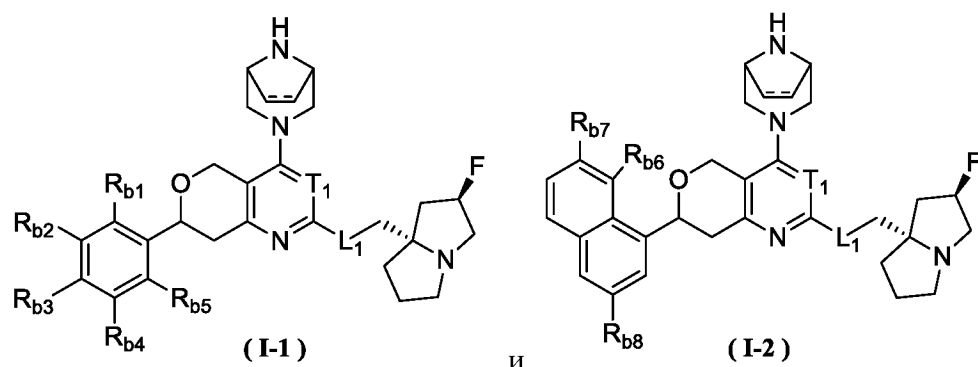
[00191] R_a выбран из H и CN;

[00192] каждый R_b независимо выбран из H, F, Cl, Br, I, OH, NH_2 , CN, C_{1-3} алкила, C_{1-3} алкокси, C_{2-3} алкинила, C_{2-3} алкенила, $-C(=O)C_{1-3}$ алкила и C_{3-5} циклоалкила, где C_{1-3} алкил, C_{1-3} алкокси, C_{2-3} алкинил, C_{2-3} алкенил, $-C(=O)C_{1-3}$ алкил и C_{3-5} циклоалкил необязательно замещены 1, 2, 3, 4 или 5 галогенами.

[00193] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, каждый R_b независимо выбран из H, F, Cl, Br, I, OH, NH_2 , CN, CH_3 , CH_2CH_3 , OCH_3 , OCH_2CH_3 , $-CH=CH_2$, $-C\equiv CH$ и циклопропила, где CH_3 , CH_2CH_3 , OCH_3 , OCH_2CH_3 , $-CH=CH_2$, $-C\equiv CH$ и циклопропил необязательно замещены 1, 2, 3, 4 или 5 галогенами; и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

[00194] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, каждый R_b независимо выбран из H, F, Cl, Br, I, OH, NH_2 , CN, CH_3 , CF_3 , CH_2CH_3 , CF_2CF_3 , $-CH=CH_2$, $-C\equiv CH$ и циклопропил, и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

[00195] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения описано соединение или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение выбрано из



[00196] где

[00197] L_1 выбран из простой связи и двойной связи;

[00198] T_1 и L_1 имеют указанные в настоящем тексте значения;

[00199] R_{b1} , R_{b2} , R_{b3} , R_{b4} , R_{b5} , R_{b6} и R_{b7} каждый независимо выбраны из H, F, Cl, Br, I, OH, NH_2 , CN, C_{1-3} алкила, C_{1-3} алкокси, C_{2-3} алкинила, C_{2-3} алкенила, $-\text{C}(=\text{O})\text{C}_{1-3}$ алкила и C_{3-5} циклоалкила, где C_{1-3} алкил, C_{1-3} алкокси, C_{2-3} алкинил, C_{2-3} алкенил, $-\text{C}(=\text{O})\text{C}_{1-3}$ алкил и C_{3-5} циклоалкил необязательно замещены 1, 2, 3, 4 или 5 галогенами.

[00200] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, R_{b1} , R_{b2} , R_{b3} , R_{b4} , R_{b5} , R_{b6} , R_{b7} и R_{b8} каждый независимо выбраны из H, F, Cl, Br, I, OH, NH_2 , CN, CH_3 , CH_2CH_3 , OCH_3 , OCH_2CH_3 , $-\text{CH}=\text{CH}_2$, $-\text{C}\equiv\text{CH}$ и циклопропила, где CH_3 , CH_2CH_3 , OCH_3 , OCH_2CH_3 , $-\text{CH}=\text{CH}_2$, $-\text{C}\equiv\text{CH}$ и циклопропил необязательно замещены 1, 2, 3, 4 или 5 заместителями R, и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

[00201] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, R_{b1} , R_{b2} , R_{b3} , R_{b4} , R_{b5} , R_{b6} , R_{b7} и R_{b8} каждый независимо выбраны из H, F, Cl, Br, I, OH, NH_2 , CN, CH_3 , CF_3 , CH_2CH_3 , CF_2CF_3 , $-\text{CH}=\text{CH}_2$, $-\text{C}\equiv\text{CH}$ и циклопропила, и остальные переменные имеют значения, указанные в настоящем тексте.

[00202] В Примере 8 настоящего изобретения, гидрохлорид соединения 8 получали из соединения 8-3 по стадиям 6 и 7, где соединение 8-3 получали из соединения 8-2 и соединения 1-12В по стадии 5, и соединение 8-2 и соединение 1-12В получали из соединения 8-1А и соединения 1-11В, соответственно.

[00203] В Примере 8 настоящего изобретения, гидрохлорид соединения 8 получали из соединения 8-1А, где соединение 8-1А анализировали методом SFC (хроматографическая колонка: Chiralpak IH-3, $100\times 4.6\text{мм ID}$, 3 $\mu\text{м}$; подвижная фаза: А

(сверхкритический CO₂) и В (этанол, содержащий 0.1% изопропиламина); градиент: В% = 10~50%, 4 мин; скорость потока: 3.4 мл/мин; длина волны: 220 нм; давление: 2000 фунт/кв.дюйм), и время удерживания составило 1.489 мин.

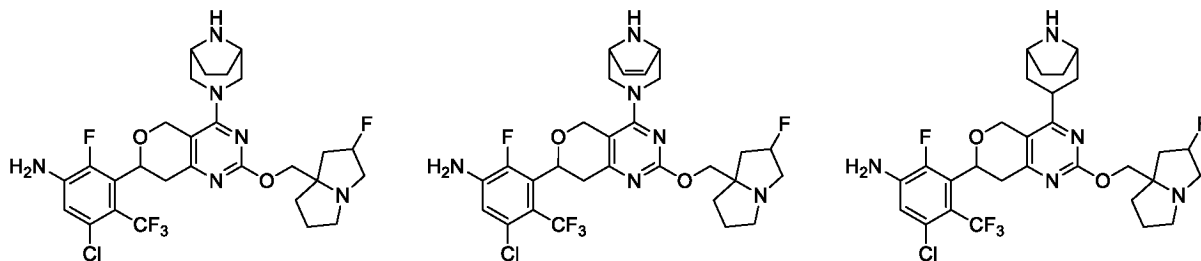
[00204] В Примере 8 настоящего изобретения, гидрохлорид соединения 8 получали из соединения 1-11В, где соединение 1-11В анализировали методом SFC (хроматографическая колонка: (S,S)Whelk-O1 100×4.6мм ID, 5.0мкм; подвижная фаза: А: сверхкритический CO₂, В: [75% изопропанол/25% ацетонитрил/0.05% диэтиламин]; В%: 50% - 50%, скорость потока: 2.5 мл/мин), и время удерживания составило 3.317 мин, и время удерживания его энантиомера составило 2.536 мин.

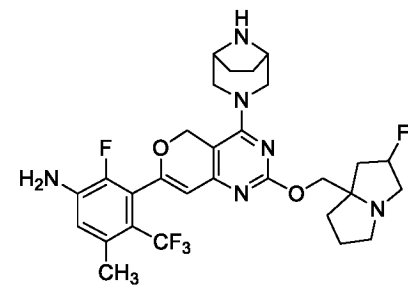
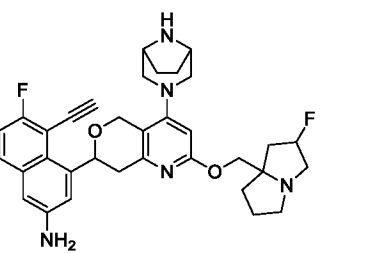
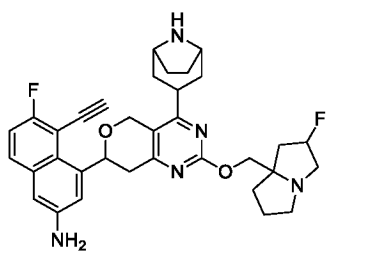
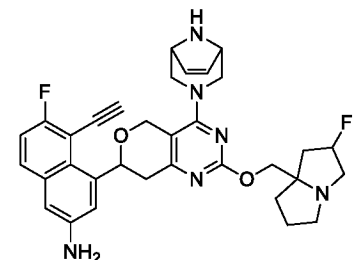
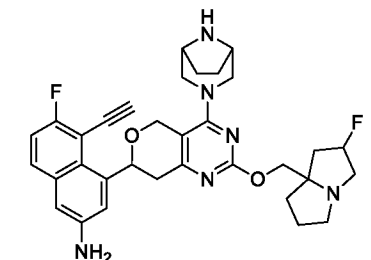
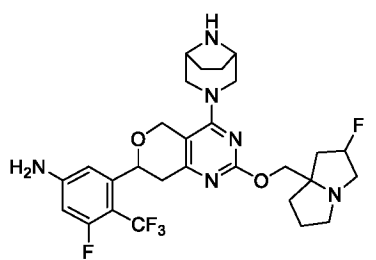
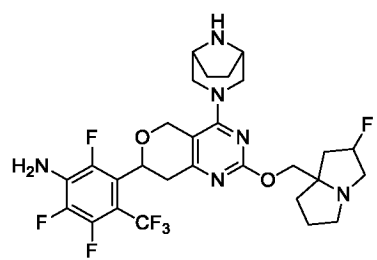
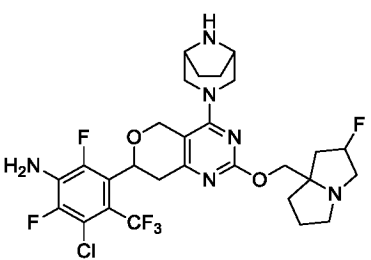
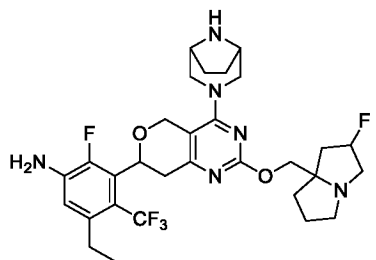
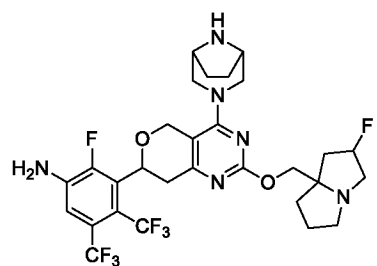
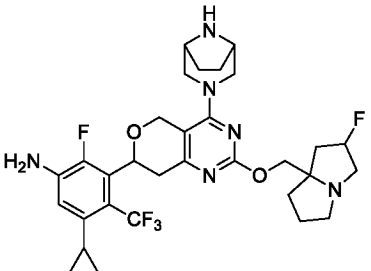
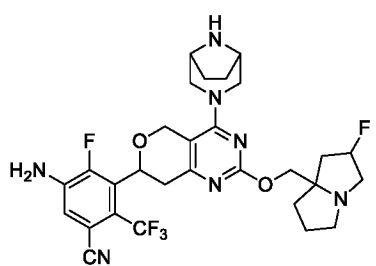
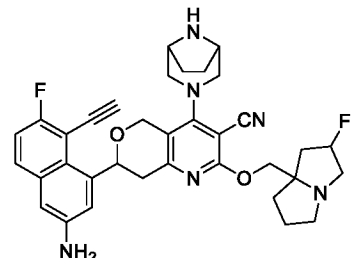
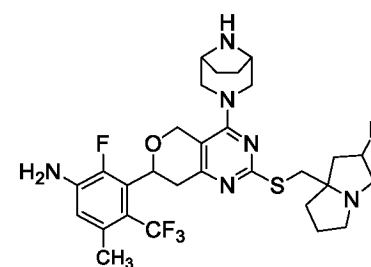
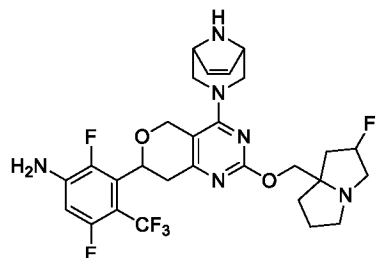
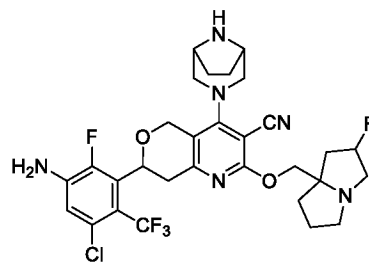
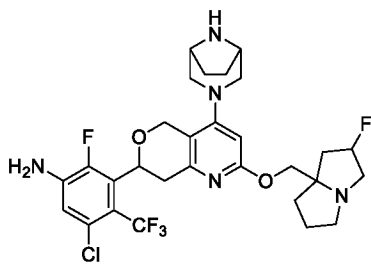
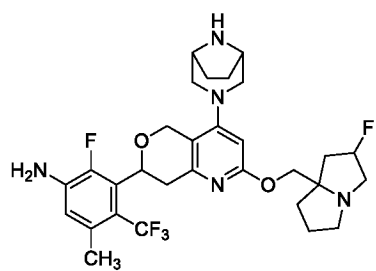
[00205] В Примере 8 настоящего изобретения, соединение 8 получали из соединения 1-11В, где соединение 1-11В анализировали методом SFC (хроматографическая колонка: (S,S)Whelk-O1 100×4.6мм ID, 5.0мкм; подвижная фаза: А: сверхкритический CO₂, В: [75% изопропанол/25% ацетонитрил/0.05% диэтиламин]; В%: 50% - 50%, скорость потока: 2.5 мл/мин), время удерживания составило 3.317 мин, и время удерживания его энантиомера составило 2.536 мин.

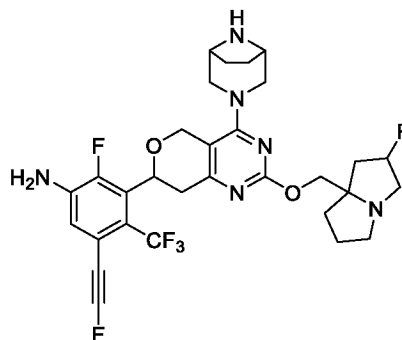
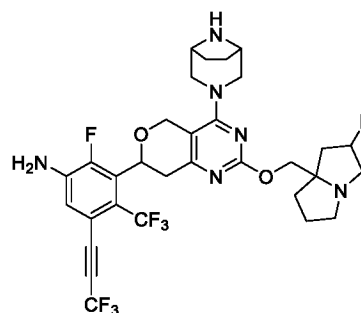
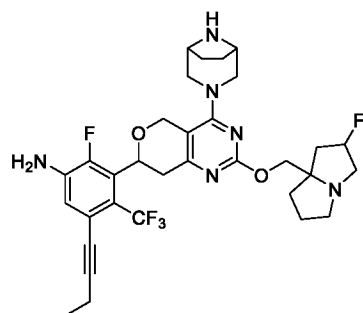
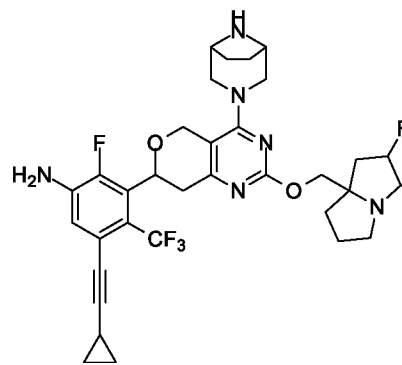
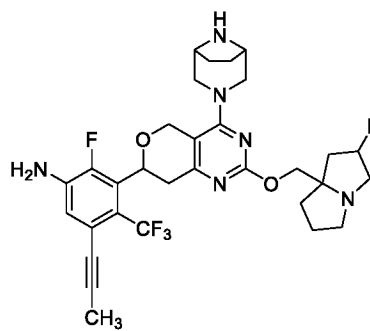
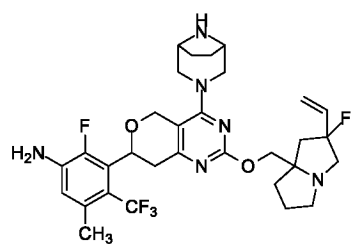
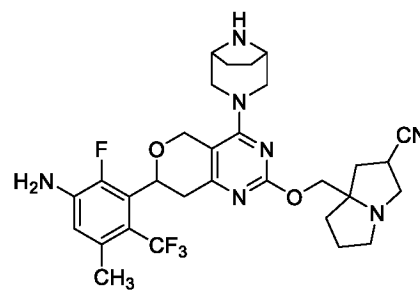
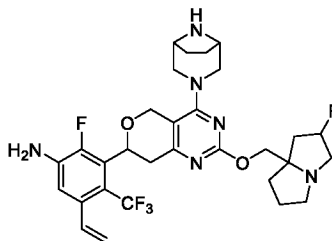
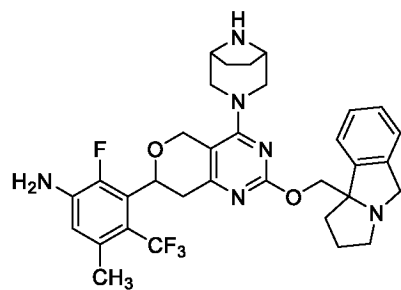
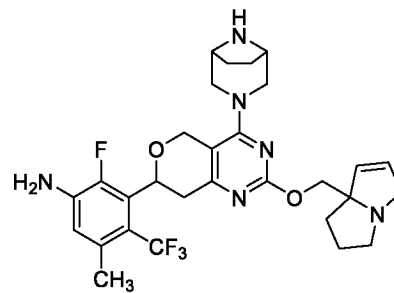
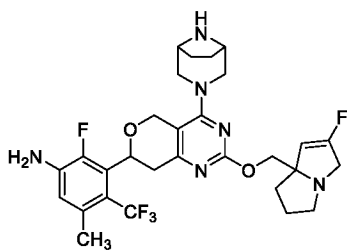
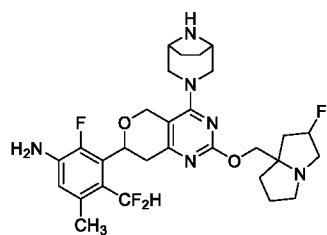
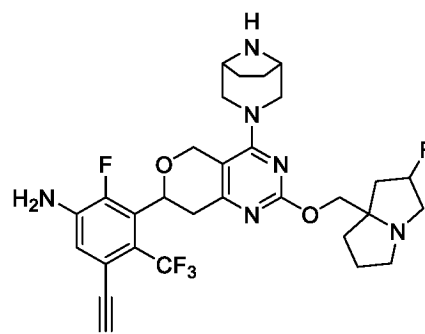
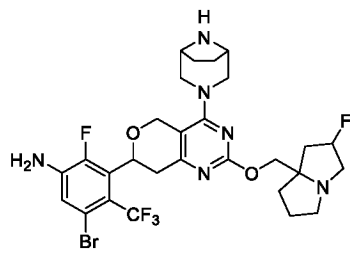
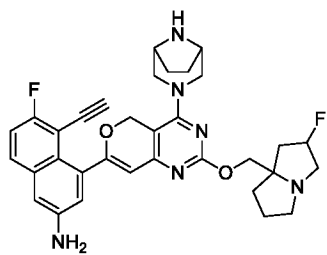
[00206] В Примере 8 настоящего изобретения, соединение 1-11В анализировали методом SFC (хроматографическая колонка: (S,S)Whelk-O1 100×4.6мм ID, 5.0мкм; подвижная фаза: А: сверхкритический CO₂, В: [75% изопропанол/25% ацетонитрил/0.05% диэтиламин]; В%: 50% - 50%, скорость потока: 2.5 мл/мин), время удерживания составило 3.317 мин, и время удерживания его энантиомера составило 2.536 мин. Гидрохлорид соединения 8 синтезировали из 1-11В по стадиям, описанным в Примере 8.

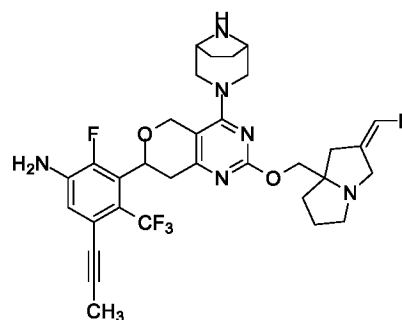
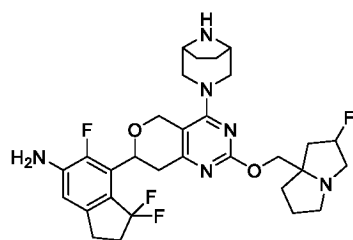
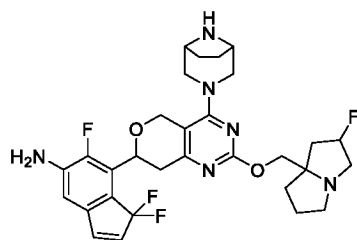
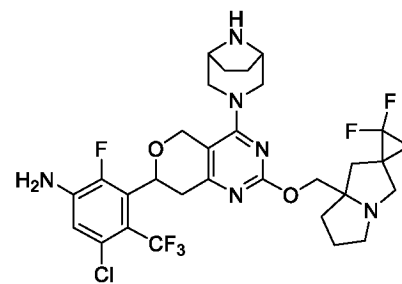
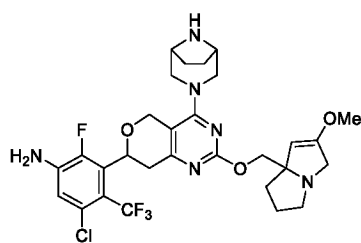
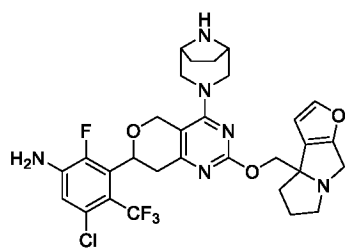
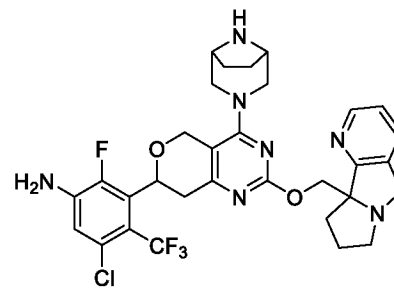
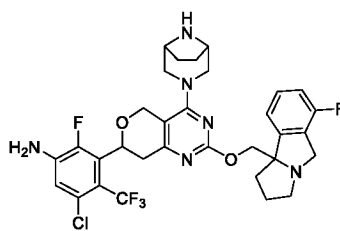
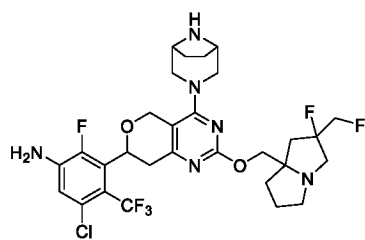
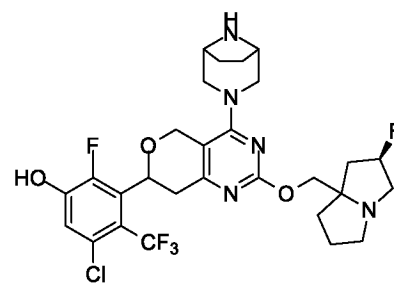
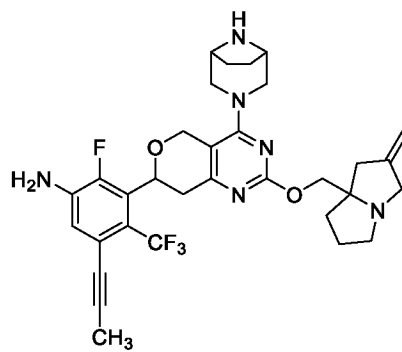
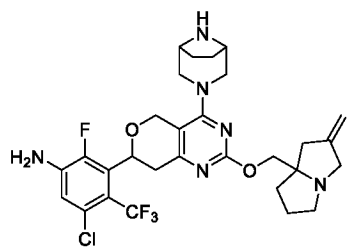
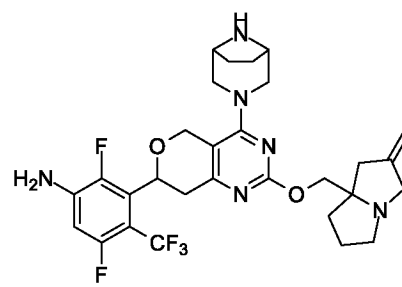
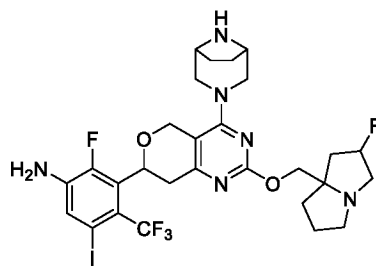
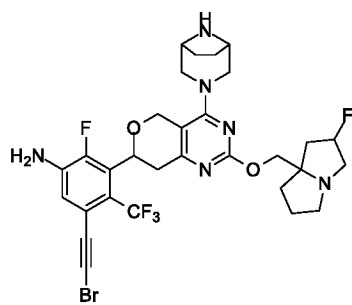
[00207] Некоторые другие решения по настоящему изобретению достигнуты посредством комбинирования описанных выше переменных.

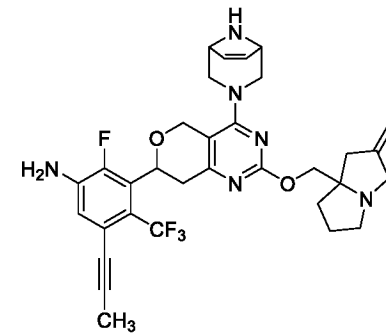
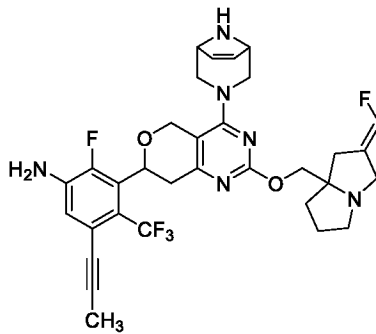
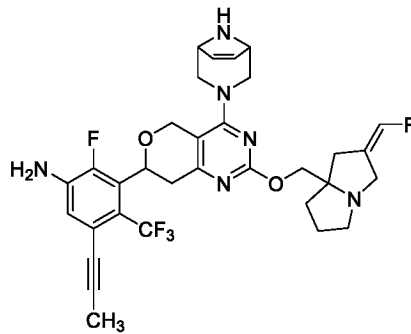
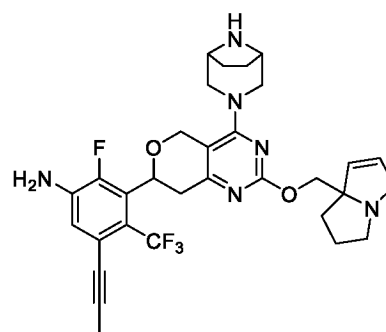
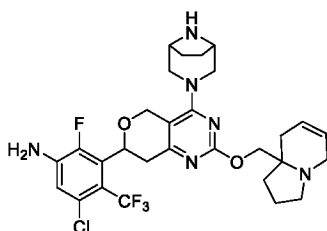
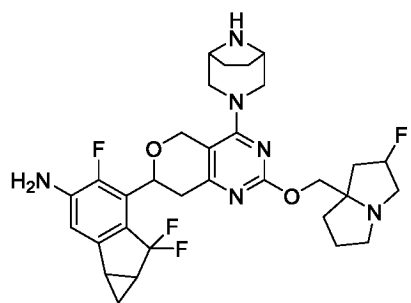
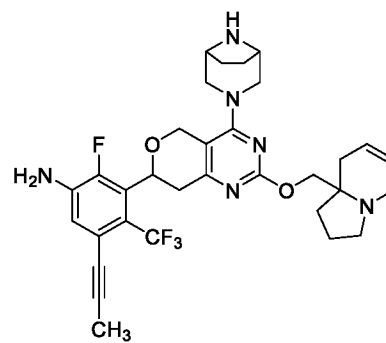
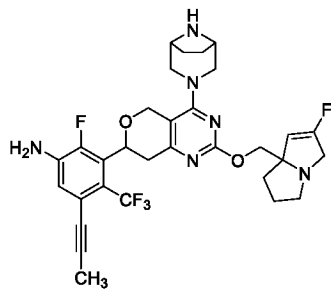
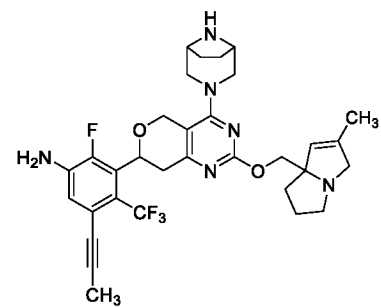
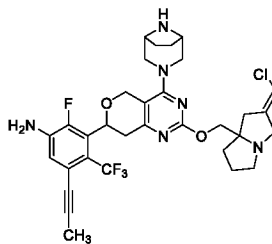
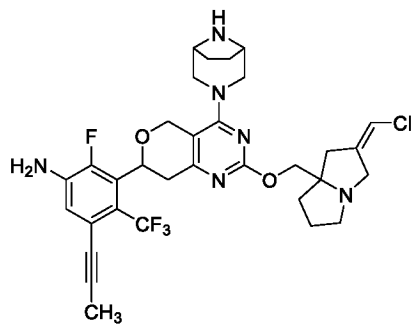
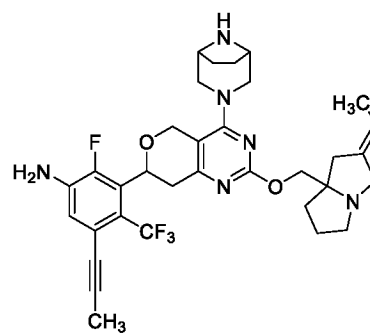
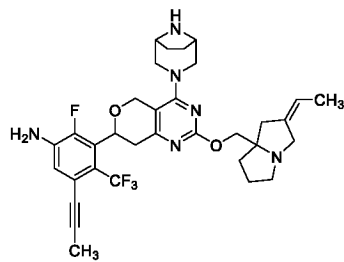
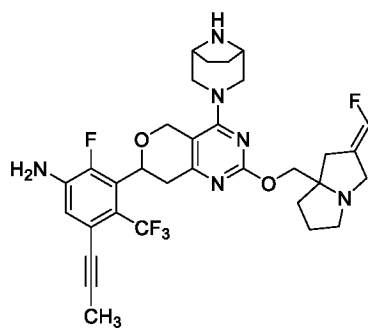
[00208] В настоящем изобретении описано соединение, имеющее изображенную ниже формулу, или его фармацевтически приемлемая соль:

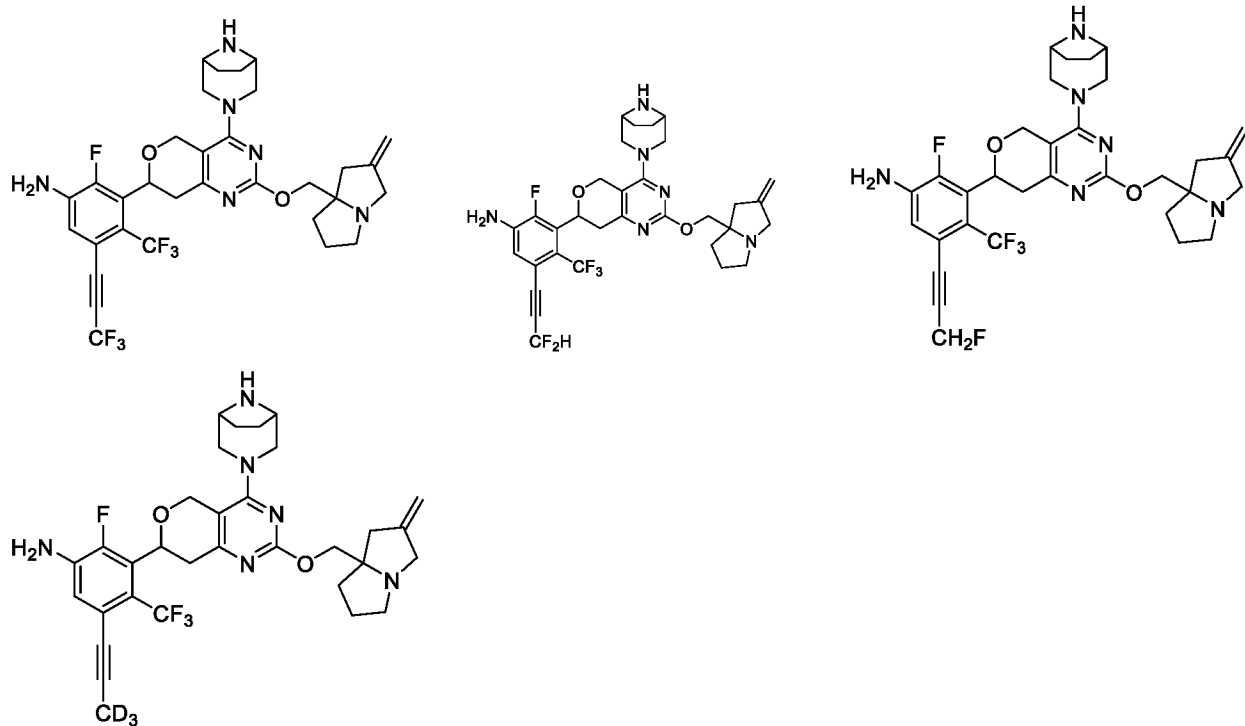




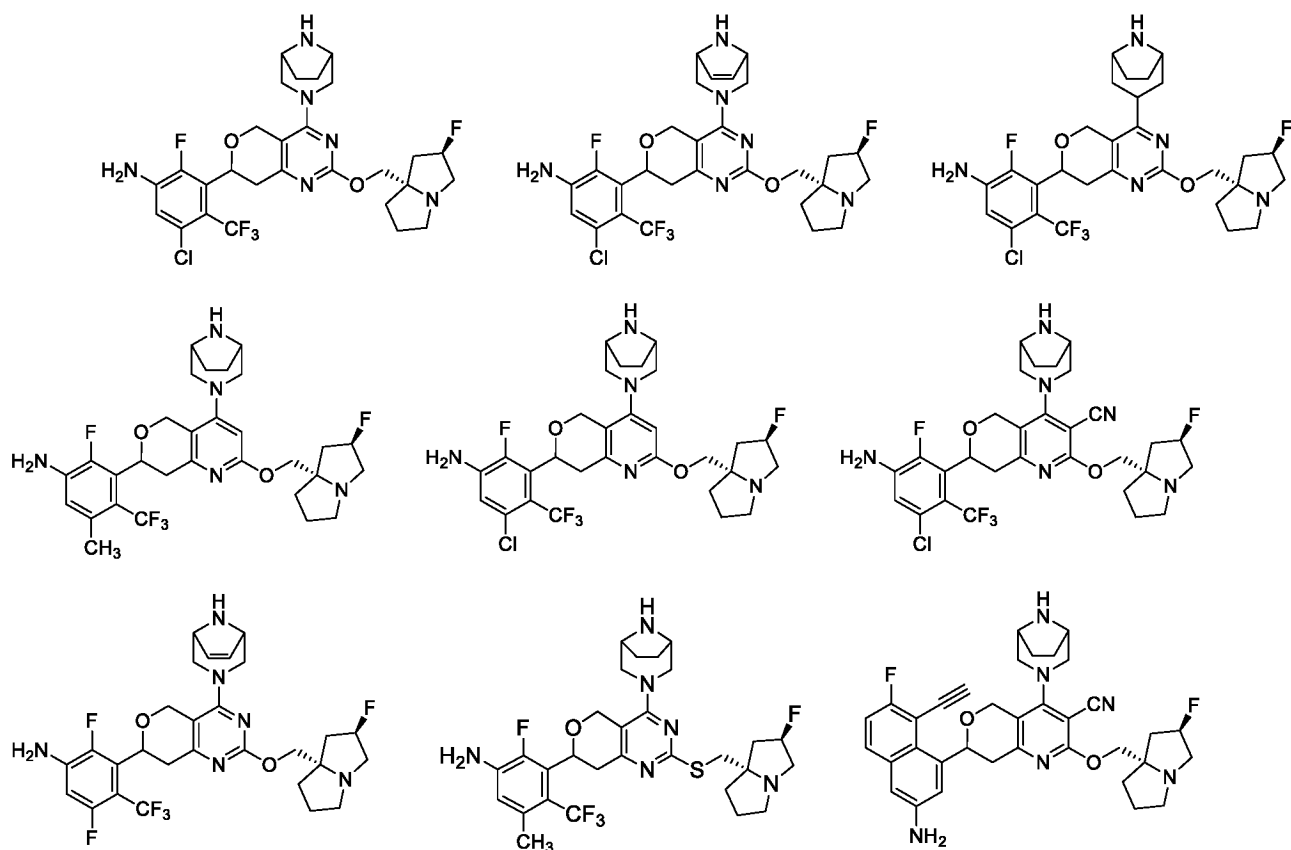


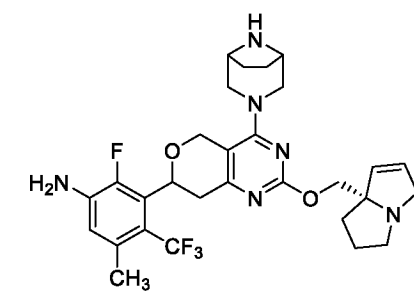
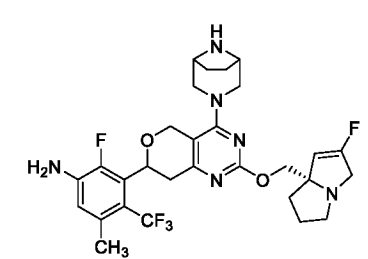
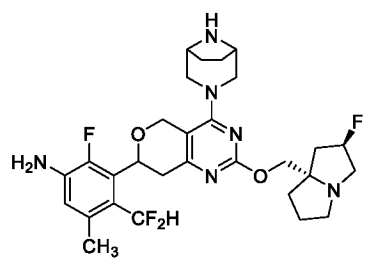
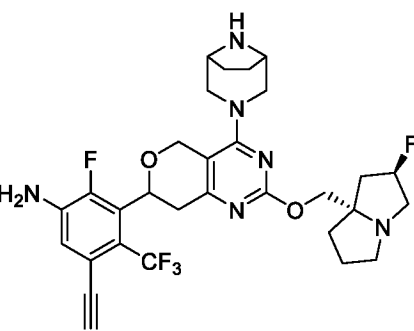
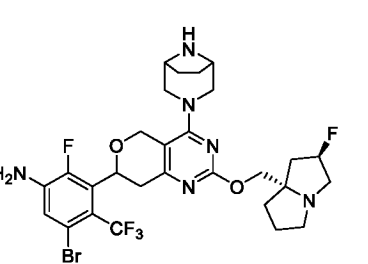
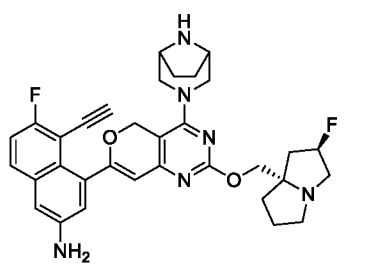
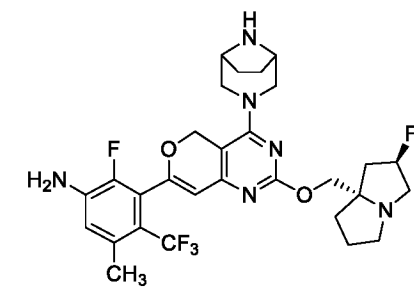
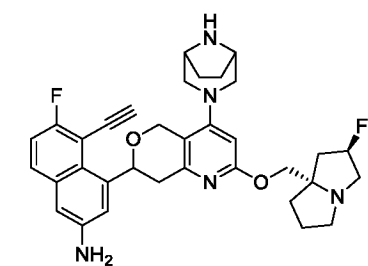
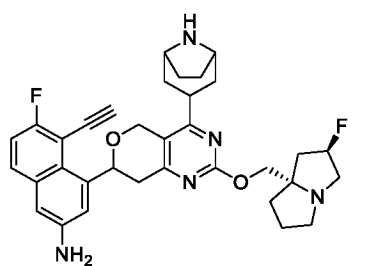
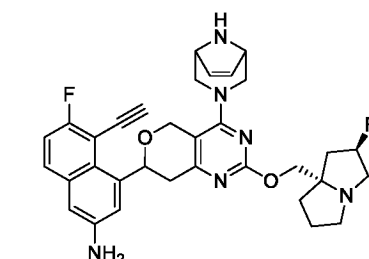
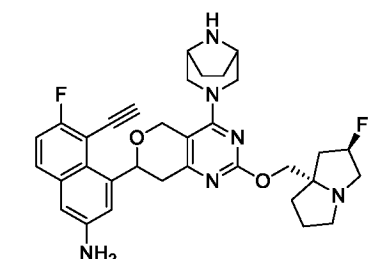
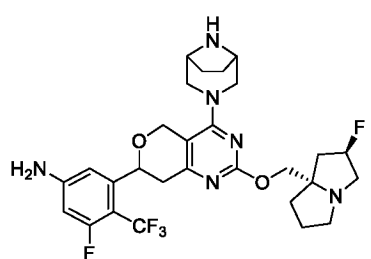
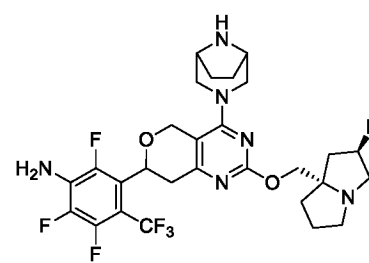
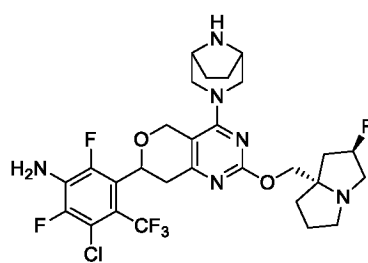
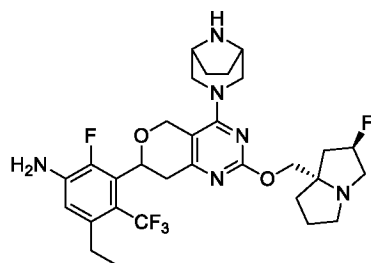
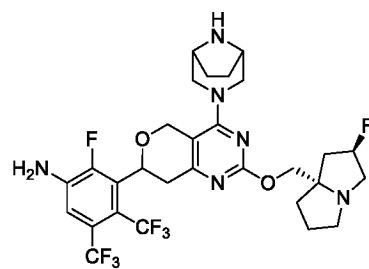
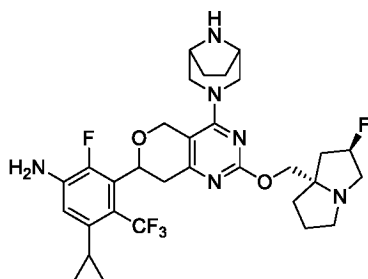
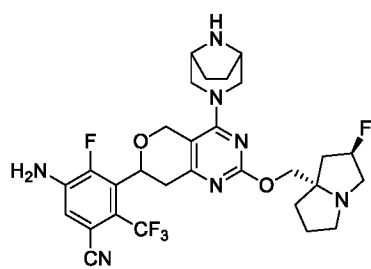


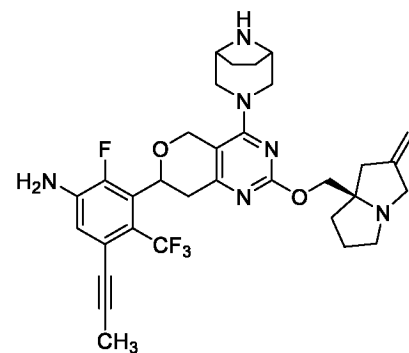
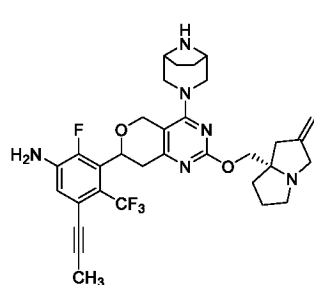
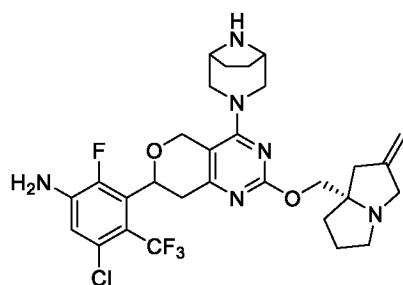
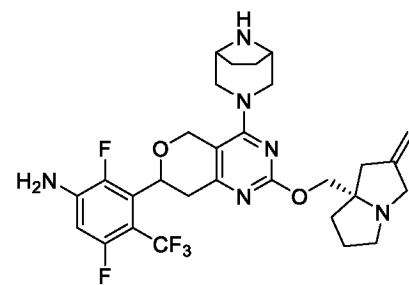
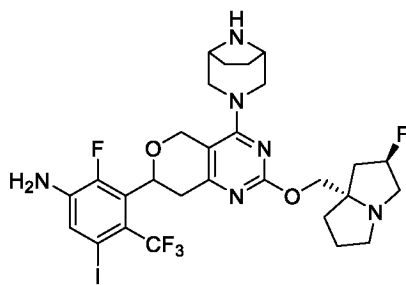
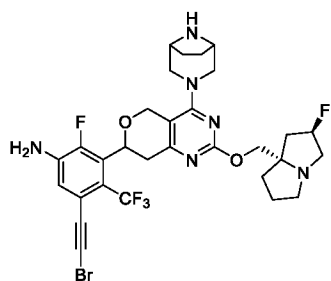
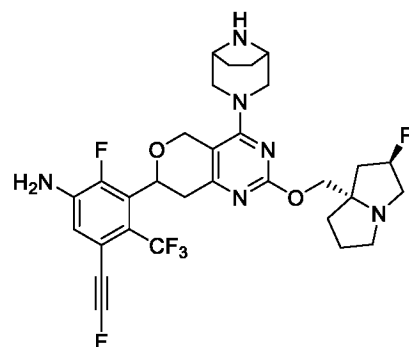
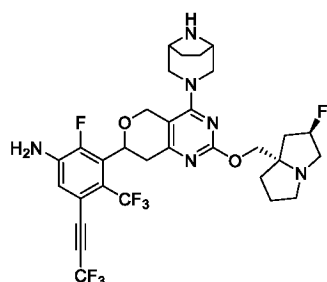
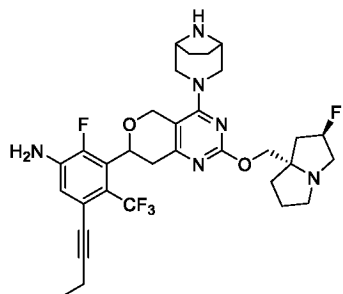
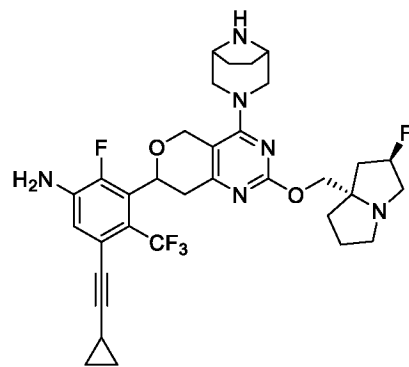
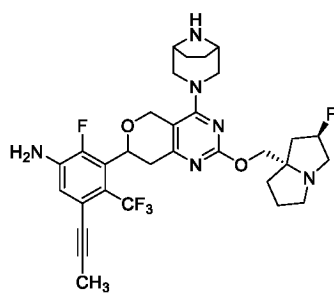
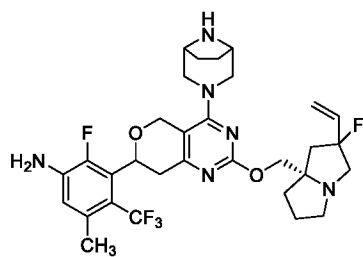
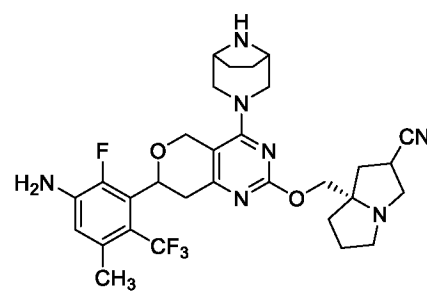
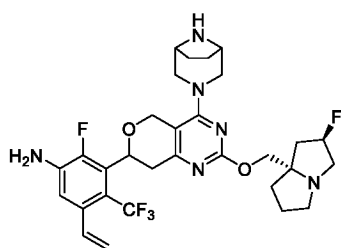
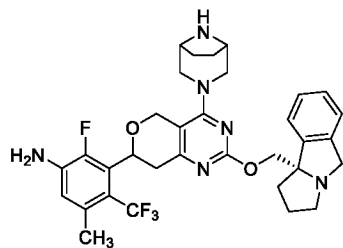


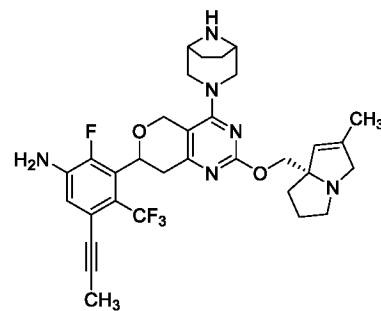
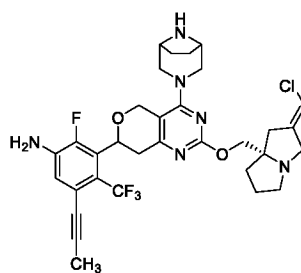
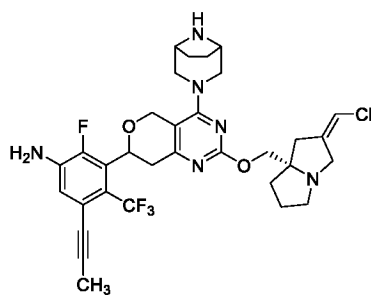
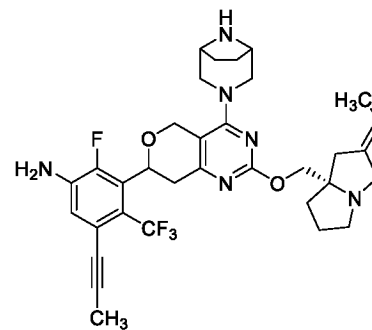
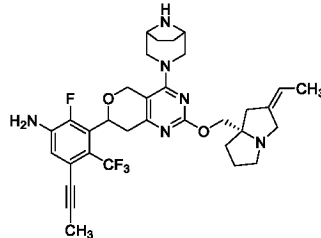
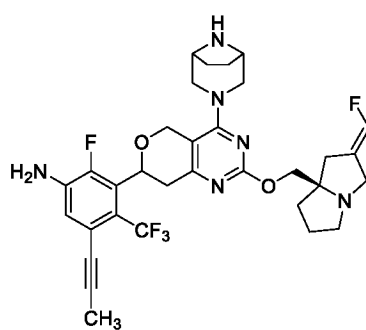
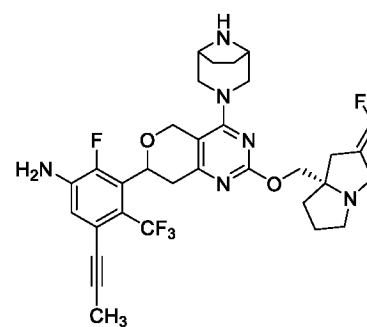
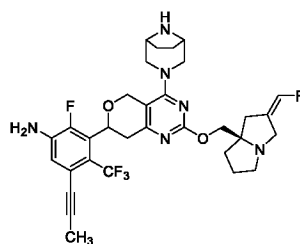
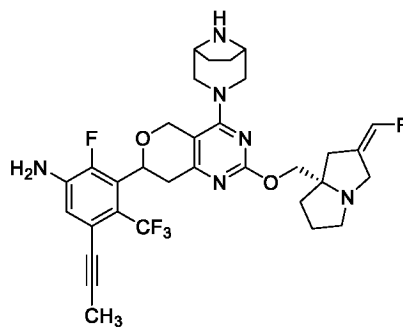
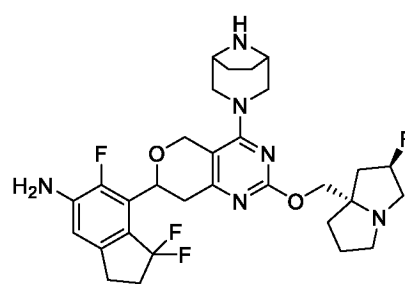
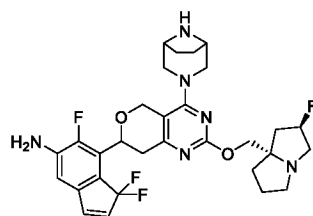
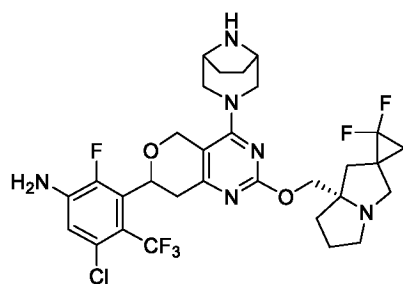
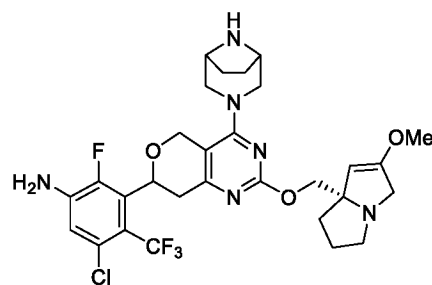
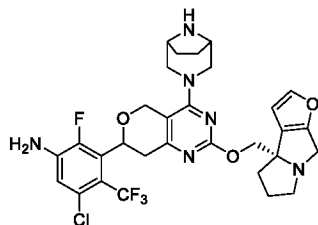
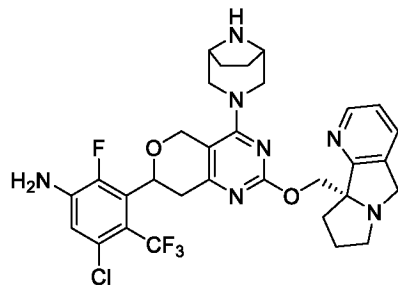
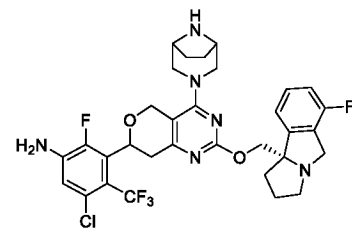
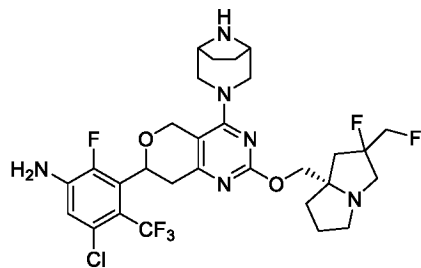
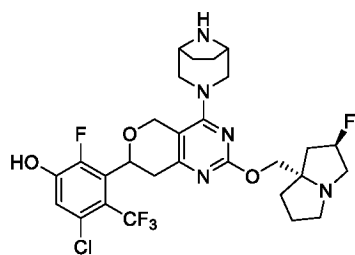


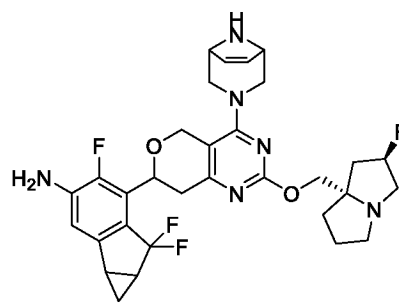
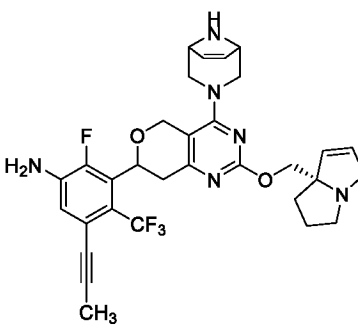
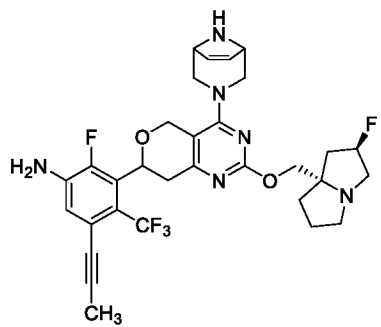
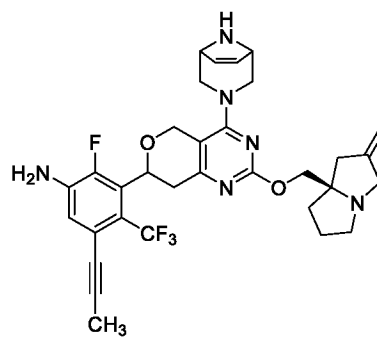
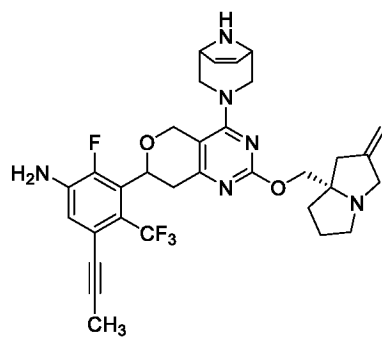
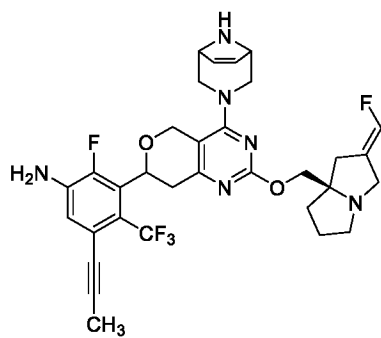
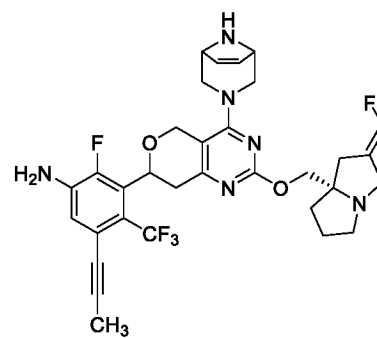
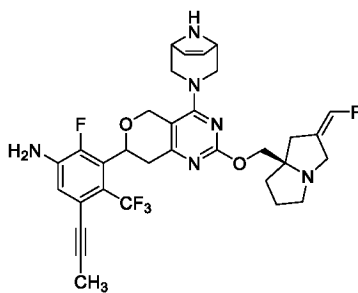
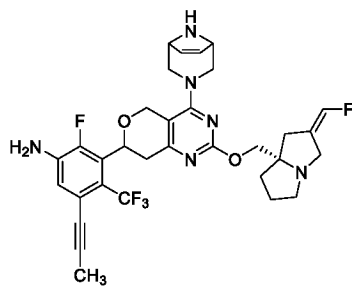
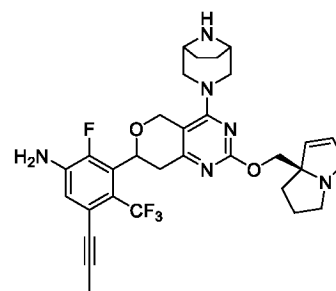
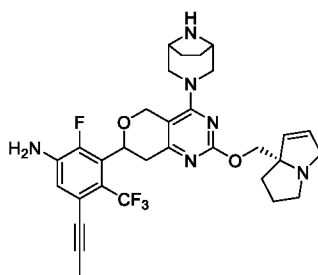
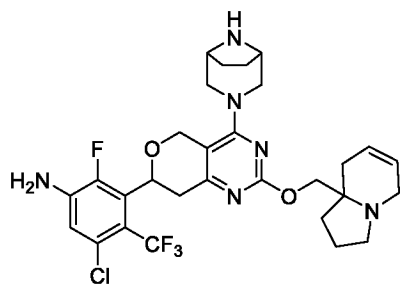
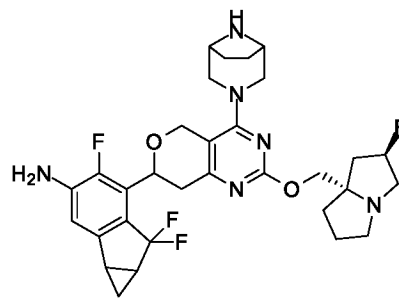
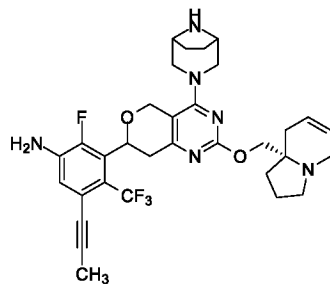
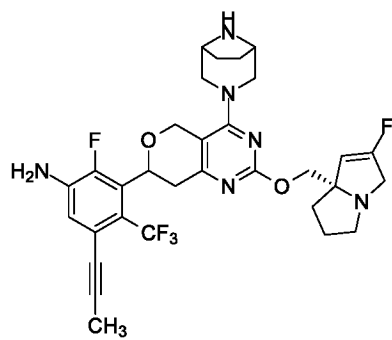
[00209] В настоящем изобретении описано соединение, имеющее изображенную ниже формулу, или его фармацевтически приемлемая соль:

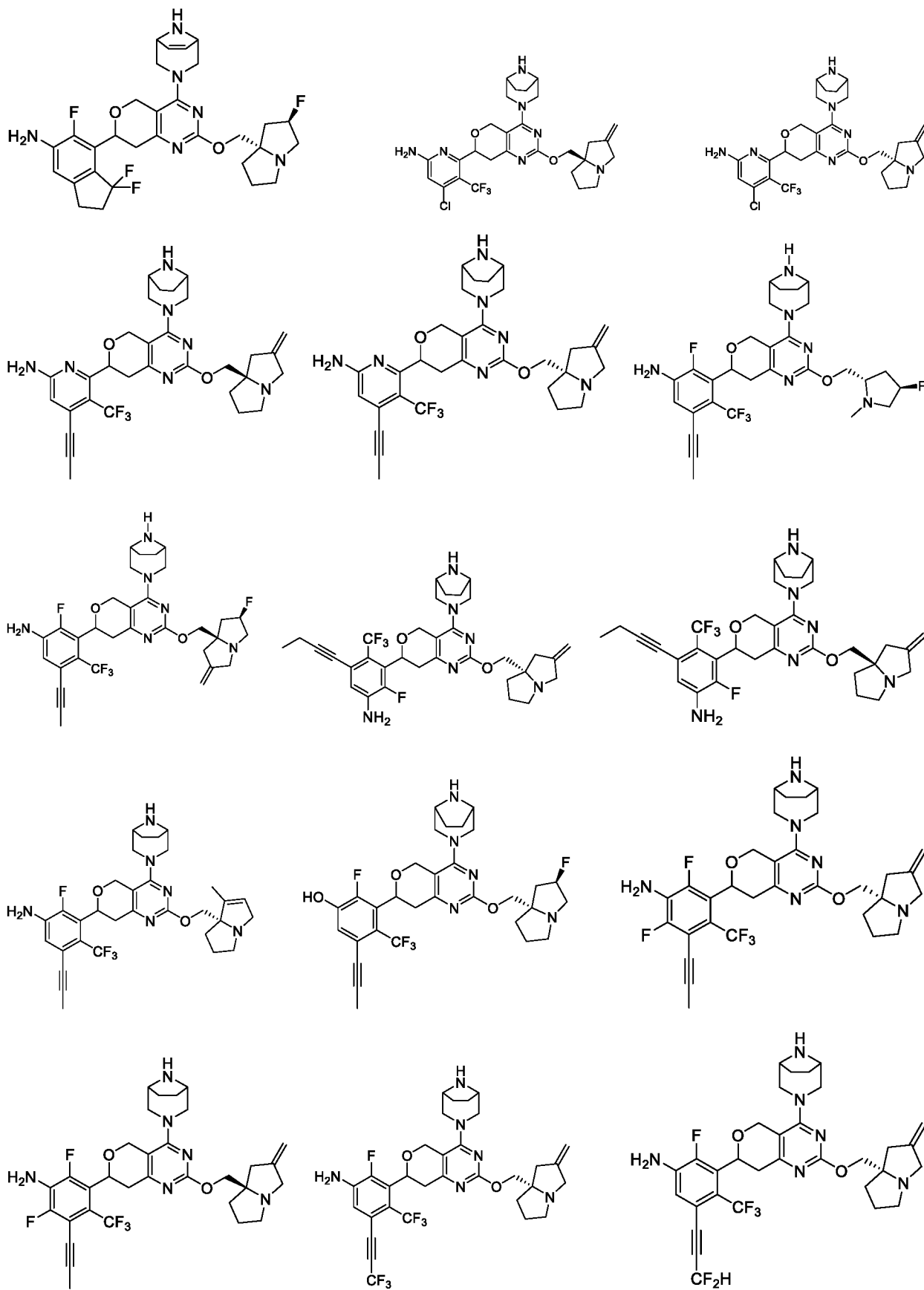


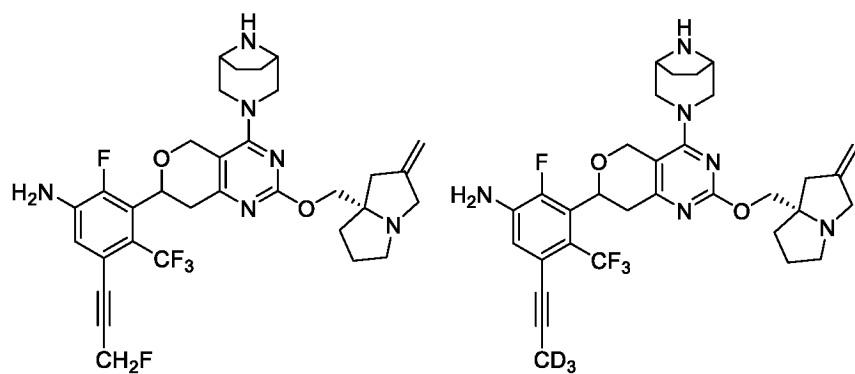




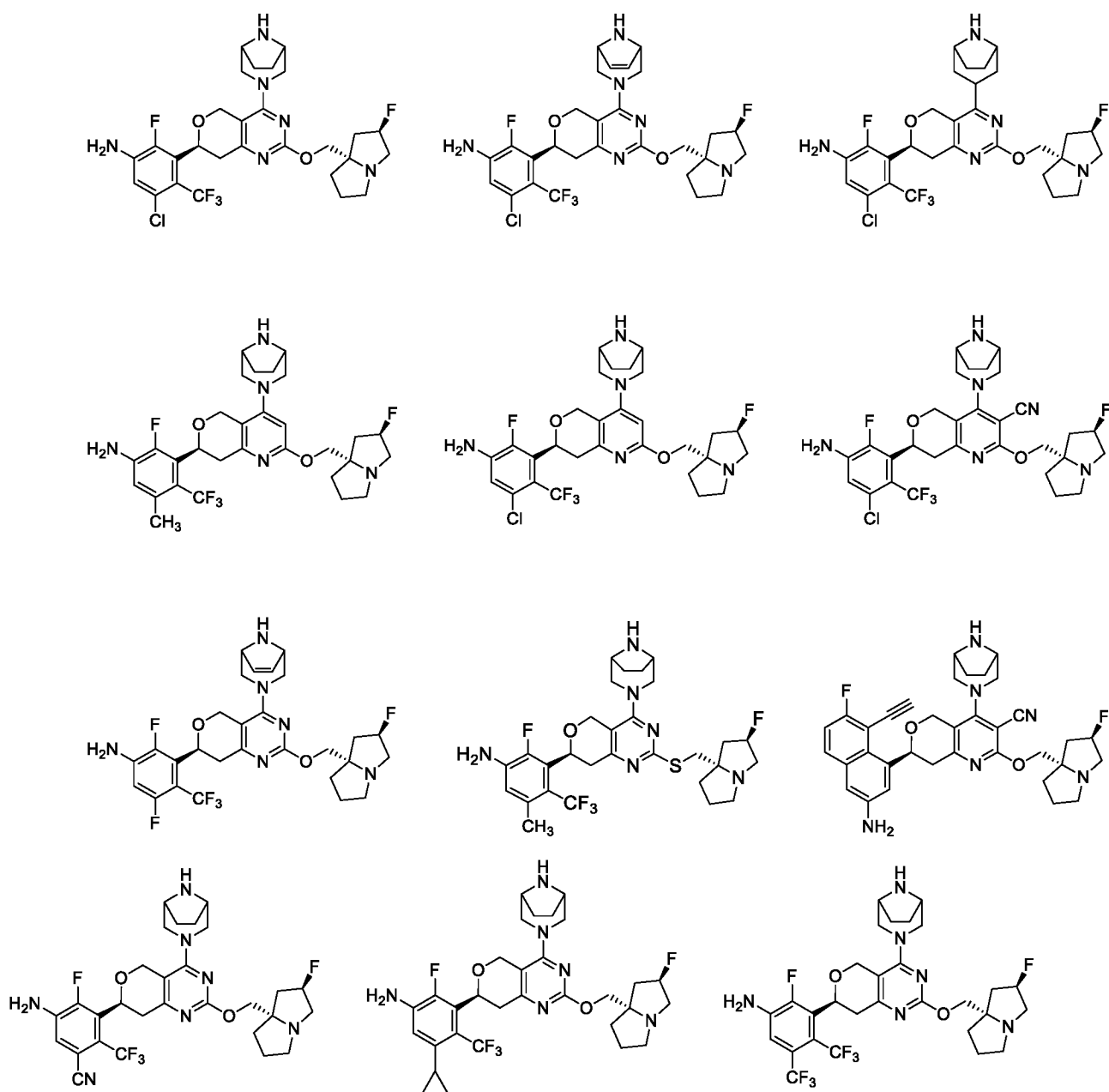


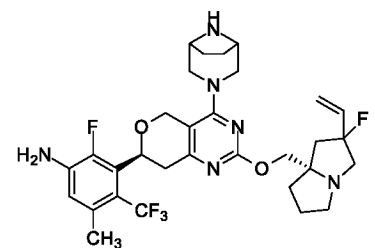
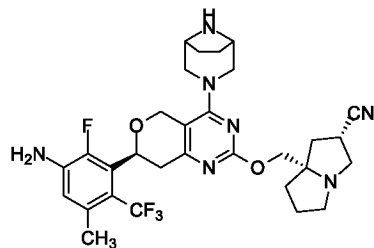
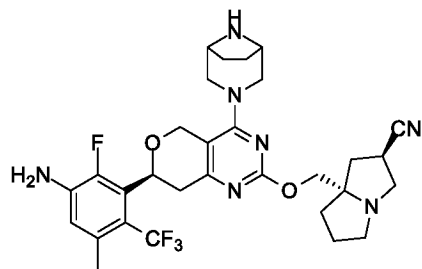
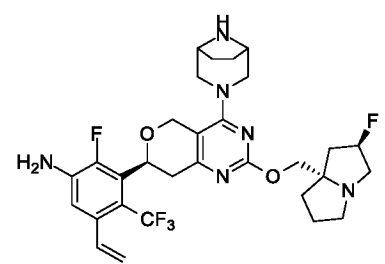
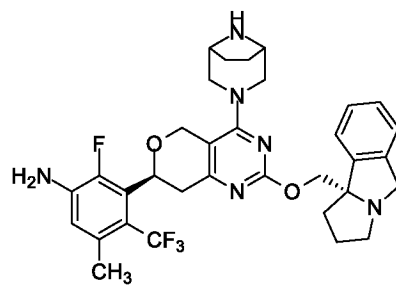
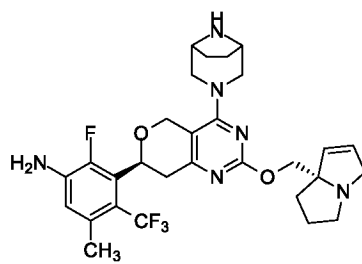
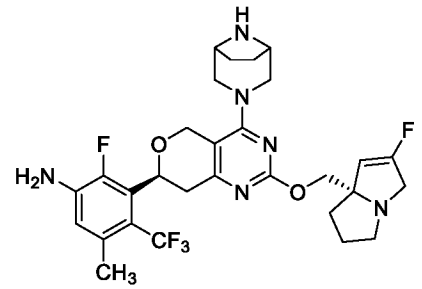
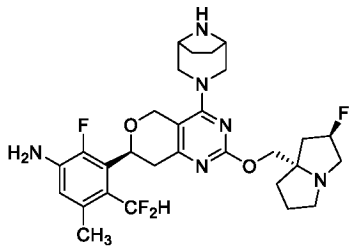
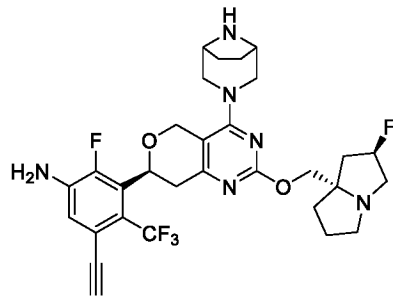
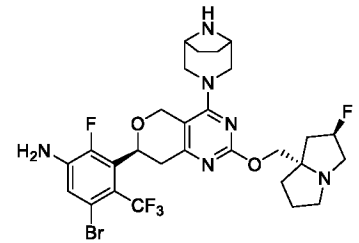
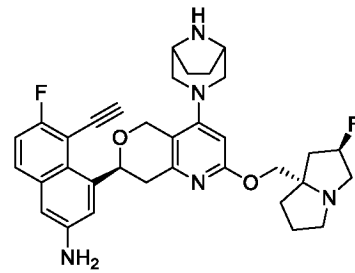
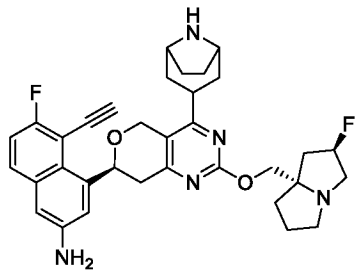
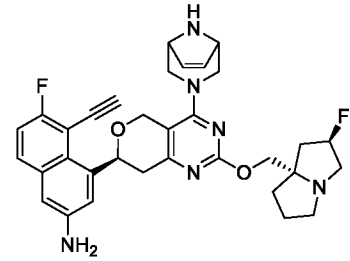
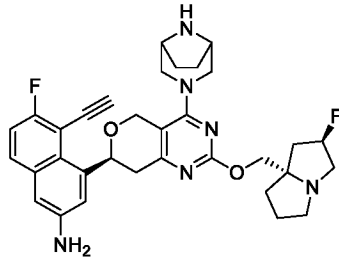
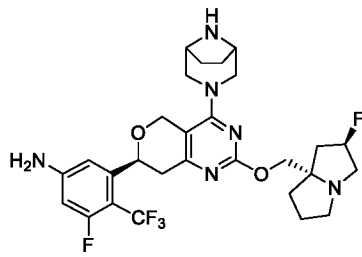
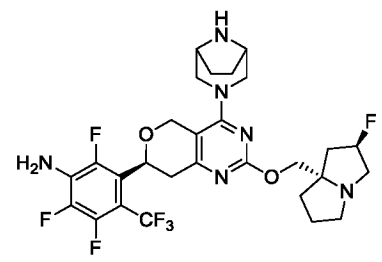
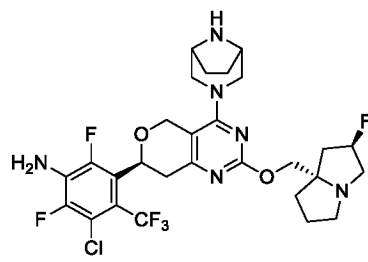
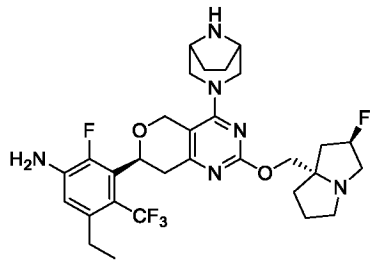


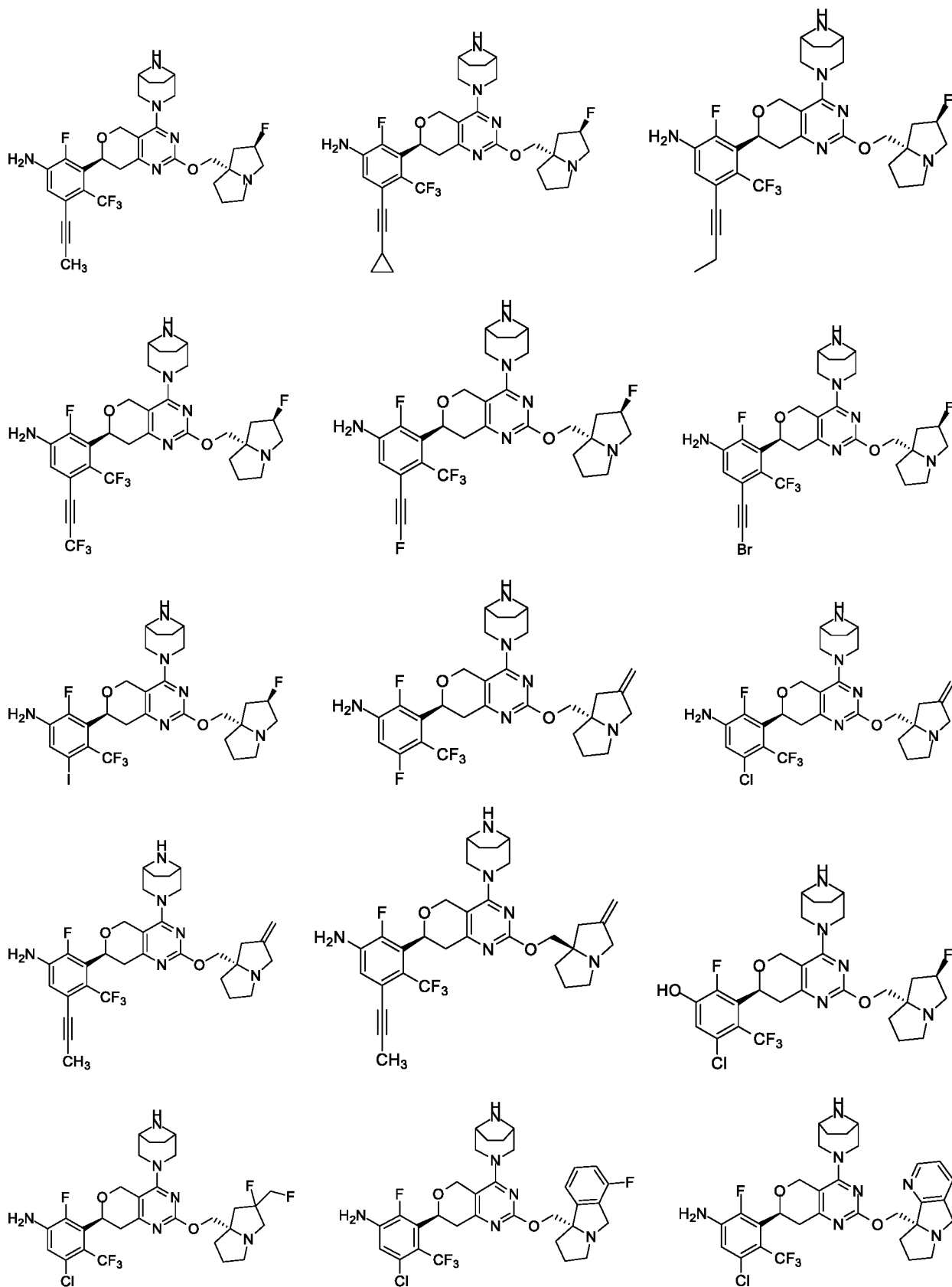


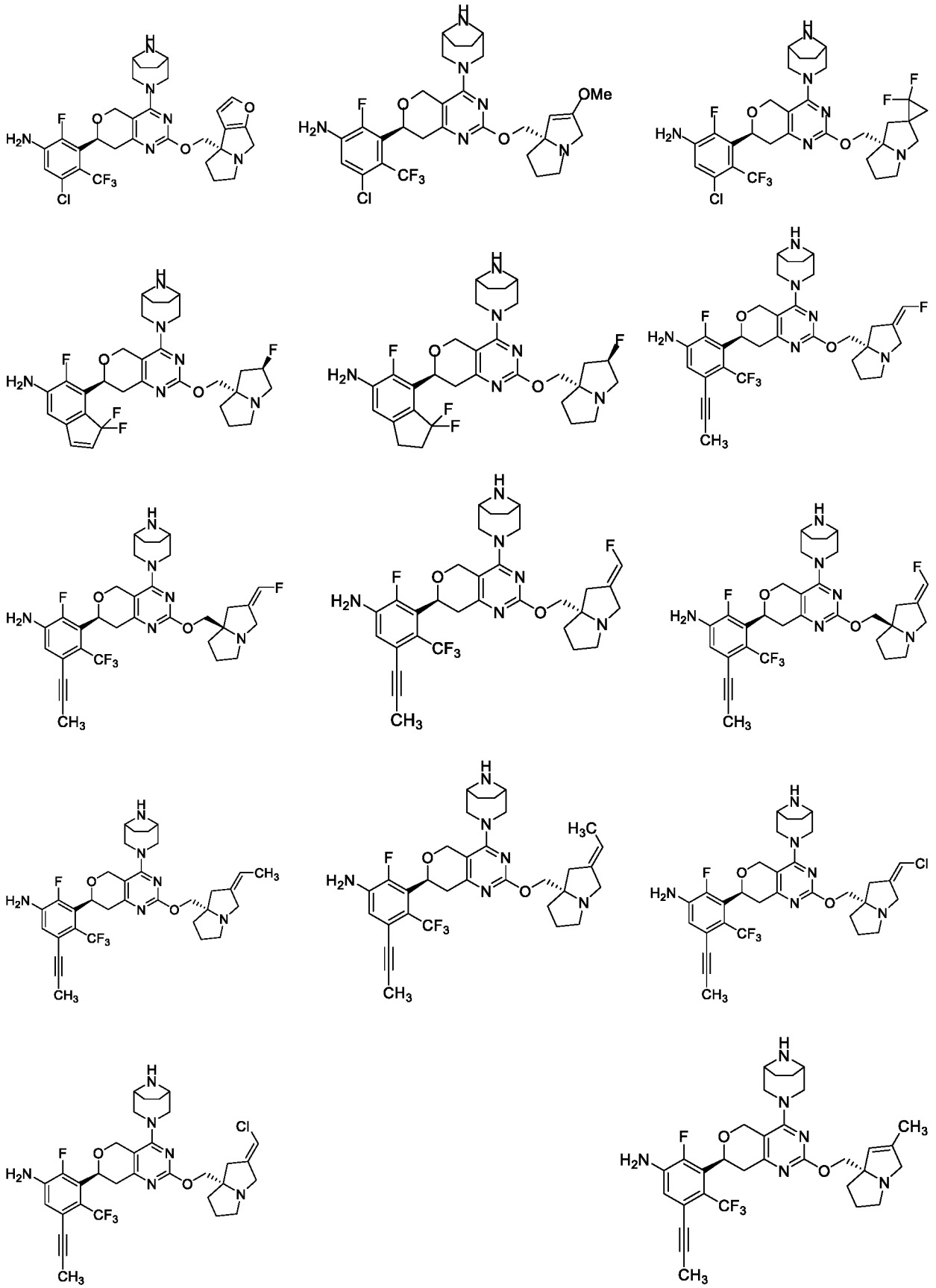


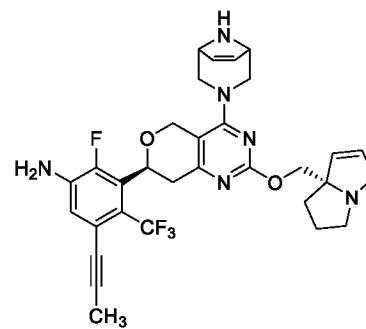
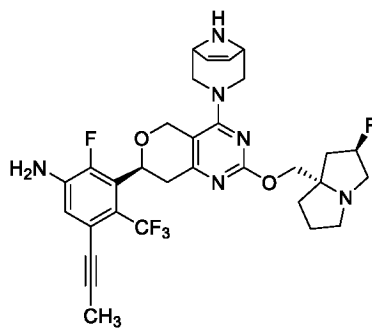
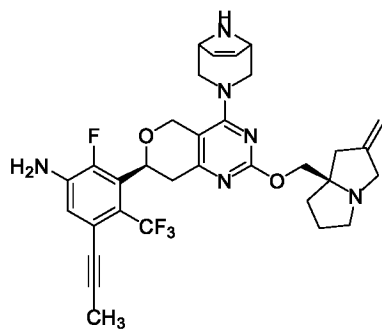
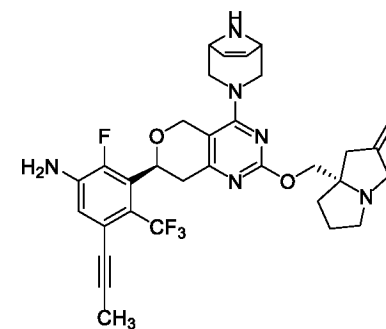
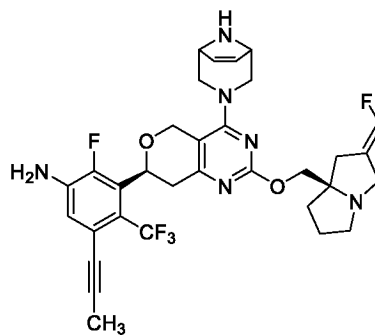
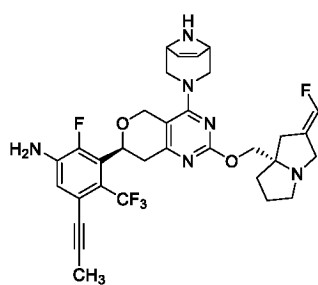
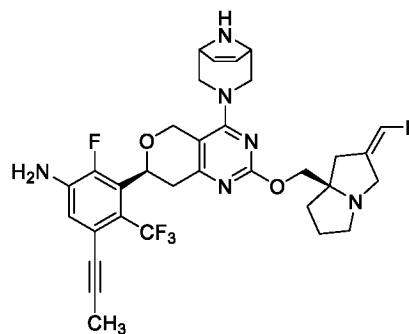
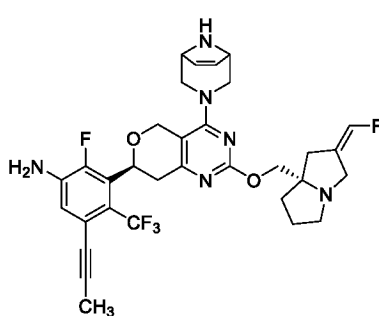
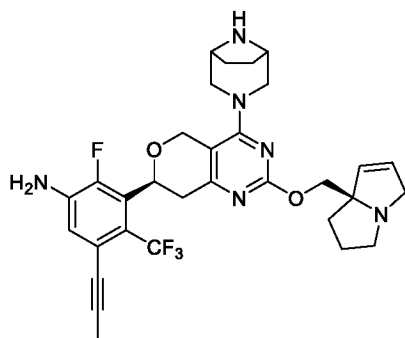
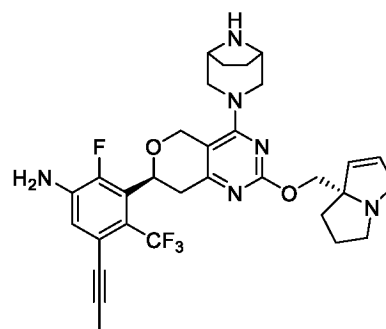
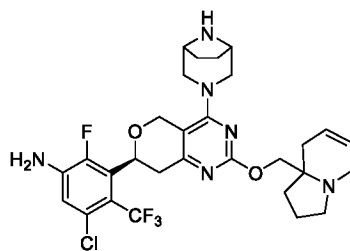
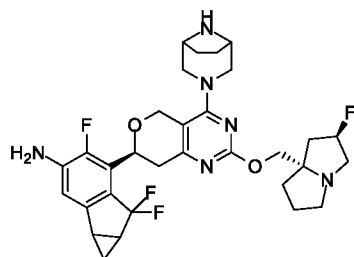
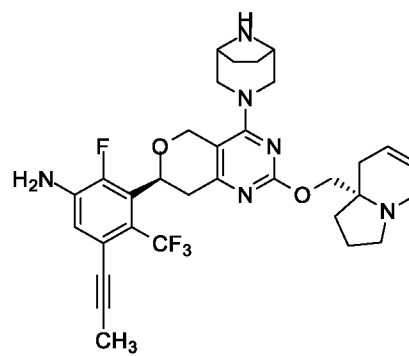
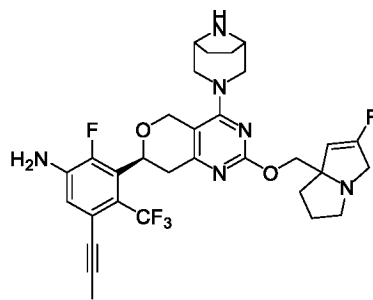
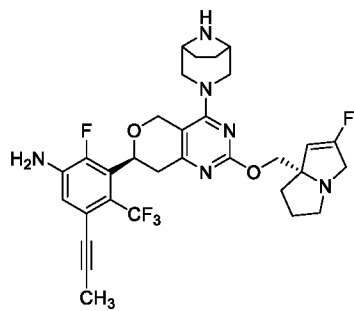
[00210] В настоящем изобретении описано соединение, имеющее изображенную ниже формулу, или его фармацевтически приемлемая соль:

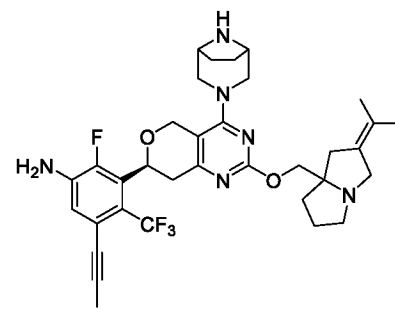
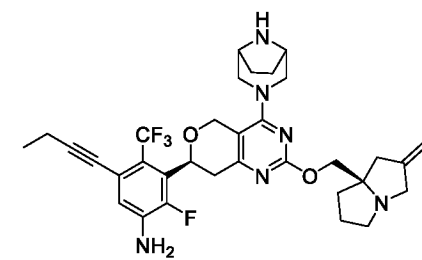
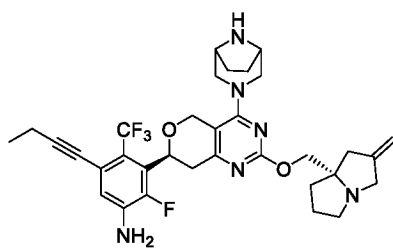
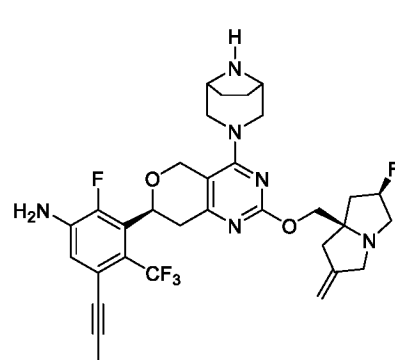
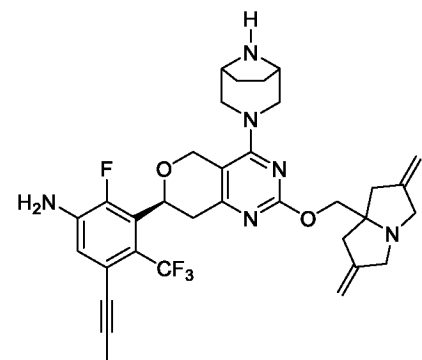
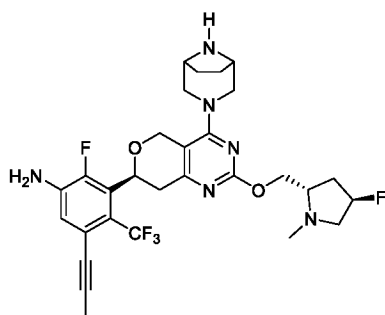
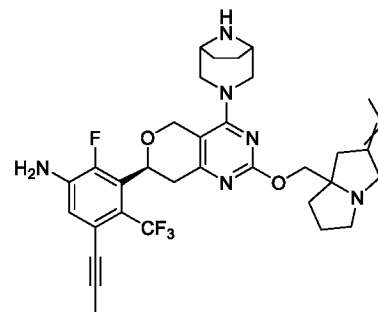
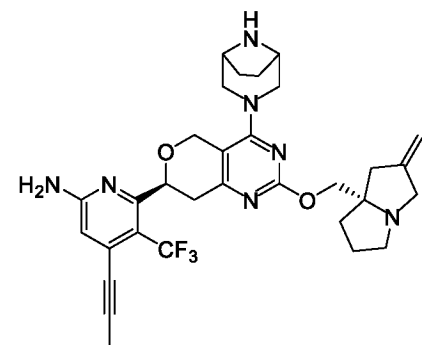
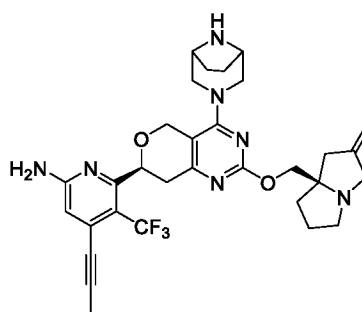
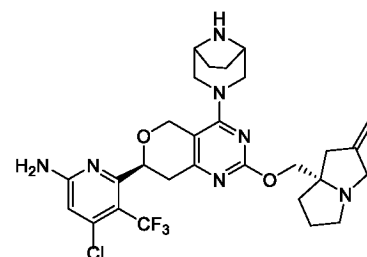
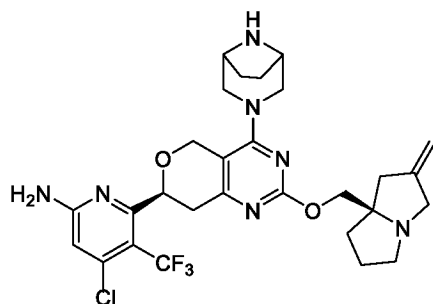
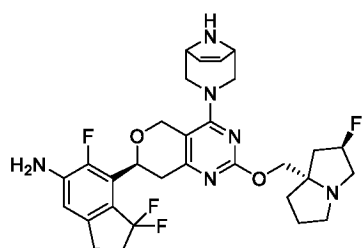
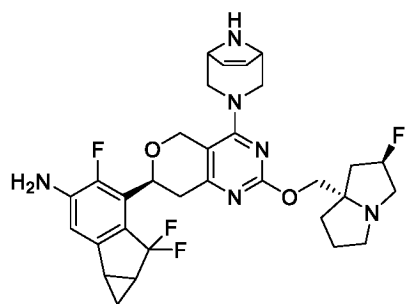


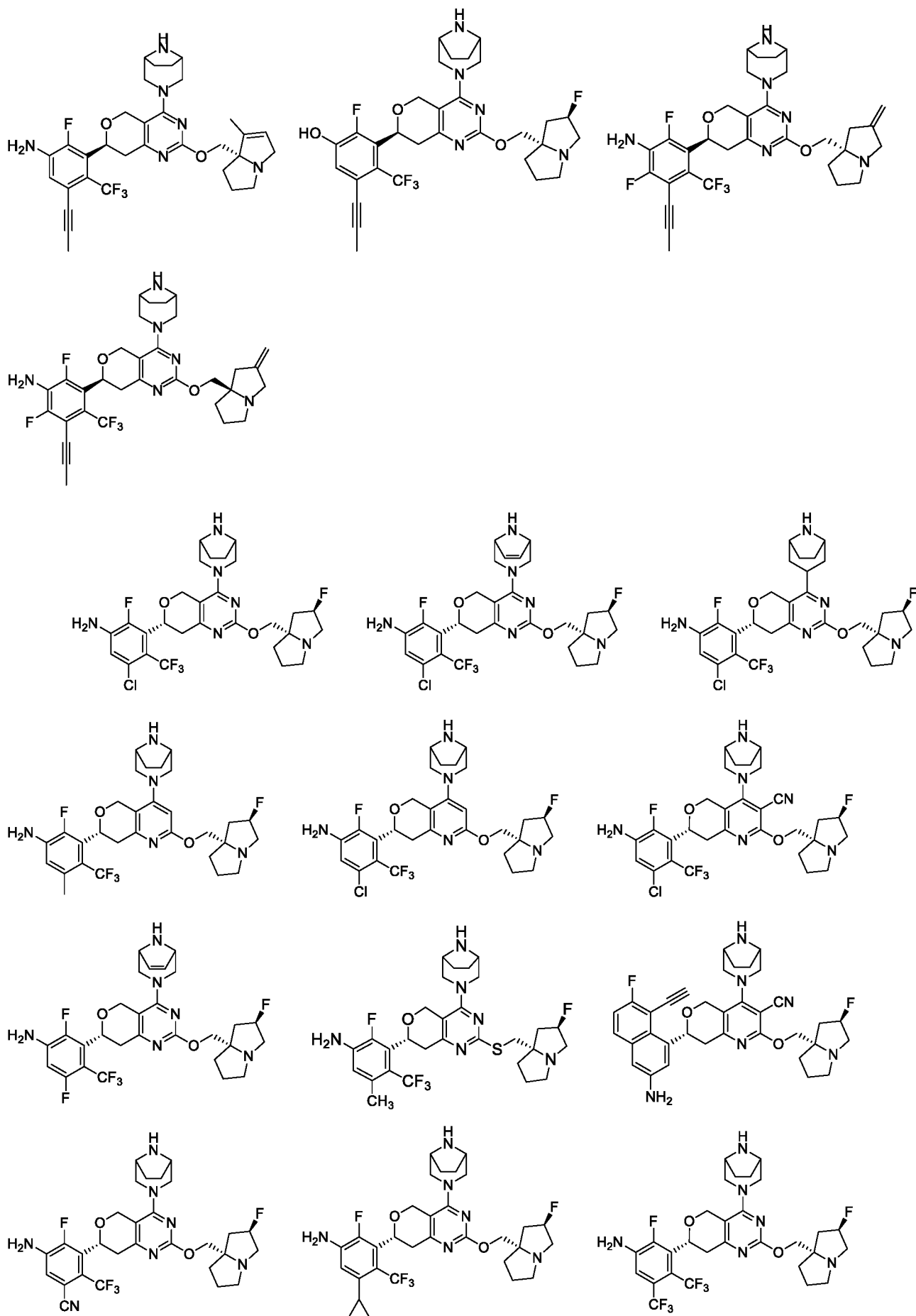


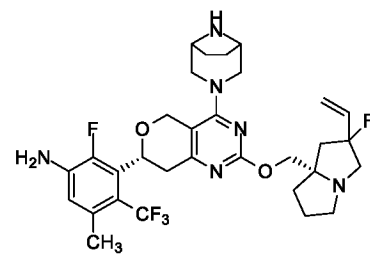
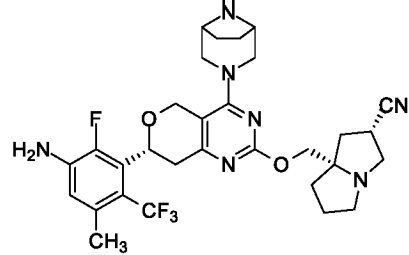
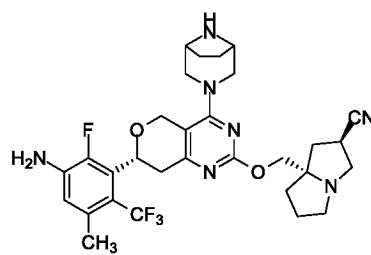
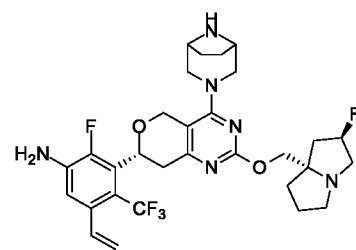
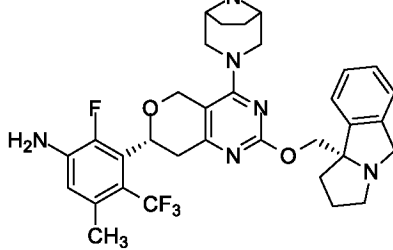
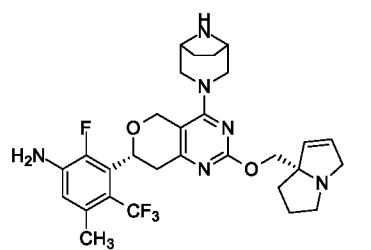
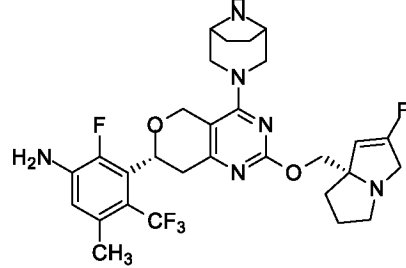
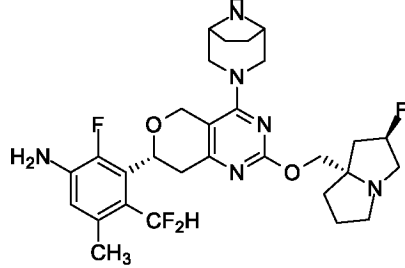
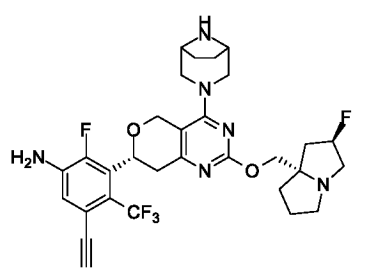
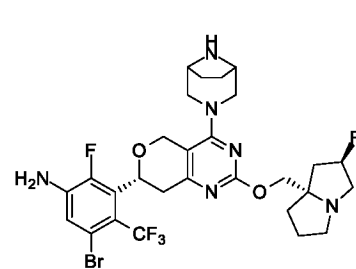
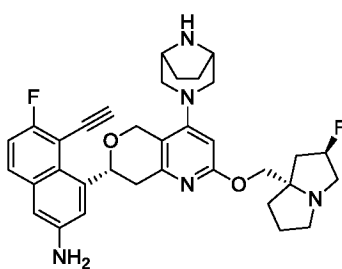
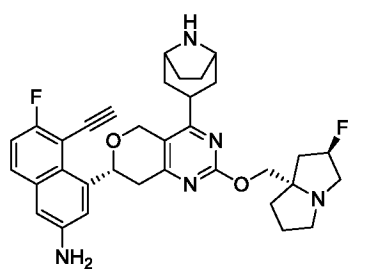
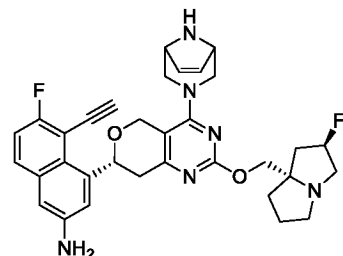
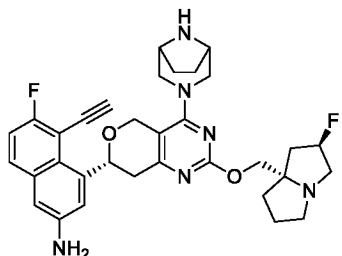
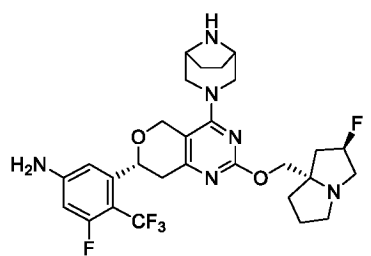
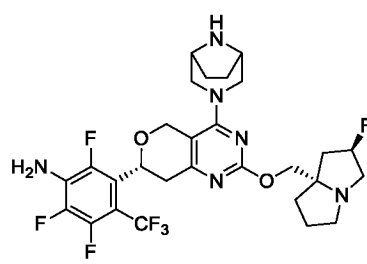
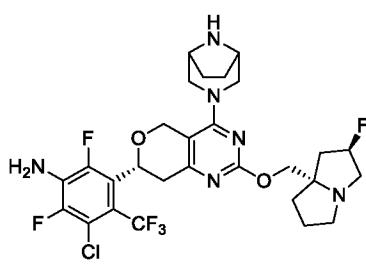
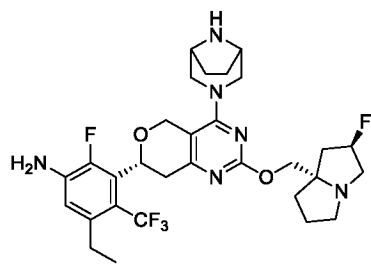


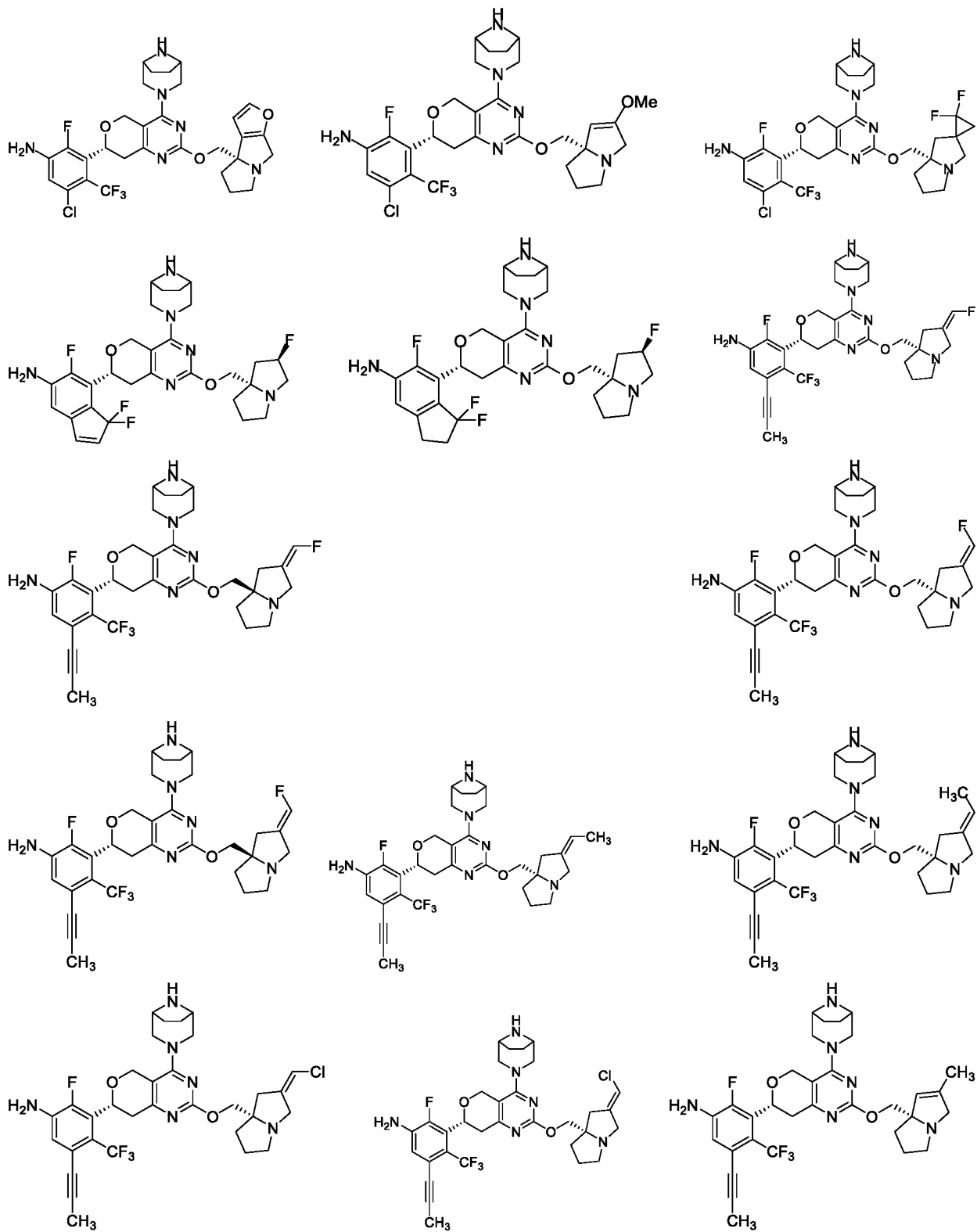


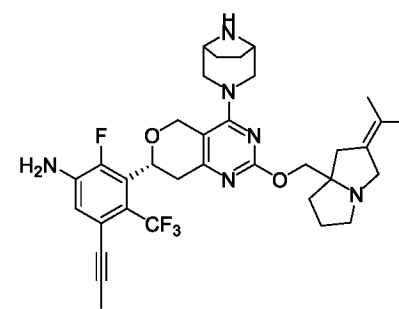
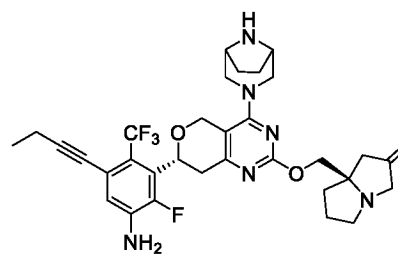
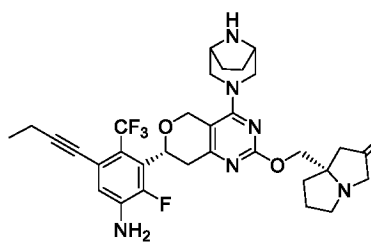
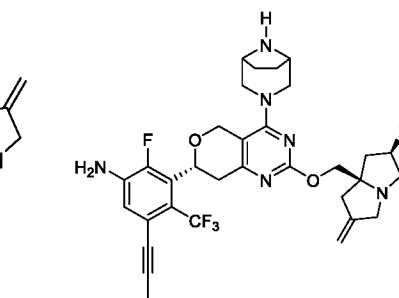
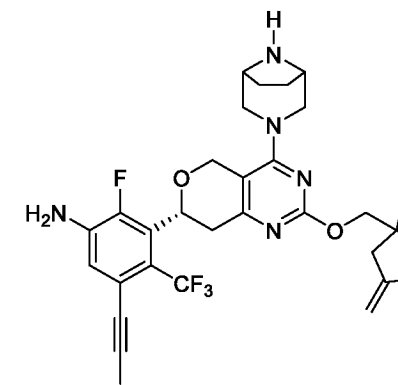
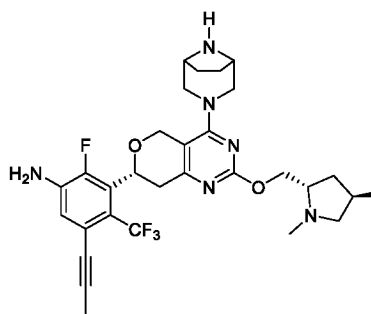
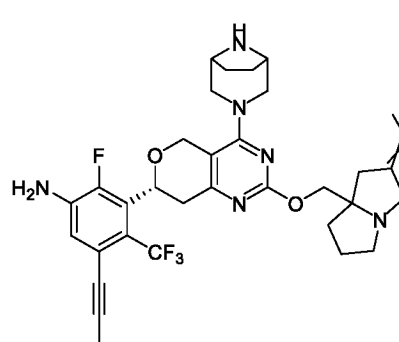
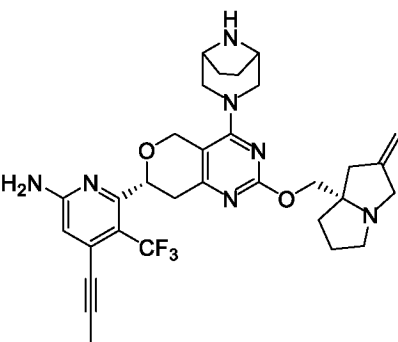
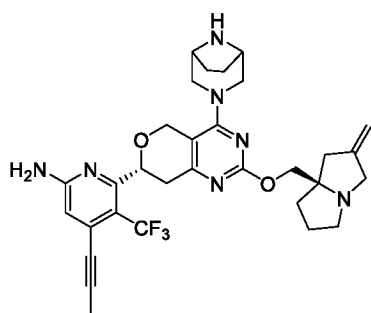
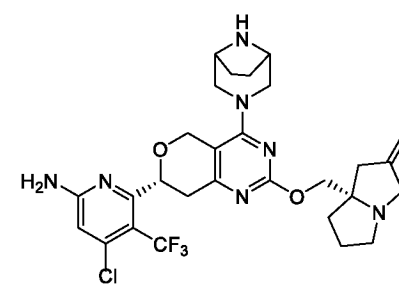
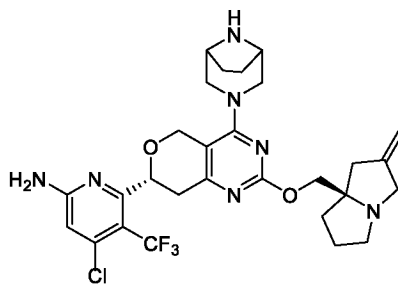
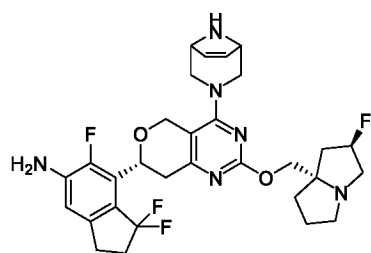
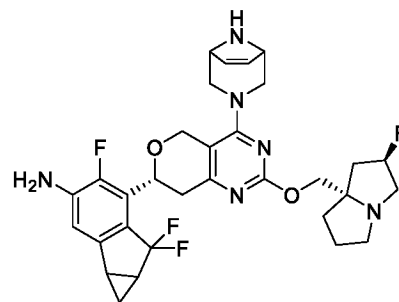
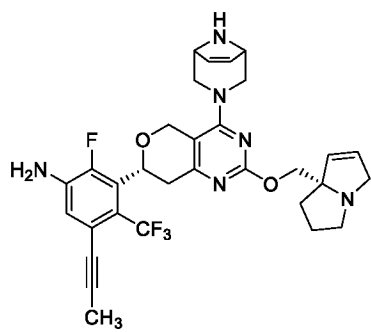


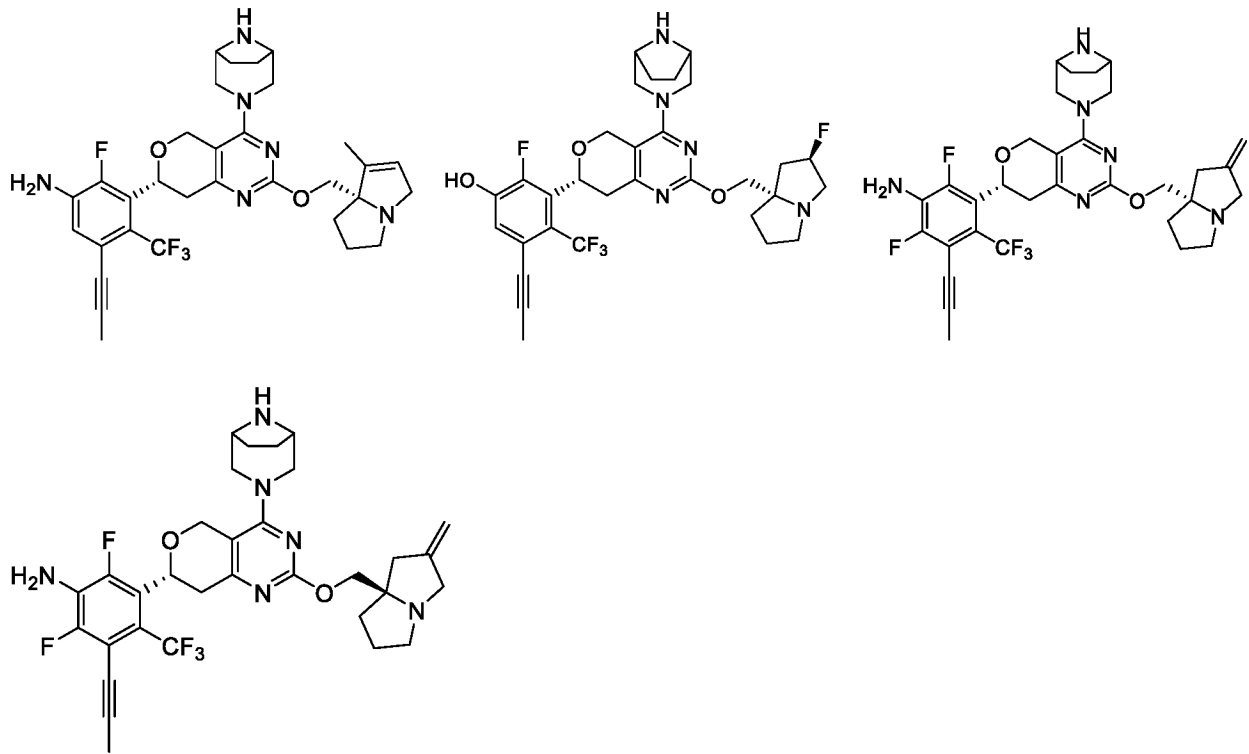










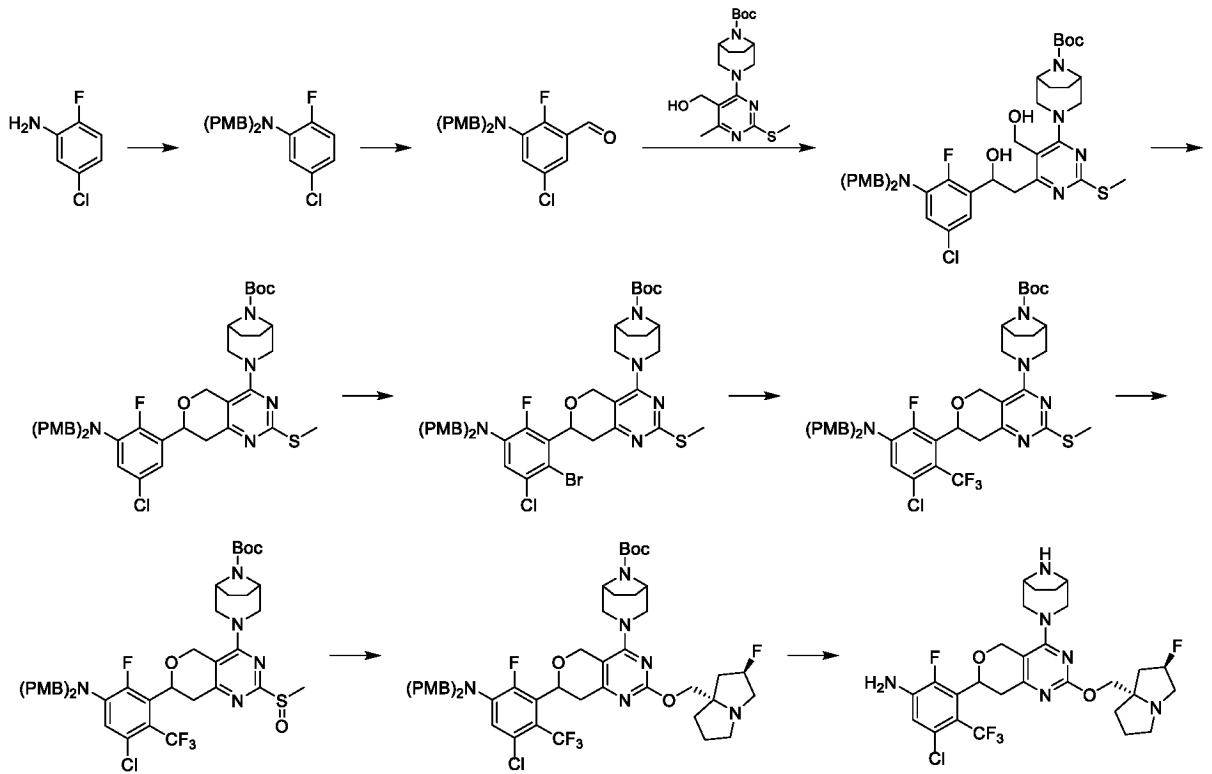


[00211] В настоящем изобретении также описано применение указанного выше соединения или его фармацевтически приемлемой соли в производстве лекарственного средства для лечения заболевания, ассоциированного с KRAS^{G12D} мутацией.

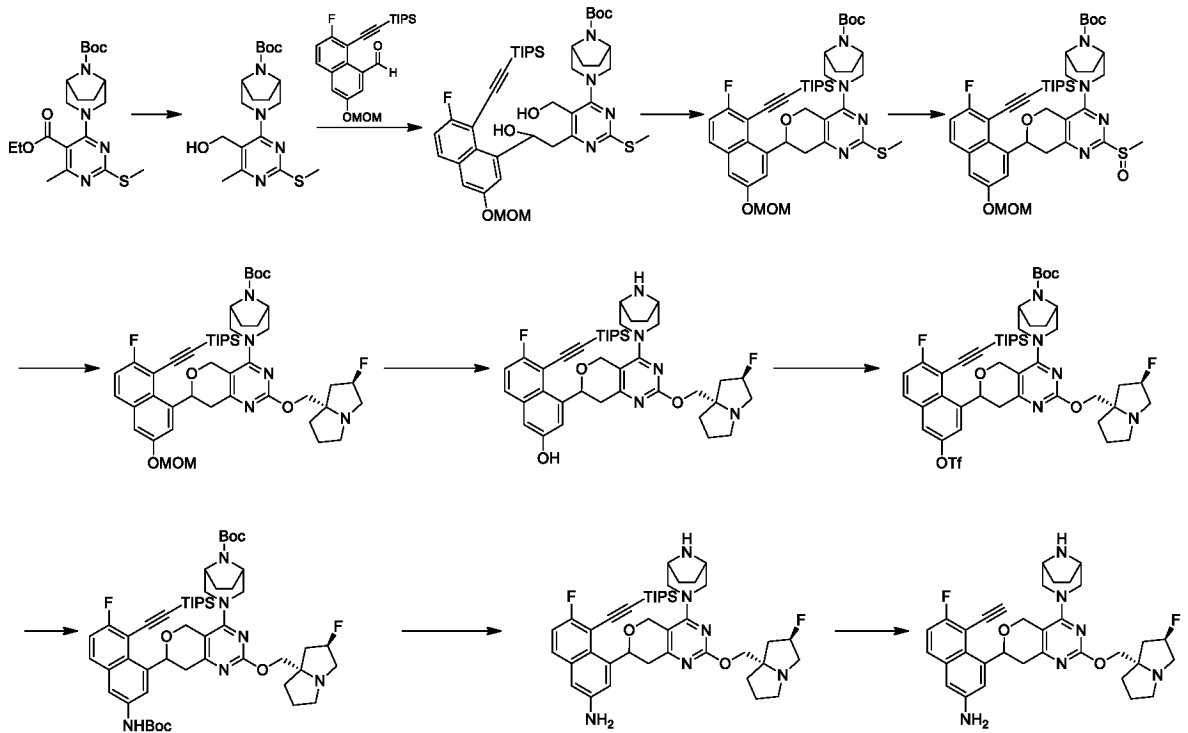
[00212] В настоящем изобретении также описано применение указанного выше соединения или его фармацевтически приемлемой соли в производстве лекарственного средства для лечения заболевания, ассоциированного с опухолью.

[00213] В настоящем изобретении также описаны приведенные ниже методы синтеза:

[00214] Метод синтеза 1:



[00215] Метод синтеза 2:



[00216] В настоящем изобретении также описаны приведенные ниже методы тестирования:

[00217] Метод тестирования 1. Тест активности ингибирования KRAS^{G12D}

[00218] 1. Цель

[00219] Проводили скрининг методом резонансного переноса энергии флюоресценции с временным разрешением (TR-FRET) с целью найти соединения, которые могут эффективно ингибировать связывание KRAS с ГТФ.

[00220] 2. Расходные материалы и приборы

Таблица 1. Расходные материалы и приборы

Название	Производитель	Номер
HEPES (4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфо кислота) pH 7.3	Thermo Fisher	BP299-500
Хлорид натрия	Promega	V4221
ЭДТА (этилендиаминтетрауксусная кислота)	EMD Millipore	324506
Tween 20	Bole	1706531
Хлорид магния	MP Biomedicine	191421
Bodipy GDP (гуанозин 5'-дифосфат, BODIPY™ FL 2'-(или -3')-O-(N-(2-аминоэтил)уретан), бис(триэтиламмониевая) соль)	Yingjie	G22360
ГТФ (гуанин-5'-трифосфат)	Sigma	G8877
Tb-SA (Тербий-меченый стрептавидин)	Yingjie	PV3576
SOS белок		
Белок KRAS ^{G12D} (вирусный онкоген саркомы крыс Кирстен)		
Планшет для соединений	Labcyte	LP-0200
Планшет для анализа	Perkin Elmer	6008269
Центрифужные пробирки 15мл	Corning	430791
Центрифужные пробирки 1.5мл	Axygen	MCT-150-C
Автоматический пробоотборник Dragonfly	TTP	
Bravo	Agilent	
Echo 550	Labcyte	
Envision	Perkin Elmer	

[00221] 3. Приготовление реагентов**[00222] а. Стоковые реагенты:****[00223] 1) Буфер для обмена нуклеотида в KRAS**

[00224] Отмеряли 20 мл 1000мМ HEPES, 20 мл 500мМ EDTA, 10 мл 5 М хлорид натрия, 0.1 мл 100% Tween 20 и 949.9 мл воды и готовили 1 л раствора. Раствор стерилизовали фильтрованием и хранили при 4°C.

[00225] 2) Буфер для теста с KRAS

[00226] Отмеряли 20 мл 1000 мМ HEPES, 10 мл 1000мМ хлорид магния, 30 мл 5 М хлорид натрия, 0.05 мл 100% Tween 20 и 939.95мл воды и готовили 1 л раствора. Раствор стерилизовали фильтрованием и хранили при 4°C.

[00227] 3) Смесь KRAS/Bodipy GDP/Tb-SA

[00228] Отмеряли 9.5 мкл 95 мкМ раствора белка KRAS^{G12D} и 440.5 мкл буфера для обмена нуклеотида в KRAS и смешивали. Смесь инкубировали при комнатной температуре 1 час и затем готовили 1 л раствора с 8.4 мкл 17.9 мкМ Tb-SA, 1.8 мкл 5мМ Bodipy GDP и 9539.8 мкл буфера для теста с KRAS. После перемешивания раствор оставляли отстаиваться при комнатной температуре на 6 часов и хранили при -80 °C.

[00229] в. Реагенты для проведения теста:**[00230] 1) Раствор KRAS киназы**

[00231] Отмеряли 73.3 мкл смеси KRAS/Bodipy GDP/Tb-SA и 2126.7 мкл буфера для теста с KRAS и готовили 2200 мкл раствора.

[00232] 2) Смесь SOS/ГТФ

[00233] Отмеряли 1.59 мкл 166 мкМ раствора SOS белка, 198 мкл 100 мМ ГТФ и 2000.41 мкл буфера для теста с KRAS и готовили 2200 мкл раствора.

[00234] 4. Процесс тестирования

[00235] 1) Концентрация стокового раствора контрольного соединения составляла 1 мМ, и концентрация стокового раствора тестируемого соединения составляла 10 мМ. 9 мкл раствора контрольного соединения и тестируемого соединения переносили в 384-LDV планшет;

[00236] 2) Проводили серийные 3-кратные разведения соединения до 10 концентраций на LDV планшете путем добавлением Bravo;

[00237] 3) 9 нл соединений с LDV планшета переносили на планшет для анализа с помощью ECHO;

[00238] 4) 3 мкл 3 нМ Kras/0.5 нМ TB-SA/30 нМ смеси BodipyGDP и 3 мкл Ras буфера последовательно добавляли в каждую лунку планшета для анализа с помощью автоматического пробоотборника Dragonfly, и планшет для анализа центрифугировали при 1000об/мин в течение 1 минуты;

[00239] 5) Планшет для анализа инкубировали при комнатной температуре 1 час;

[00240] 6) 3 мкл 120 нМ смеси SOS/9 mM ГТФ добавляли в каждую лунку планшета для анализа с помощью автоматического пробоотборника Dragonfly, и планшет для анализа центрифугировали при 1000об/мин в течение 1 минуты;

[00241] 7) Планшет для анализа инкубировали при комнатной температуре 1 час;

[00242] 8) Планшет считывали в приборе Envision и регистрировали полученные значения;

[00243] 9) Полученные значения анализировали с помощью Excel и Xlfit, и вычисляли значения IC_{50} для тестируемых соединений.

[00244] Метод тестирования 2. Тестирование ингибирования p-ERK в клетках AGS

[00245] 1. Цель

[00246] Проводили скрининг методом конкурентного HTRF-анализа с целью найти соединения, которые могут эффективно ингибировать p-ERK в клетках AGS.

[00247] 2. Процесс тестирования

[00248] 1) Клетки AGS инокулировали в прозрачный 96-луночный планшет для культур клеток, и в каждой лунке содержалось 80мкл суспензии клеток и 10000 клеток. Планшет для культур клеток инкубировали в инкубаторе с содержанием диоксида углерода при 37°C в течение ночи;

[00249] 2) После окончания инкубирования отбрасывали клеточный супернатант. В каждую лунку добавляли 80 мкл среды, содержащей 0.02% плазмы крови. Планшет для культур клеток инкубировали в инкубаторе с содержанием диоксида углерода при 37°C в течение ночи;

[00250] 3) Отбирали 2 мкл соединения и добавляли в 78 мкл клеточной среды. После тщательного перемешивания полученной смеси отбирали 20 мкл раствора соединения и добавляли в соответствующую лунку планшета для культур клеток. Планшет для культур клеток снова помещали в инкубатор с содержанием диоксида углерода и инкубировали еще 3 часа;

[00251] 4) После окончания инкубирования отбрасывали клеточный супернатант. Добавляли в каждую лунку 50 мкл 1X клеточного лизата. Смесь инкубировали при встряхивании при комнатной температуре 30 минут;

[00252] 5) Phospho-ERK1/2 Eu Cryptate антитела и Phospho-ERK1/2 d2 антитела

разводили в 20 раз буфером для детектирования;

[00253] 6) Отмеряли 16 мкл супернатанта клеточного лизата и добавляли в каждую лунку нового 384-луночного белого микропланшета, и затем добавляли 2 мкл разведенного раствора Phospho-ERK1/2 Eu Cryptate антител и 2 мкл разведенного раствора Phospho-ERK1/2 d2 антител. Смесь инкубировали при комнатной температуре по меньшей мере 4 часа;

[00254] 7) После окончания инкубирования считывали значения HTRF на многопротокольном анализаторе: возбуждение: 320нм, испускание: 615нм, 665нм;

[00255] 8). Вычисляли значение IC_{50} для тестируемого соединения.

[00256] **Метод тестирования 3. Тестирование ингибирования p-ERK в клетках GP2D**

[00257] **1. Цель**

[00258] Проводили скрининг методом конкурентного HTRF-анализа с целью найти соединения, которые могут эффективно ингибировать p-ERK в клетках GP2D.

[00259] **2. Процесс тестирования**

[00260] 1) Клетки GP2D инокулировали в прозрачный 96-луночный планшет для культур клеток, и в каждой лунке содержалось 80мкл суспензии клеток и 8000 клеток. Планшет для культур клеток инкубировали в инкубаторе с содержанием диоксида углерода при 37°C в течение ночи;

[00261] 2) Отбирали 2 мкл соединения и добавляли в 78 мкл клеточной среды. После тщательного перемешивания полученной смеси отбирали 20 мкл раствора соединения и добавляли в соответствующую лунку планшета для культур клеток. Планшет для культур клеток снова помещали в инкубатор с содержанием диоксида углерода и инкубировали еще 1 час;

[00262] 3) После окончания инкубирования, клеточный супернатант отбрасывали. Добавляли в каждую лунку 50 мкл 1X клеточного лизата. Смесь инкубировали при встряхивании при комнатной температуре 30 минут;

[00263] 4) Phospho-ERK1/2 Eu Cryptate антитела и Phospho-ERK1/2 d2 антитела разводили в 20 раз буфером для детектирования;

[00264] 5) Отмеряли 16 мкл супернатанта клеточного лизата и добавляли в каждую лунку нового 384-луночного белого микропланшета, и затем добавляли 2 мкл

разведенного раствора Phospho-ERK1/2 Eu Cryptate антител и 2 мкл разведенного раствора Phospho-ERK1/2 d2 антител. Смесь инкубировали при комнатной температуре по меньшей мере 4 часа;

[00265] 6) После окончания инкубирования считывали значения HTRF на многопротокольном анализаторе: возбуждение: 320нм, испускание: 615нм, 665нм;

[00266] 7). Вычисляли значение IC_{50} для тестируемых соединений.

[00267] **Метод тестирования 4. Тестирование ингибирования p-ERK в клетках PANC0403**

[00268] 1. Материалы для проведения тестирования:

[00269] Клетки PANC0403 покупали у Nanjing Kebai; среду RPMI-1640 покупали у Biological Industries; эмбриональную телячью сыворотку покупали у Biosera; и Advanced Phospho-ERK1/2 (THR202/TYR204) KIT покупали у Cisbio.

[00270] Таблица 2. Состав набора Advanced Phospho-ERK1/2(THR202/TYR204) KIT

Название компонента	Температура хранения
Advanced PhosphoERK1/2 Eu Cryptate антитело	$\leq -16^{\circ}\text{C}$
Advanced PhosphoERK1/2 d2 антитело	$\leq -16^{\circ}\text{C}$
Блокирующий реагент (стоковый раствор 100X)	$\leq -16^{\circ}\text{C}$
Лизирующий буфер # 1 (стоковый раствор 4X)	$\leq -16^{\circ}\text{C}$
Буфер для детектирования (готовый к использованию)	$\leq -16^{\circ}\text{C}$

[00271] 2. Процесс тестирования:

[00272] 1) Клетки PANC0403 инокулировали в прозрачный 96-луночный планшет для культур клеток, и в каждой лунке содержалось 80мкл суспензии клеток и 10000 клеток PANC0403. Планшет для культур клеток инкубировали в инкубаторе с содержанием диоксида углерода при 37°C в течение ночи;

[00273] 2) Тестируемое соединение разводили до 2 мМ как первой концентрации в 100% ДМСО, и затем проводили серийные 5-кратные разведения до 8 концентраций с помощью пипетки, т.е. от 2 мМ до 25.6 нМ. Отбирали 2 мкл соединения и добавляли в 78 мкл голодной клеточной среды. После тщательного перемешивания полученной смеси отбирали 20 мкл раствора соединения и добавляли в соответствующую лунку планшета для культур клеток. Планшет для культур клеток снова помещали в инкубатор с

содержанием диоксида углерода и инкубировали еще 3 часа; в этот момент концентрация соединения составляла от 10 мкМ до 0.128 нМ, и концентрация ДМСО составляла 0.5%;

[00274] 3) После окончания инкубирования отбрасывали клеточный супернатант. Добавляли в каждую лунку 50 мкл клеточного лизата. Смесь инкубировали при встряхивании при комнатной температуре 30 минут;

[00275] 4) Phospho-ERK1/2 Eu Cryptate антитела и Phospho-ERK1/2 d2 антитела разводили в 20 раз буфером для детектирования;

[00276] 5) Отмеряли 16 мкл супернатанта клеточного лизата и добавляли в каждую лунку нового 384-луночного белого микропланшета, и затем добавляли 2 мкл разведенного раствора Phospho-ERK1/2 Eu Cryptate антител и 2 мкл разведенного раствора Phospho-ERK1/2 d2 антител. Смесь инкубировали при комнатной температуре в течение ночи;

[00277] 6) После окончания инкубирования считывали значения HTRF на многопротоковом анализаторе: возбуждение: 320нм, испускание: 615нм, 665нм;

[00278] **3. Анализ полученных данных:**

[00279] Использовали формулу **(Образец - Мин)/(Макс - Мин)*100%** для пересчета полученных данных в значение коэффициента ингибирования, и значение IC₅₀ можно получить построением кривой по четырем параметрам (режим "log(ингибитор) vs. ответ -- Переменный коэффициент наклона" в GraphPad Prism).

[00280] **Макс лунка:** Результат в лунке с положительным контролем – это результат в лунке с 1X лизатом.

[00281] **Мин лунка:** Результат в лунке с отрицательным контролем – это результат в лунке с клеточным лизатом в 0.5% растворе клеточных стенок в ДМСО.

[00282] **Метод тестирования 5. Подавление пролиферации клеток в линиях опухолевых клеток AsPC-1 и GP2D соединениями по настоящему изобретению**

[00283] **Цель исследования**

[00284] В данном тесте исследовали ингибирующее действие соединений на пролиферацию клеток, оценивая влияние соединений на активность клеток *in vitro* в линиях опухолевых клеток AsPC-1 и GP2D.

[00285] **Материалы для проведения исследования**

[00286] Таблица 3. Детали клеточных линий

Линия клеток	Тип опухоли	Характеристики роста	Метод выращивания
AsPC-1	Рак поджелудочной железы	Адгезивная культура	RPMI 1640 + 10% FBS
GP2D	Рак толстого кишечника	Адгезивная культура	DMEM + 10% FBS + 2 мМ L-глутамин

[00287] Ultra Low Cluster-96-луночный планшет (Corning-7007)

[00288] Greiner CELLSTAR 96-луночный планшет (# 655090)

[00289] Набор для определения жизнеспособности клеток Promega CellTiter-Glo 3D Luminescence Cell Viability Assay Kit (Promega-G9683)

[00290] Планшет-ридер 2104-10 EnVision Plate Reader, PerkinElmer

[00291] RPMI 1640, DMEM, PBS (фосфатно-солевой буфер), FBS (телячья эмбриональная сыворотка), антибиотик-противогрибковый агент, L-глутамин, ДМСО (диметилсульфоксид)

[00292] **Метод и этапы исследования**

[00293] **Культура клеток**

[00294] Линии опухолевых клеток выращивали в инкубаторе 37°C, 5% CO₂ согласно условиям выращивания, указанным в методике. Клетки регулярно пересеивали, и для переноса в планшет использовали клетки в логарифмической стадии роста.

[00295] **Высевание клеток в планшет**

[00296] Клетки окрашивали трипановым синим и проводили подсчет жизнеспособных клеток.

[00297] Концентрацию клеток доводили до необходимой (AsPC-1, 7000 клеток/лунку; GP2D, 8000 клеток/лунку).

[00298] В каждую лунку планшета ULA добавляли 135 мкл суспензии клеток. В лунку пустого контроля добавляли такой же объем среды для выращивания, без клеток.

[00299] После высеваания в планшет, планшет ULA сразу центрифугировали при комнатной температуре при 1000 об/мин в течение 10 минут. Примечание: После окончания центрифугирования последующие операции проводили аккуратно, чтобы избежать ненужного встряхивания.

[00300] Планшет с клетками инкубировали в течение ночи в инкубаторе 37°C, 5% CO₂, 100% относительная влажность.

[00301] Приготовление 10X рабочего раствора соединения и обработка клеток соединением (день 1)

[00302] Готовили 10X рабочий раствор соединения (10X рабочий раствор в ДМСО), затем в планшет ULA добавляли 15 мкл 10X рабочего раствора соединения, и в контроль с носителем и в пустой контроль добавляли 15 мкл смеси с ДМСО или среды для выращивания клеток, соответственно.

[00303] 96-луночный планшет помещали обратно в инкубатор и инкубировали 120 часов.

[00304] Наблюдались сферические образования клеток каждый день вплоть до окончания теста.

[00305] Люминисцентное детектирование жизнеспособности клеток с помощью CellTiter-Glo (День 5)

[00306] Описанные далее этапы проводили согласно инструкциям к набору для определения жизнеспособности клеток Promega CellTiter-Glo 3D Luminescent Cell Viability Assay Kit (Promega # G9683).

[00307] 150 мкл (равно объему среды для выращивания клеток в каждой лунке) реагента CellTiter-Glo 3D добавляли в каждую лунку. Планшет с клетками оборачивали алюминиевой фольгой для защиты от света.

[00308] Планшет с клетками встряхивали на орбитальном шейкере 5 минут.

[00309] Перед переходом к следующему этапу смесь в лунках тщательно перемешивали пипеткой (снизу вверх) 10 раз, так чтобы сфероиды клеток отсоединились.

[00310] Раствор в планшете ULA затем переносили в планшет с черным дном (#655090) и оставляли отстаиваться при комнатной температуре на 25 минут для стабилизации люминисценции.

[00311] Интенсивность люминисценции измеряли на планшет-ридере 2104 EnVision plate reader.

[00312] Анализ полученных результатов

[00313] Использовали приведенную ниже формулу для вычисления степени ингибирования (IR) для тестируемого соединения: $IR (\%) = (1 - (RLU \text{ соединения} - RLU \text{ пустого контроля}) / (RLU \text{ контроля с носителем} - RLU \text{ пустого контроля})) * 100\%$. Степени ингибирования для разных концентраций соединений вычисляли в Excel, затем

использовали программу GraphPad Prism для построения кривых ингибирования и вычисления соответствующих параметров, включая минимальную степень ингибирования, максимальную степень ингибирования и IC_{50} .

[00314] Метод тестирования 6. Исследование фармакокинетики при пероральном и внутривенном введении тестируемых соединений мышам CD-1

[00315] Цель исследования

[00316] Определить параметры фармакокинетики при пероральном и внутривенном введении соединений мышам CD-1.

[00317] Этапы исследования

[00318] Тестируемое соединение смешивали с 5% ДМСО+95% (10%HP- β -CD) водным раствором. Смесь интенсивно перемешивали на вихревой мешалке и обрабатывали в ультразвуковой бане, получая прозрачный раствор с концентрацией 0.5 мг/мл (для внутривенного введения) или прозрачный раствор с концентрацией 3 мг/мл (для перорального введения). Полученный прозрачный раствор фильтровали через микропористую мембрану перед использованием. Отбирали самцов SD мышей возрастом от 7 до 10 недель, вводили тестируемое соединение внутривенно в дозировке примерно 2 мг/кг, и вводили тестируемое соединение перорально в дозировке примерно 30 мг/кг. В течение определенного периода времени собирали цельную кровь и обрабатывали, получая плазму крови. Концентрацию лекарственного средства определяли методом LC-MS/MS, и вычисляли фармакокинетические параметры с помощью программы Phoenix WinNonlin (Pharsight, USA).

[00319] Метод тестирования 7. Исследование связывания с белками крови (РРВ)

[00320] Цель исследования

[00321] Определяли степень связывания соединения с белками крови в плазме мышей CD-1, крыс линии Sprague-Dawley, собак породы бигль, яванских макак и человека методом равновесного диализа.

[00322] Методика проведения теста

[00323] Из плазмы крови перечисленных выше пяти видов готовили образцы плазмы с концентрацией соединения 2 мкМ. Образцы плазмы помещали в 96-луночный прибор для проведения быстрого равновесного диализа и проводили диализ против

фосфатно-солевого буфера при $37\pm 1^\circ\text{C}$ в течение 4 часов. В данном исследовании в качестве контрольного соединения использовали варфарин. Концентрацию аналитов в плазме и диализном буфере определяли методом LC-MS/MS.

[00324] Метод тестирования 8. Тестирование ингибирования p-ERK в клетках AsPC-1

[00325] 1. Цель

[00326] Проводили скрининг методом конкурентного HTRF-анализа с целью найти соединения, которые могут эффективно ингибировать p-ERK в клетках AsPC-1.

[00327] 2. Материалы для проведения тестирования:

[00328] Клетки ASPC-1 покупали у ATCC; среду RPMI-1640 покупали у Gibco; эмбриональную телячью сыворотку покупали у Hyclone; и Advanced Phospho-ERK 1/2(THR202/TYR204) KIT покупали у Bioauxilium-

[00329] Таблица 4. Состав набора Advanced Phospho-ERK1/2(THR202/TYR204) KIT

Название компонента	Температура хранения
Advanced PhosphoERK1/2 Eu Cryptate антитело	$\leq -16^\circ\text{C}$
Advanced PhosphoERK1/2 d2 антитело	$\leq -16^\circ\text{C}$
Блокирующий реагент (стоковый раствор 100X)	$\leq -16^\circ\text{C}$
Лизирующий буфер # 1 (стоковый раствор 4X)	$\leq -16^\circ\text{C}$
Буфер для детектирования (готовый к использованию)	$\leq -16^\circ\text{C}$

[00330] 3. Процесс тестирования:

[00331] 1) Клетки ASPC-1 инокулировали в 384-луночный планшет для культур клеток с белым дном, по 8 мкл суспензии клеток и по 7500 клеток на лунку. Планшет для культур клеток инкубировали в инкубаторе с содержанием диоксида углерода при 37°C в течение ночи;

[00332] 2) Тестируемое соединение разводили до 3 мМ как первой концентрации в 100% ДМСО, и затем проводили серийные разведения до 3000, 1000, 300, 100, 30, 10, 3, 1, 0.3, и 0.1 мкМ с помощью микропипетки. Отбирали 2 мкл соединения и добавляли в 198 мкл голодной клеточной среды. После тщательного перемешивания полученной смеси отбирали 15 мкл раствора соединения и добавляли к 35 мл голодной клеточной среды. Смесь тщательно перемешивали. Раствор соединения на последней стадии добавляли в

соответствующие лунки планшета для культур клеток по 4 мкл на лунку. Планшет для культур клеток снова помещали в инкубатор с содержанием диоксида углерода и инкубировали еще 3 часа; в этот момент концентрация соединения составляла 3000, 1000, 300, 100, 30, 10, 3, 1, 0.3 и 0.1 нМ;

[00333] 3) После окончания инкубирования добавляли в каждую лунку 3 мкл 5X клеточного лизата. Смесь инкубировали при встряхивании при комнатной температуре 30 минут;

[00334] 4) Phospho-ERK1/2 Eu Cryptate антитела и Phospho-ERK1/2 d2 антитела разводили в 20 раз буфером для детектирования и хорошо перемешивали в соотношении 1:1. Смесь добавляли в планшет с культурой клеток по 5 мкл на лунку и инкубировали при комнатной температуре в течение 2 часов.

[00335] 5) После окончания инкубирования считывали значения HTRF на многопротоковом анализаторе: возбуждение: 320нм, испускание: 615нм, 665нм;

[00336] 3. **Анализ полученных данных:**

[00337] Использовали формулу **(Образец - Мин)/(Макс - Мин)*100%** для пересчета полученных данных в значение коэффициента ингибирования, и значение IC₅₀ можно получить построением кривой по четырем параметрам (режим "log(ингибитор) vs. ответ -- Переменный коэффициент наклона" в GraphPad Prism).

[00338] **Макс лунка:** Результат в лунке с положительным контролем – это результат в лунке с 1X лизатом.

[00339] **Мин лунка:** Результат в лунке с отрицательным контролем – это результат в лунке с клеточным лизатом в 0.5% растворе клеточных стенок в ДМСО.

[00340] **Определения**

[00341] Если не указано иное, перечисленные ниже термины и обороты имеют указанные далее значения. В отсутствие специального определения, термин или оборот не считается неопределенным или неясным, а должен пониматься в его общеизвестном значении. При использовании торгового наименования имеется в виду его активный ингредиент.

[00342] Термин "фармацевтически приемлемый" в настоящем тексте используется в отношении тех соединений, материалов, композиций и/или дозированных форм, которые подходят для применения в контакте с тканями животных или человека в рамках

квалифицированного медицинского суждения, не вызывая нежелательной токсичности, раздражения, аллергической реакции или других проблем или осложнений, обладая при этом приемлемым соотношением польза/риск.

[00343] Термин "фармацевтически приемлемая соль" означает соль соединения по настоящему изобретению, полученную путем реакции соединения, имеющего определенный раскрытый в настоящем тексте заместитель, с относительно нетоксичной кислотой или основанием. Когда соединения по настоящему изобретению содержат относительно кислую функциональную группу, можно получить соль с основанием путем контакта соединения с достаточным количеством основания в чистом виде или в подходящем инертном растворителе. Фармацевтически приемлемая соль с основанием включает соль натрия, калия, кальция, аммония, соль с органическим амином, соль магния или похожие соли. Когда соединения по настоящему изобретению содержат относительно основную функциональную группу, можно получить соль с кислотой путем контакта соединения с достаточным количеством кислоты в чистом виде или в подходящем инертном растворителе. Некоторые частные соединения по настоящему изобретению содержат и основную, и кислотную функциональные группы, и могут быть превращены в любую соль с основанием или кислотой.

[00344] Фармацевтически приемлемую соль по настоящему изобретению можно получить из материнского соединения, которое содержит кислотный или основной фрагмент, общеизвестными химическими методами. В целом, такую соль можно получить реакцией соединения в форме свободной кислоты или свободного основания со стехиометрическим количеством соответствующего основания или кислоты в воде или органическом растворителе, или в их смеси.

[00345] Соединения по настоящему изобретению могут присутствовать в определенной геометрической или стереоизомерной форме. Настоящая заявка охватывает все такие соединения, включая цис и транс изомеры, (-)- и (+)-энантиомеры, (*R*)- и (*S*)-энантиомеры, диастереомер, (*D*)-изомер, (*L*)-изомер, а также рацемическую смесь и другие смеси, например, смесь, обогащенную энантиомером или диастереомером, и все они входят в заявленный объем притязаний настоящего изобретения. Заместитель, такой как алкил, может содержать дополнительный асимметрический атом углерода. Все эти изомеры и их смеси охватываются настоящим изобретением.

[00346] Соединения по настоящему изобретению могут содержать неприродное соотношение изотопов атомов по одному или больше атомам, составляющим данные соединения. Например, соединение может быть помечено радиоизотопом, таким как тритий (^3H), иод-125 (^{125}I) или С-14 (^{14}C). Как еще один пример, водород может быть заменен на более тяжелый изотоп водорода, образуя дейтерированное лекарство. Связь между дейтерием и углеродом прочнее, чем между обычным атомом водорода и углеродом. По сравнению с недейтерированным лекарством, дейтерированные лекарства имеют преимущества, заключающиеся в уменьшенных побочных эффектах токсичности, повышенной устойчивости лекарства, повышенной эффективности и увеличенном времени полужизни лекарств. Все изменения изотопного состава в соединениях по настоящему изобретению, вне зависимости от радиоактивности, включены в объем притязаний, заявленный в настоящем изобретении.

[00347] Термин "опциональный", "опционально", "необязательный" или "необязательно" означает, что описанное далее событие или условие может иметь место, но не является необходимым, что данный термин включает случаи, в которых событие или условие имеет место, и случаи, в которых событие или условие не имеет места.

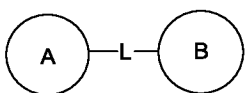
[00348] Термин "замещенный" означает, что один или больше одного атома водорода у определенного атома заменены на заместитель, включая дейтериевые и водородные варианты, при условии, что валентность у данного определенного атома остается нормальной, и замещенное соединение устойчиво. Когда заместителем является оксо-группа (т.е., $=\text{O}$), это означает что замещены два атома водорода. Положения в ароматическом кольце не могут быть замещены оксо-группой. Термин "необязательно замещенный" означает, что атом может быть замещен на заместитель или нет, если не указано иное, при этом тип и число заместителей может быть любым, при условии, что они химически допустимы.

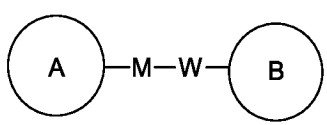
[00349] Когда любая переменная (такая как R) содержится в структуре соединения более одного раза, значение переменной в каждом случае является независимым. Так, например, если группа замещена 0-2 заместителями R, данная группа может опционально иметь от 0 до 2 заместителей R, где значение R в каждом случае является независимым. Более того, комбинация заместителя и/или его варианта допускается только тогда, когда эта комбинация дает устойчивое соединение.

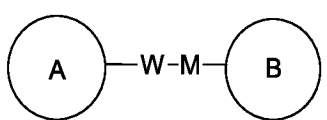
[00350] Когда число линкерных групп равно 0, например $-(\text{CRR})_0-$, это означает, что линкерная группа представляет собой простую связь.


[00351] Когда одна из переменных представляет собой простую связь, это означает, что две группы, соединенные простой связью, соединены между собой напрямую. Например, когда L в A-L-Z представляет собой простую связь, структура A-L-Z в действительности представляет собой A-Z.

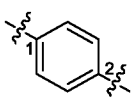
[00352] Когда для линкерной группы не указано направление связывания, значит направление связывания может быть произвольным. Например, когда линкерная группа L

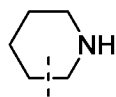
в  представляет собой -M-W-, то фрагмент -M-W- может быть связан с кольцом A и кольцом B в порядке прочтения слева направо и давать фрагмент

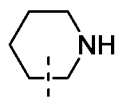
, или он может быть связан с кольцом A и кольцом B в направлении, обратном порядку прочтения слева направо, давая фрагмент

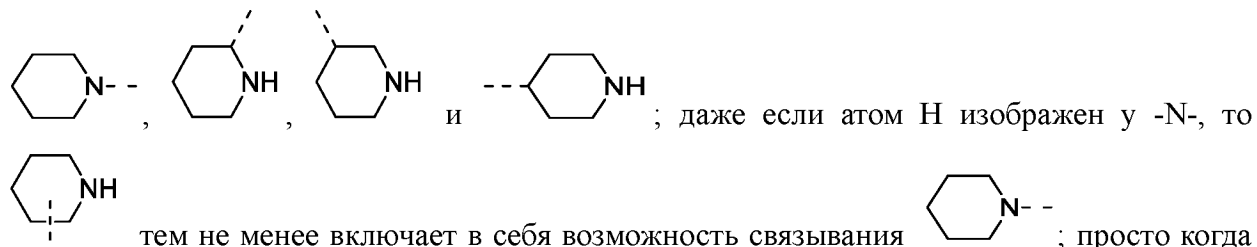
. Комбинация линкерных групп, заместителей и/или их вариантов допустима только тогда, когда такая комбинация приводит к устойчивому соединению.

[00353] Если не указано иное, когда группа имеет один или больше сайтов связывания, любые один или больше сайтов в этой группе могут быть соединены с другими группами посредством химических связей. Когда положение присоединения химической связи переменное, и есть атом(ы) Н у сайтов присоединения, то если с химической связью соединен(ы) сайт(ы) связывания, имеющие атом(ы) Н, тогда число атомов Н у этого сайта соответственно уменьшается по мере увеличения числа присоединенных химических связей, и у группы сохраняется нужная валентность. Химическая связь между сайтом и другими группами может быть изображена в виде прямой сплошной линии (—), прямой пунктирной линии (---) или волнистой линии (~~~~). Например, прямая сплошная линия в -ОСН₃ показывает, что данная группа соединена с остальными группами через атом кислорода в этой группе; прямая пунктирная линия в  показывает, что данная группа соединена с остальными группами по двум концам через атом кислорода в этой группе; волнистая линия в











 показывает, что данная группа соединена с остальными группами через атомы




углерода 1 и 2 в фенильной группе;  показывает, что любой способный к соединению сайт в пиперидинильной группе может быть соединен с другими группами одной химической связью, включая по меньшей мере четыре способа связывания:



присоединяется одна химическая связь, число атомов Н у этого сайта уменьшается на один, и группа становится соответствующей одновалентной пиперидинильной группой.

[00354] Если не указано иное, сплошная клиновидная связь () и пунктирная клиновидная связь () показывают абсолютную конфигурацию стереоцентра; прямая сплошная связь () и прямая пунктирная связь () показывают относительную конфигурацию стереоцентра; волнистая линия () означает сплошную клиновидную связь () или пунктирную клиновидную связь (); или волнистая линия () означает прямую сплошную связь () или прямую пунктирную связь ().

[00355] Если не указано иное, при наличии двойной связи в структуре соединения, такой как двойная связь углерод-углерод, двойная связь углерод-азот и двойная связь азот-азот, и когда каждый атом, образующий двойную связь, связан с двумя разными заместителями (в двойной связи с участием атома азота неподеленная пара электронов атома азота считается заместителем), если атом, образующий двойную связь, и его

заместители в соединении представлены фрагментом , то может существовать (Z)-изомер, (E)-изомер или смесь двух изомеров соединения. Если не указано иное, термин "таутомер" или "таутомерная форма" означает, что при комнатной температуре изомеры с разными функциональными группами находятся в динамическом равновесии и могут быстро превращаться друг в друга. Если возможна таутомерия (например, в растворе), может достигаться химическое равновесие таутомерии. Например, протонные таутомеры (называемые также прототропными таутомерами) включают интерконверсию через миграцию протона, например, в случае кето-енольной изомеризации и имин-енаминной изомеризации. Валентными изомерами являются таутомеры, которые

превращаются друг в друга путем реорганизации некоторых связывающих электронов. Частным примером кето-енольной таутомерии является интерконверсия между пентан-2,4-дионом и 4-гидроксипент-3-ен-2-оном.

[00356] Если не указано иное, термин "галоген" в отдельности или как часть другого заместителя, означает атом фтора, хлора, брома или иода.

[00357] Если не указано иное, термин " C_{1-3} алкил" означает линейную или разветвленную насыщенную углеводородную группу, содержащую от 1 до 3 атомов углерода. C_{1-3} алкил включает C_{1-2} алкил, C_{2-3} алкил и т.д. Он может быть одновалентным (таким как метил), двухвалентным (таким как метилен) или многовалентным (таким как метенил). Примеры C_{1-3} алкила включают (но не ограничиваются только ими) метил (Me), этил (Et), пропил (включая н-пропил и изопропил) и т.п..

[00358] Если не указано иное, термин " C_{1-3} алкокси" означает алкильные группы, содержащие от 1 до 3 атомов углерода и присоединенные к остальной части молекулы через атом кислорода. C_{1-3} алкокси-группа включает C_{1-2} , C_{2-3} , C_3 и C_2 алкокси-группы, и т.п.. Примеры C_{1-3} алкокси-групп включают (но не ограничиваются только ими) метокси, этокси, пропокси (включая н-пропокси и изопропокси) и т.п.

[00359] Если не указано иное, " C_{2-3} алкенил" означает линейную или разветвленную углеводородную группу, содержащую 2 - 3 атома углерода и по меньшей мере одну двойную углерод-углеродную связь, где углерод-углеродная двойная связь может располагаться в любом положении группы. C_{2-3} алкенил включает C_3 и C_2 алкенил. C_{2-3} алкенил может быть одновалентным, двухвалентным или многовалентным. Примеры C_{2-3} алкенила включают (но не ограничиваются только ими) винил, пропенил и т.п.

[00360] Если не указано иное, " C_{2-3} алкинил" означает линейную или разветвленную углеводородную группу, содержащую 2 - 3 атома углерода и по меньшей мере одну тройную углерод-углеродную связь, где углерод-углеродная тройная связь может располагаться в любом положении группы. C_{2-3} алкинил может быть одновалентным, двухвалентным или многовалентным. C_{2-3} алкинил включает C_3 и C_2 алкинил. Примеры C_{2-3} алкинила включают (но не ограничиваются только ими) этинил, пропирил и т.п.

[00361] Если не указано иное, " C_{2-4} алкинил" означает линейную или разветвленную углеводородную группу, состоящую из 2 - 4 атомов углерода, содержащую

по меньшей мере одну тройную углерод-углеродную связь, где углерод-углеродная тройная связь может располагаться в любом положении группы. C₂₋₄ алкинильные группы включают C₂₋₃, C₄, C₃ и C₂ алкинильные группы и т.д. C₂₋₄ алкинил может быть одновалентным, двухвалентным или многовалентным. Примеры C₂₋₄ алкинильных групп включают (но не ограничиваются только ими) этинил, пропинил, бутинил и т.д.

[00362] Если не указано иное, "C₃₋₅ циклоалкил" означает насыщенную циклическую углеводородную группу, состоящую из 3 - 5 атомов углерода, которая представляет собой моноциклическую систему. C₃₋₅ циклоалкил включает C₃₋₄ и C₄₋₅ циклоалкил и т.д., и может быть одновалентным, двухвалентным или поливалентным. Примеры C₃₋₅ циклоалкила включают (но не ограничиваются только ими) циклопропил, циклобутил, циклопентил и т.д.

[00363] Если не указано иное, термины "5-6-членное гетероароматическое кольцо" и "5-6-членный гетероарил" могут использоваться взаимозаменяемо. Термин "5-6-членный гетероарил" означает моноциклическую группу, имеющую сопряженную π-электронную систему и содержащую 5 - 6 атомов в кольце, из которых 1, 2, 3 или 4 атомов представляют собой гетероатомы, независимо выбранные из O, S и N, и остальные представляют собой атомы углерода. Атом азота опционально кватернизован, и гетероатомы азота и серы опционально окислены (т.е. NO и S(O)_p, p равен 1 или 2). 5-6-членная гетероарильная группа может присоединяться к остальной части молекулы через гетероатом или атом углерода. Она может быть одновалентной, двухвалентной или многовалентной. 5-6-членная гетероарильная группа включает 5-членные и 6-членные гетероарильные группы. Примеры 5-6-членного гетероарила включают (но не ограничиваются только ими) пирролил (включая *N*-пирролил, 2-пирролил и 3-пирролил и т.д.), пиразолил (включая 2-пиразолил и 3-пиразолил и т.д.), имидазолил (включая *N*-имидазолил, 2-имидазолил, 4-имидазолил и 5-имидазолил и т.д.), оксазолил (включая 2-оксазолил, 4-оксазолил и 5-оксазолил и т.д.), триазолил (1*H*-1,2,3-триазолил, 2*H*-1,2,3-триазолил, 1*H*-1,2,4-триазолил и 4*H*-1,2,4-триазолил и т.д.), тетразолил, изоксазолил (3-изоксазолил, 4-изоксазолил и 5-изоксазолил и т.д.), тиазолил (включая 2-тиазолил, 4-тиазолил и 5-тиазолил и т.д.), фурил (включая 2-фурил и 3-фурил и т.д.), тиенил (включая 2-тиенил, 3-тиенил и т.д.), пиридил (включая 2-пиридил, 3-пиридил и 4-пиридил и т.д.), пиазинил или пиримидинил (включая 2-пиримидинил, 4-пиримидинил и т.д.).

[00364] Если не указано иное, термины "5-10-членное гетероароматическое кольцо" и "5-10-членный гетероарил" могут использоваться взаимозаменяемо. Термин "5-10-членный гетероарил" означает циклическую группу, имеющую сопряженную пи-электронную систему и содержащую от 5 до 10 атомов в цикле, где 1, 2, 3 или 4 атомов в цикле представляют собой гетероатомы, независимо выбранные из O, S и N, и остальные представляют собой атомы углерода. Она может представлять собой моноциклическую, сопряженную бициклическую или сопряженную трициклическую систему, где каждое кольцо является ароматическим, и где атом азота опционально кватернизован и гетероатомы азота и серы опционально окислены (т.е., NO и S(O)_p, p равен 1 или 2). 5-10-членный гетероарил может быть присоединен к остальной части молекулы через гетероатом или атом углерода. 5-10-членная гетероарильная группа включает 5-8-членные, 5-7-членные, 5-6-членные, 5-членные и 6-членные гетероарильные группы. Примеры 5-10-членного гетероарила включают (но не ограничиваются только ими) пирролил (включая N-пирролил, 2-пирролил, 3-пирролил и т.п.), пиразолил (включая 2-пиразолил и 3-пиразолил и т.п.), имидазолил (включая N-имидазолил, 2-имидазолил, 4-имидазолил и 5-имидазолил и т.п.), оксазолил (включая 2-оксазолил, 4-оксазолил и 5-оксазолил и т.п.), триазолил (1H-1,2,3-триазолил, 2H-1,2,3-триазолил, 1H-1,2,4-триазолил и 4H-1,2,4-триазолил и т.п.), тетразолил, изоксазолил (3-изоксазолил, 4-изоксазолил и 5-изоксазолил и т.п.), тиазолил (включая 2-тиазолил, 4-тиазолил и 5-тиазолил и т.п.), фурил (включая 2-фурил и 3-фурил и т.п.), тиенил (включая 2-тиенил и 3-тиенил и т.п.), пиридил (включая 2-пиридил, 3-пиридил и 4-пиридил и т.п.), пиразинил или пиримидинил (включая 2-пиримидинил и 4-пиримидинил и т.п.), бензотиазолил (включая 5-бензотиазолил и т.п.), пуринил, бензимидазолил (включая 2-бензимидазолил и т.п.), бензоксазолил, индолил (включая 5-индолил и т.п.), изохинолил (включая 1-изохинолил, 5-изохинолил и т.п.), хиноксалинил (включая 2-хиноксалинил, 5-хиноксалинил и т.п.) или хинолил (включая 3-хинолил, 6-хинолил и т.п.).

[00365] Если не указано иное, C_{n-n+m} или C_n-C_{n+m} включает любые частные случаи с числом атомов углерода от n до n+m, например, C₁₋₁₂ включает C₁, C₂, C₃, C₄, C₅, C₆, C₇, C₈, C₉, C₁₀, C₁₁ и C₁₂, также включает любой диапазон от n до n+m, например, C₁₋₁₂ включает C₁₋₃, C₁₋₆, C₁₋₉, C₃₋₆, C₃₋₉, C₃₋₁₂, C₆₋₉, C₆₋₁₂ и C₉₋₁₂, и т.д.; сходным образом, от n-членного до n+m-членного указывает, что число атомов в кольце составляет от n до n+m, например, 3-12-членное кольцо включает 3-членное кольцо, 4-членное кольцо, 5-членное

кольцо, 6-членное кольцо, 7-членное кольцо, 8-членное кольцо, 9-членное кольцо, 10-членное кольцо, 11-членное кольцо и 12-членное кольцо, а также включает любой диапазон от n до $n+m$, например, 3-12-членное кольцо включает 3-6-членное кольцо, 3-9-членное кольцо, 5-6-членное кольцо, 5-7-членное кольцо, 6-7-членное кольцо, 6-8-членное кольцо и 6-10-членное кольцо, и т.п.

[00366] Соединения по настоящему изобретению можно получить различными методами синтеза, хорошо известными квалифицированным специалистам в данной области, включая перечисленные ниже варианты осуществления, а также варианты осуществления, полученные комбинацией перечисленных ниже вариантов осуществления с другими методами химического синтеза, и эквивалентные замены, хорошо известные квалифицированным специалистам в данной области. Альтернативные варианты осуществления включают (но не ограничиваются только ими) раскрытые в настоящей заявке варианты осуществления.

[00367] Структуру соединений по настоящему изобретению можно подтвердить общепринятыми методами, хорошо известными квалифицированным специалистам в данной области. Если в настоящей заявке обсуждается абсолютная конфигурация соединения, то абсолютная конфигурация может быть подтверждена известными методами, такими как рентгеноструктурный анализ монокристаллов (SXRД). При исследовании методом рентгеноструктурного анализа монокристаллов (SXRД) регистрируют интенсивность дифракции на выращенном монокристалле с помощью дифрактометра Bruker D8 venture, оснащенного источником $\text{CuK}\alpha$ излучения в режиме сканирования φ/ω ; после регистрации данных проводят анализ кристаллической структуры прямым методом (Shelxs97) для установления абсолютной конфигурации.

[00368] Растворители, применяющиеся в рамках настоящей заявки, являются коммерчески доступными. В настоящем тексте используются следующие аббревиатуры: PhNTf_2 означает N-фенилбис(трифторметансульфонил)имид; $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ означает трис[дибензилиденацетон]дипалладий; DavePhos означает 2-дициклогексилфосфино-2'-(N,N-диметиламино)-бифенил; LiHMDS означает литий бис(триметилсилил)амид; NaOH означает гидроксид натрия; NaHCO_3 означает бикарбонат натрия; Boc_2O означает ди-трет-бутилдикарбонат; Et_3N означает триэтиламин; Tf_2O означает ангидрид трифторметансульфокислоты; Xantphos означает 4,5-бис(дифенилфосфино)-9,9-диметилксантен; ДМФА означает N,N-диметилформамид; DMAP означает 4-диметиламинопиридин; TBDPSCl означает трет-бутилдифенилхлорсилан; ДХМ

означает дихлорметан; ЭА означает этилацетат; катализатор Граббса II поколения означает 1,3-бис(2,4,6-триметилфенил)-2-(имидазолидинилиден)(дихлорфенилметил) (трициклогексилфосфин)рутений; ТФУК означает трифторуксусная кислота; ТГФ означает тетрагидрофуран; NBS означает N-бромсукцинимид; РМВ означает п-метоксибензил; Tf означает трифторметансульфонил; Вос означает трет-бутоксикарбонил; TIPS означает триизопропилсилил; и MOM означает метоксиметил.

[00369] Названия соединений сгенерированы согласно общеизвестным в данной области принципам или с применением программы ChemDraw®, а коммерчески доступные соединения имеют названия, используемые их поставщиками.

Краткое описание чертежей

[00370] Фиг. 1. Диаграмма связывания соединения А и белка KRAS^{G12D};

[00371] Фиг. 2. Диаграмма связывания соединения В и белка KRAS^{G12D};

[00372] Фиг. 3. Диаграмма связывания соединения С и белка KRAS^{G12D};

[00373] Фиг. 4. Диаграмма связывания соединения D и белка KRAS^{G12D};

[00374] Фиг. 5. Диаграмма связывания соединения Е и белка KRAS^{G12D};

[00375] Фиг. 6. Диаграмма связывания соединения F и белка KRAS^{G12D}.

[00376] Технический эффект

[00377] Соединение по настоящему изобретению оказывает хорошее ингибирующее действие на KRAS^{G12D} мутантные ферменты, может эффективно ингибировать p-ERK, оказывает хорошее ингибирующее действие на пролиферацию клеток в KRAS^{G12D} мутантных клетках, может эффективно подавлять рост опухоли *in vivo*, и обладает хорошей лекарственной резистентностью. Соединение по настоящему изобретению имеет хорошие фармакокинетические характеристики.

Подробное описание изобретения

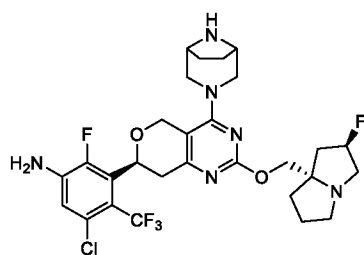
[00378] Настоящее изобретение подробно описано ниже с помощью примеров.

Однако настоящее изобретение не ограничивается только приведенными примерами.

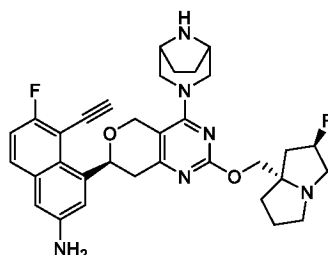
Настоящее изобретение и варианты его осуществления подробно описаны в данной заявке.

Квалифицированному специалисту в данной области будет понятно, что в описанные в настоящем тексте варианты осуществления могут быть внесены различные изменения и модификации без выхода за рамки сути и объема изобретения.

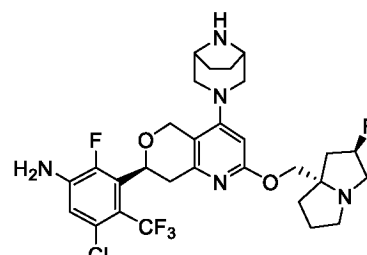
[00379] Пример расчетов 1



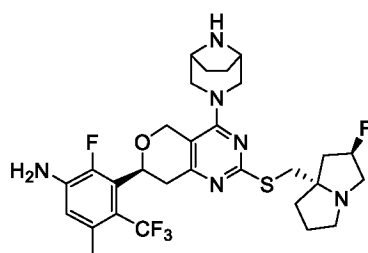
Соединение А



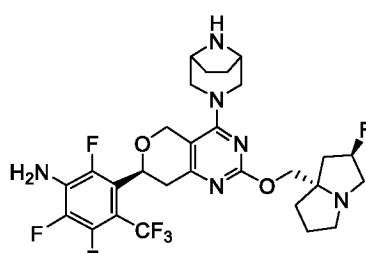
Соединение В



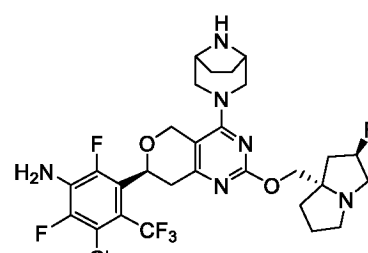
Соединение С



Соединение D



Соединение E



Соединение F

[00380] В настоящем изобретении также описан процесс докинга соединения или его фармацевтически приемлемой молекулы, который проводили с помощью Glide SP[1] и с установками по умолчанию в Maestro (Schrödinger version 2017-2). Кристаллическая структура PDB: выбирали 6UT0 для KRAS_G12C в базе данных PDB. проводили симуляцию мутации Cys12 в Asp12, которую после оптимизации энергии использовали как темплат для докинга. Для получения белка добавляли атомы водорода с использованием модуля wizard в Maestro[2], и применяли силовое поле OPLS3. Для расчета структуры лиганда генерировали 3D структуру молекулы с использованием LigPrep и проводили минимизацию энергии^[3]. Конформацию малой молекулы моделировали с помощью модуля confgen. Генерировали кубическую ячейку докинга с размерами сторон 25 Å *25 Å *25 Å, с лигандом 6UT0 в качестве центроида. Тестируемое соединение позиционировали в процессе молекулярного докинга. Анализировали тип взаимодействия белкового рецептора с лигандом, и затем выбирали подходящую конформацию для докинга и сохраняли ее в виде расчетной модели связывания, как показано на Фиг. 1 – 6.

[00381] [1] Glide, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2017.

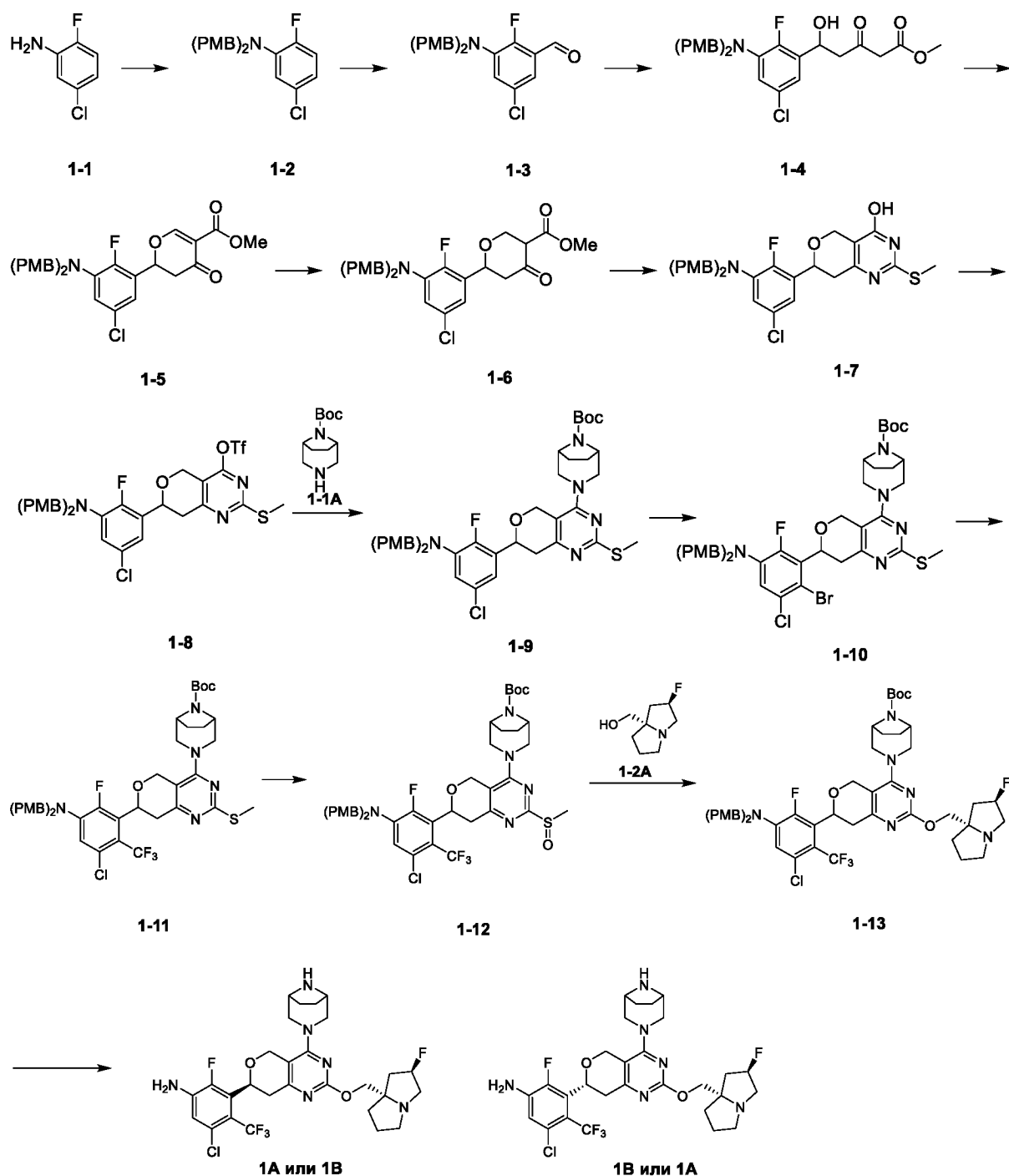
[00382] [2] Maestro, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2017.

[00383] [3] LigPrep, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2017.

[00384] Заключение: Соединения по настоящему изобретению демонстрируют

хорошее связывание с KRAS^{G12D}.

[00385] Пример 1



Стадия 1: Синтез интермедиата 1-2

[00386] В предварительно высушенную реакционную колбу добавляли соединение **1-1** (20 г, 137.40 ммоль), N,N-диметилформаид (200 мл), иодид калия (22.81 г, 137.40 ммоль), и безводный карбонат калия (47.47 г, 343.50 ммоль). Добавляли при перемешивании п-метоксибензилхлорид (44.11 г, 281.67 ммоль, 38.36 мл), затем смесь нагревали до 65 °С и перемешивали в течение 4 часов. Реакционный раствор охлаждали до

комнатной температуры и затем фильтровали через слой целита. Остаток на фильтре промывали 200 мл метил-трет-бутилового эфира, затем добавляли в фильтрат 200 мл воды для экстракции. Водную фазу экстрагировали этилацетатом (100 мл*2). Органические фазы объединяли, промывали насыщенным раствором хлорида натрия (200 мл*3), сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт суспендировали в 50 мл петролейного эфира в течение 48 часов. Смесь фильтровали. Остаток на фильтре собирали и сушили, получая продукт, соединение **1-2**, которое напрямую использовали в следующей стадии. ^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ = 7.18 - 7.17 (м, 5H), 6.85 - 6.82 (м, 6H), 4.24 (с, 4H), 3.74 - 3.71 (м, 6H). MS m/z = 386.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[00387] Стадия 2: Синтез интермедиата 1-3

[00388] 2,2,6,6-тетраметилпиперидин (43.93 г, 311.00 ммоль, 52.80 мл) растворяли в тетрагидрофуране (300 мл), и затем смесь охлаждали до -5°C . Добавляли n -бутиллитий (2.5 М, 124.40 мл). Смесь перемешивали в течение 0.5 часа, и затем охлаждали до -60°C . Добавляли раствор соединения **1-2** (30 г, 77.75 ммоль) в тетрагидрофуране (30 мл). Смесь перемешивали в течение 0.5 часа, затем добавляли N,N -диметилформамид (113.66 г, 1.55 моль, 119.64 мл). Смесь перемешивали еще 0.5 часа. В реакционный раствор добавляли 200 мл насыщенного раствора хлорида аммония. Смесь экстрагировали этилацетатом (200 мл). Слои разделяли. Органическую фазу промывали насыщенным раствором хлорида натрия (100 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали. Остаток очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 10:1), получая соединение **1-3**.

[00389] Стадия 3: Синтез интермедиата 1-4

[00390] Гидрид натрия (6.38 г, 159.47 ммоль, 60% содержание) растворяли в тетрагидрофуране (300 мл). Воздух в реакционной колбе заменяли на азот два раза, затем смесь охлаждали до 0°C . Добавляли метил ацетоацетат (18.52 г, 159.47 ммоль, 17.15 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 10 минут и затем добавляли n -бутиллитий (2.5М, 63.79 мл). Смесь перемешивали еще 10 минут и охлаждали до -15°C . Добавляли раствор соединения **1-3** (30 г, 72.49 ммоль) в тетрагидрофуране (50 мл). Смесь перемешивали еще 30 минут. В реакционный раствор добавляли 100 мл насыщенного раствора хлорида аммония. Смесь экстрагировали этилацетатом (100 мл*2). Органические

фазы объединяли, сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали. Остаток очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 10:1), получая соединение **1-4**. MS $m/z = 530.2 [M+H]^+$.

[00391] Стадия 4: Синтез интермедиата 1-5

[00392] Соединение **1-4** (20 г, 37.74 ммоль) растворяли в безводном дихлорметане (50 мл), добавляли в атмосфере азота диметилацеталь N,N-диметилформамида (5.40 г, 45.28 ммоль, 6.02 мл), и реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 16 часов. Добавляли эфират трехфтористого бора (6.43 г, 45.28 ммоль, 5.59 мл), и реакционную смесь перемешивали при 20°C в течение 1 часа. Реакционный раствор добавляли в 50 мл насыщенного раствора бикарбоната натрия. Смесь экстрагировали дихлорметаном (20 мл*2). Слои разделяли. Органические фазы объединяли, промывали 30 мл насыщенного раствора хлорида натрия, сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = от 10:1 до 1:1), получая соединение **1-5**. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) $\delta = 8.45$ (с, 1H), 7.14 (м, 4H), 7.00 - 6.69 (м, 6H), 5.80 (м, 1H), 4.27 - 4.10 (м, 5H), 3.79 (м, 1H), 3.94 - 3.66 (м, 8H), 2.98 - 2.73 (м, 1H). MS $m/z = 540.2 [M+H]^+$.

[00393] Стадия 5: Синтез интермедиата 1-6

[00394] Соединение **1-5** (12 г, 22.22 ммоль) добавляли в безводный тетрагидрофуран (30 мл), добавляли в атмосфере азота три-втор-бутилборгидрид лития (11.83 г, 62.22 ммоль, 13.60 мл), и реакционную смесь перемешивали при -60 °C в течение 1 часа. Реакционный раствор выливали в 40 мл воды. Смесь экстрагировали этилацетатом (20 мл*2). Органические фазы объединяли, затем промывали 20 мл насыщенного раствора хлорида натрия, сушили над безводным сульфатом натрия и упаривали. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = от 100:0 до 3:1), получая соединение **1-6**. MS $m/z = 542.2 [M+H]^+$.

[00395] Стадия 6: Синтез интермедиата 1-7

[00396] Соединение **1-6** (5.5 г, 10.15 ммоль) добавляли в этанол (15 мл) и воду (3 мл), затем добавляли бикарбонат натрия (2.15 г, 20.30 ммоль) и сульфат метилизотиомочевин (2.74 г, 30.44 ммоль). Смесь оставляли перемешиваться при 45-50°C в течение 16 часов. Реакционный раствор экстрагировали водой (20 мл) и

этилацетатом (20 мл*2). Объединенные органические фазы промывали насыщенным раствором хлорида натрия (20 мл*2), сушили над безводным сульфатом натрия и упаривали, получая соединение **1-7**. Полученный сырой продукт напрямую использовали в следующей стадии. MS $m/z = 582.2 [M+H]^+$.

[00397] Стадия 7: Синтез интермедиата 1-8

[00398] Соединение **1-7** (6 г, 8.04 ммоль) добавляли в безводный дихлорметан (20 мл). Добавляли N,N-диизопропилэтиламин (3.12 г, 24.12 ммоль, 4.20 мл) при 0°C. Смесь охлаждали до 0-10°C. Медленно по каплям добавляли ангидрид трифторметансульфокислоты (4.08 г, 14.47 ммоль, 2.39 мл). Смесь оставляли перемешиваться при 0°C на 0.5 часа. Реакционный раствор добавляли в 20 мл насыщенного раствора хлорида аммония. Смесь экстрагировали безводным дихлорметаном (10 мл*2). Органические фазы объединяли, промывали 20 мл насыщенного раствора хлорида натрия, сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = от 1:0 до 0:1), получая соединение **1-8**. MS $m/z = 714.1 [M+H]^+$.

[00399] Стадия 8: Синтез гидрохлорида интермедиата 1-9

[00400] Соединение **1-8** (0.8 г, 1.12 ммоль), соединение **1-1A** (475.62 мг, 2.24 ммоль) и DIPEA (434.33 мг, 3.36 ммоль, 585.35 мкл) добавляли в N,N-диметилформамид (5 мл). Смесь оставляли перемешиваться при 50°C в течение 1 часа. Реакционный раствор добавляли в насыщенный раствор хлорида аммония (20 мл). Смесь экстрагировали этилацетатом (20 мл*2). Органические фазы объединяли, промывали 20 мл насыщенного раствора хлорида натрия, сушили над безводным сульфатом натрия и упаривали. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 3:1) и затем очищали методом препаративной ВЭЖХ (хроматографическая колонка: Phenomenex Luna C18 250*50мм*10мкм; подвижная фаза: [вода (0.05% соляная кислота)-ацетонитрил]; (ацетонитрил)%: 65%-95%, 10 мин), получая гидрохлорид соединения **1-9**. MS $m/z = 776.3 [M+H]^+$.

[00401] Стадия 9: Синтез интермедиата 1-10

[00402] Соединение **1-9** гидрохлорид (1.2 г) растворяли в N,N-диметилформамиде (5 мл). Смесь охлаждали до 0°C, затем добавляли N-бромсукцинимид (330.13 мг, 1.85

ммоль), и смесь перемешивали при 20°C в течение 1 часа. Добавляли в реакционный раствор 30 мл воды. Смесь экстрагировали этилацетатом (30 мл*2). Органические фазы объединяли, промывали насыщенным раствором хлорида натрия (20 мл*2), сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали. Остаток очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = от 3:1 до 1:1), получая соединение **1-10**. MS $m/z = 856.1 [M+H]^+$.

[00403] Стадия 10: Синтез интермедиата 1-11

[00404] Соединение **1-10** (0.3 г, 350.77 мкмоль), оксид меди(I) (133.61 мг, 701.55 мкмоль), и метил фторсульфонил дифторацетат (336.94 мг, 1.75 ммоль, 223.14 мкл) растворяли в N,N-диметилформамиде (10 мл), и смесь перемешивали при 100 °C в течение 1 часа в атмосфере азота. Реакционные растворы объединяли и выливали в 30 мл воды. Смесь экстрагировали метил-трет-бутиловым эфиром (20 мл*2). Органические фазы объединяли и промывали насыщенным раствором хлорида натрия (20 мл*2), сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = от 10:1 до 1:1), получая соединение **1-11**. MS $m/z = 844.2 [M+H]^+$.

[00405] Стадия 11: Синтез интермедиата 1-12

[00406] В реакционную колбу добавляли соединение **1-11** (0.35 г, 414.52 мкмоль). Добавляли безводный дихлорметан (5 мл), и смесь перемешивали. Затем добавляли м-хлорпербензойную кислоту (126.24 мг, 621.78 мкмоль, 85% содержание), и реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 1 часа. Добавляли в реакционный раствор 5 мл 5%-ного раствора тиосульфата натрия. Смесь экстрагировали дихлорметаном (10 мл*2). Органические фазы объединяли, промывали насыщенным раствором хлорида натрия (5 мл*2), сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = от 10:1 до 1:1), получая соединение **1-12**. MS $m/z = 860.2 [M+H]^+$.

[00407] Стадия 12: Синтез интермедиата 1-13

[00408] Соединение **1-2A** (256.28 мг, 1.61 ммоль) добавляли в безводный тетрагидрофуран (5 мл) и добавляли трет-бутоксид натрия (123.76 мг, 1.29 ммоль). Смесь оставляли перемешиваться при -15°C на 15 минут. Соединение **1-12** (0.277 г, 321.96 мкмоль) добавляли, и реакционную смесь перемешивали при -15°C в течение 1 часа.

Добавляли в реакционный раствор 5 мл насыщенного раствора хлорида аммония, и смесь экстрагировали этилацетатом (10 мл*3). Органические фазы объединяли, промывали насыщенным раствором хлорида натрия (20 мл*2), сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (дихлорметан: метанол = от 20:1 до 10:1), получая соединение **1-13**. MS $m/z = 955.3 [M+H]^+$.

[00409] Стадия 13: Синтез соединений 1A и 1B

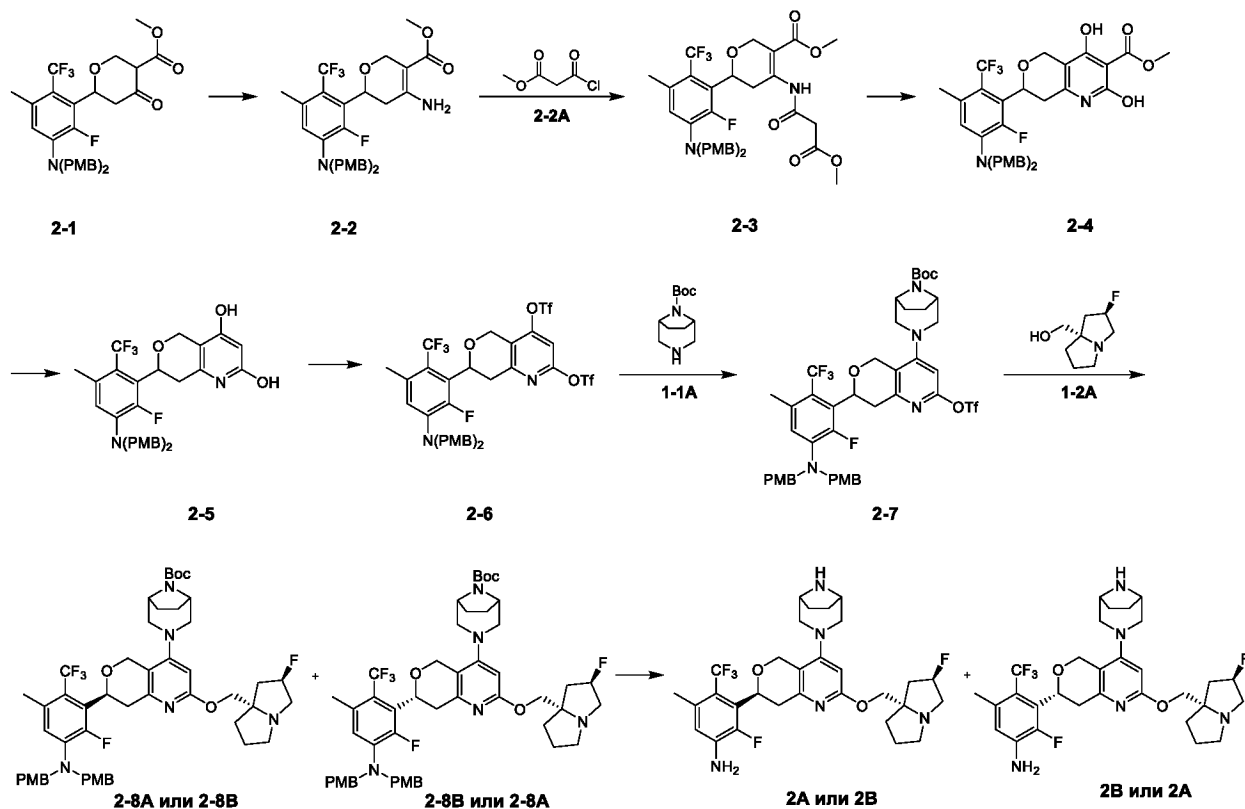
[00410] Соединение **1-13** (0.450 г, 470.98 мкмоль) добавляли в трифторуксусную кислоту (2.85 г, 24.96 ммоль, 1.85 мл) и дихлорметан (9 мл). Смесь оставляли перемешиваться при $-10-0^{\circ}\text{C}$ в течение 1 часа. Реакционный раствор выливали в 10 мл воды. Отделяли нижнюю дихлорметановую фазу. Водную фазу доводили до pH 8-10 насыщенным раствором бикарбоната натрия. Затем смесь экстрагировали этилацетатом (5 мл*2). Органические фазы объединяли, промывали насыщенным раствором хлорида натрия (5 мл*2), сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали. Полученный сырой продукт очищали методом ВЭЖХ (хроматографическая колонка: Phenomenex C18 75*30мм*3мкм; подвижная фаза: [вода (0.05% соляная кислота)-ацетонитрил]; (ацетонитрил)%: 1%-35%, 8 мин), и затем очищали методом сверхкритической флюидной хроматографии (хроматографическая колонка: DAICEL CHIRALCEL OD (250мм*30мм, 10мкм); подвижная фаза: [сверхкритический CO₂-метанол (0.1% аммиак)]; метанол (0.1% аммиак) %: 36%-36%, 7 мин), получая соединение **1A** и соединение **1B**. Анализ методом сверхкритической флюидной хроматографии (хроматографическая колонка: DAICEL CHIRALCEL OD-3 (мм*4.6мм, 3мкм); подвижная фаза: [сверхкритический CO₂-метанол (0.1% диэтиламин)]; (метанол)%: 40%-40%), соединение **1A**, $R_t = 3.151$ минут, значение ee = 99%; соединение **1B**, $R_t = 4.085$ минут, значение ee = 93%.

[00411] Соединение **1A**: ¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD) $\delta = 6.93$ (д, $J = 8.0$ Гц, 1H), 5.68 - 5.46 (м, 1H), 5.32 - 5.19 (м, 1H), 4.78 - 4.69 (м, 1H), 4.63 - 4.46 (м, 2H), 4.41 - 4.28 (м, 1H), 4.24 - 4.08 (м, 2H), 4.04 - 3.74 (м, 5H), 3.73 - 3.65 (м, 1H), 3.55 - 3.41 (м, 2H), 3.02 - 2.89 (м, 1H), 2.80 - 2.48 (м, 2H), 2.48 - 2.24 (м, 4H), 2.24 - 2.04 (м, 3H), 2.03 - 1.91 (м, 1H), 2.04 - 1.90 (м, 1H). MS $m/z = 615.4 [M+H]^+$.

[00412] Соединение **1B**: ¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD) $\delta = 6.98 - 6.85$ (м, 1H), 5.54 -

5.39 (м, 1H), 5.35 - 5.19 (м, 2H), 4.76 - 4.66 (м, 1H), 4.63 - 4.53 (м, 1H), 4.39 - 4.14 (м, 4H), 4.06 - 3.89 (м, 3H), 3.78 - 3.62 (м, 2H), 3.62 - 3.50 (м, 2H), 3.27 - 3.09 (м, 3H), 2.99 - 2.86 (м, 1H), 2.48 - 2.25 (м, 2H), 2.13 - 1.83 (м, 6H). MS $m/z = 615.4 [M+H]^+$.

[00413] Пример 2



[00414] Стадия 1: Синтез интермедиата 2-2

[00415] Соединение 2-1 (11.0 г, 18.66 ммоль) добавляли в безводный метанол (150 мл), затем добавляли ацетат аммония (7.19 г, 93.29 ммоль). Результирующий реакционный раствор нагревали до 60°C и перемешивали 48 часов. Реакционный раствор упаривали, остаток растворяли в 300 мл этилацетата, затем добавляли 50 мл воды, и смесь перемешивали до прозрачности. Водный слой отделяли, и органическую фазу промывали водой (30 мл*2) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (30 мл). Органическую фазу упаривали, получая сырой продукт, который очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 30:1), получая соединение 2-2. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ: 7.16 (д, $J = 8.4$ Гц, 4H), 6.84 (д, $J = 8.4$ Гц, 4H), 6.62 (д, $J = 8.4$ Гц, 1H), 4.99 (ушир, $J = 10.5$ Гц, 1H), 4.63 (д, $J = 13.6$ Гц, 1H), 4.42 - 4.21 (м, 5H), 3.80 (с, 6H), 3.71 (с, 3H), 3.07 (ушир, $J = 11.2, 16.2$ Гц, 1H), 2.34-2.32 (м, 3H), 2.26-2.19 (м, 1H); MS $m/z = 589.1 [M+H]^+$.

[00416] Стадия 2: Синтез интермедиата 2-3

[00417] Соединение **2-2** (7.56 г, 12.84 ммоль) и N,N-диизопропилэтиламин (3.32 г, 25.69 ммоль, 4.47 мл) растворяли в тетрагидрофуране (150 мл). Смесь охлаждали до 0°C в атмосфере азота, затем соединение **2-2A** (2.10 г, 15.41 ммоль, 1.64 мл) добавляли по каплям. После окончания добавления смесь перемешивали при 15°C в течение 15 часов. Реакционный раствор упаривали, получая сырой продукт, который очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 10:1), получая соединение **2-3**, MS m/z = 689.1 [M+H]⁺.

[00418] Стадия 3: Синтез интермедиата 2-4

[00419] Соединение **2-3** (2.94 г, 4.27 ммоль) растворяли в тетрагидрофуране (30 мл), затем добавляли метоксид натрия (461.27 мг, 8.54 ммоль) и безводный метанол (0.5 мл). Результирующий реакционный раствор перемешивали при 50°C в течение 4 часов в атмосфере азота. Реакционный раствор охлаждали до комнатной температуры. Реакционный раствор доводили до pH 4-5 добавлением 0.5M соляной кислоты. Растворитель упаривали на ротонном испарителе. Остаток растворяли в 150 мл этилацетата, затем промывали 30 мл воды и 30 мл насыщенного раствора хлорида натрия. Органическую фазу упаривали, получая сырой продукт, который очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 10:1), получая соединение **2-4**. MS m/z = 657.2 [M+H]⁺.

[00420] Стадия 4: Синтез интермедиата 2-5

[00421] Соединение **2-4** (200 мг, 304.59 мкмоль) растворяли в диметилсульфоксиде (10 мл), и затем добавляли хлорид лития (51.65 мг, 1.22 ммоль, 24.95 мкл). Результирующий реакционный раствор нагревали до 120 °C и перемешивали в течение 4 часов. Смесь разводили добавлением 150 мл этилацетата, промывали водой (20 мл*3) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (20 мл). Органическую фазу упаривали, получая сырой продукт, который очищали методом колоночной хроматографии (метанол/дихлорметан = 1:10), получая соединение **2-5**, MS m/z = 599.2 [M+H]⁺.

[00422] Стадия 5: Синтез интермедиата 2-6

[00423] Соединение **2-5** (400 мг, 668.24 мкмоль) и PhNTf₂ (477.46 мг, 1.34 ммоль) добавляли в N,N-диметилформамид (1.5 мл). Добавляли N,N-диизопропилэтиламин (345.46 мг, 2.67 ммоль, 465.58 мкл). Реакционный раствор перемешивали при 15°C в течение 3 часов. Реакционный раствор упаривали, получая сырой продукт, который

очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 10:1), получая соединение **2-6**, MS $m/z = 862.8 [M+H]^+$.

[00424] Стадия 6: Синтез интермедиата 2-7

[00425] Соединение **2-6** (580 мг, 672.30 мкмоль) и соединение **1-1A** (142.72 мг, 672.30 мкмоль) добавляли в N,N-диметилформамид (4 мл). Добавляли N,N-диизопропилэтиламин (173.78 мг, 1.34 ммоль, 234.21 мкл). Результирующий реакционный раствор нагревали до 60°C и перемешивали в течение 3 часов. Реакционный раствор упаривали, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 10:1), получая соединение **2-7**, MS $m/z = 925.4 [M+H]^+$.

[00426] Стадия 7: Синтез интермедиатов 2-8A и 2-8B

[00427] Соединение **2-7** (106 мг, 114.60 мкмоль) и соединение **1-2A** (54.74 мг, 343.81 мкмоль) добавляли в диоксан (2 мл). Добавляли Pd₂(dba)₃ (20.99 мг, 22.92 мкмоль), DavePhos (18.04 мг, 45.84 мкмоль) и LiHMDS (1M, 343.81 мкл). Воздух в реакционной колбе заменяли на азот, и смесь нагревали при 95°C в течение 15 часов. Реакционный раствор упаривали. В остаток добавляли воду (1 мл) и этилацетат (30 мл). Смесь доводили до pH 7-8 добавлением 0.5M соляной кислоты. Органическую фазу отделяли. Водную фазу экстрагировали два раза по 10 мл этилацетата. Органические фазы объединяли и упаривали, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт разделяли методом препаративной тонкослойной хроматографии (этилацетат: метанол = 20:1). Образец, выделенный методом препаративной тонкослойной хроматографии, дополнительно очищали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (хроматографическая колонка: Welch Xtimate C18 100*40мм*3мкм; подвижная фаза: [вода (0.075% трифторуксусная кислота)-ацетонитрил]; (ацетонитрил)%: 43%-73%, 8 мин) и упаривали, получая соединение **2-8A**, MS $m/z = 934.9 [M+H]^+$ и соединение **2-8B**, MS $m/z = 934.9 [M+H]^+$.

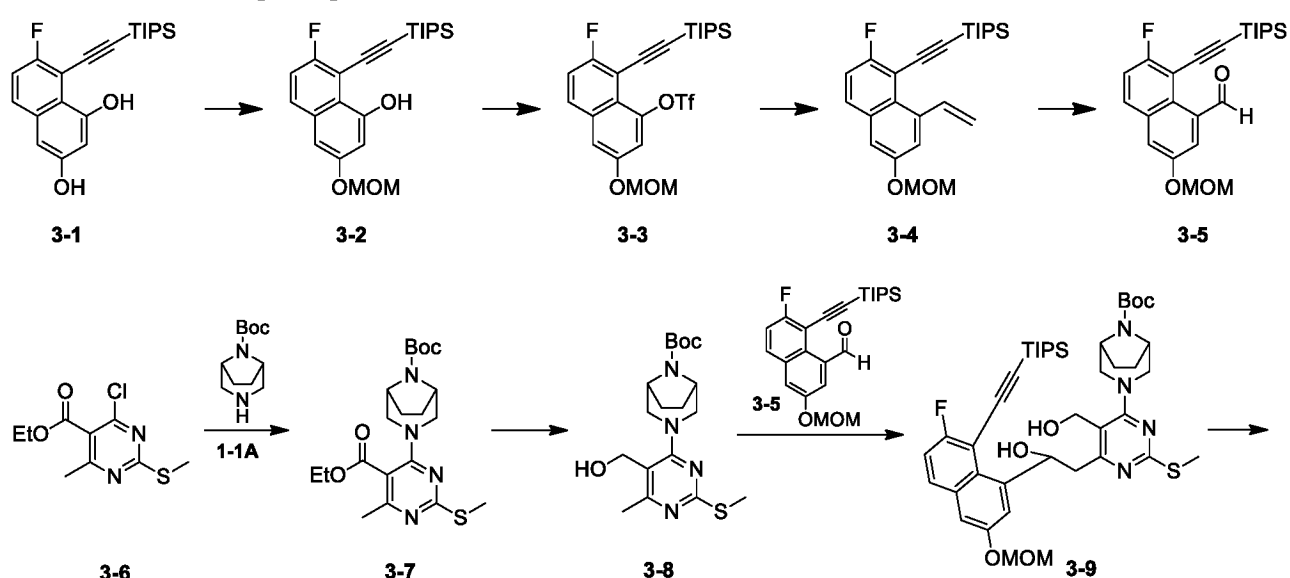
[00428] Стадия 8: Синтез гидрохлорида соединения 2A и гидрохлорида соединения 2B

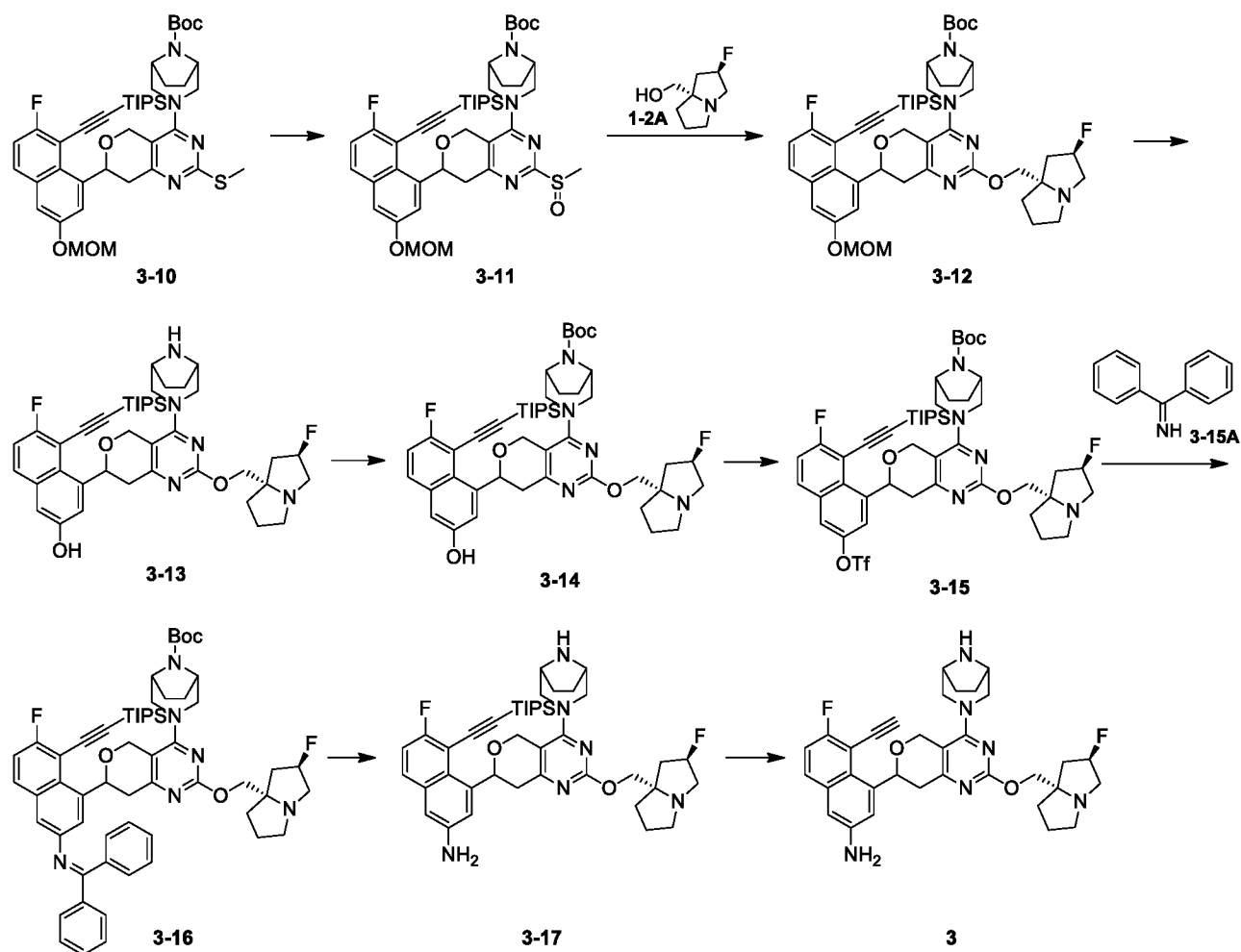
[00429] Трифторуксусную кислоту (0.3 мл) добавляли к соединению **2-8A** (43 мг, 46.04 мкмоль), и смесь перемешивали при 20 °C в течение 2 часов в атмосфере азота. Реакционный раствор упаривали, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт

растворяли в ацетонитриле и очищали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (хроматографическая колонка: Xtimate C18 150*40мм*5мкм; подвижная фаза: [вода (0.05% соляная кислота)-ацетонитрил]; (ацетонитрил)%: 5%-35%, 10 мин),, получая гидрохлорид соединения **2A**, MS m/z = 594.3 [M+H]⁺.

[00430] Трифторуксусную кислоту (0.3 мл) добавляли к соединению **2-8B** (52 мг, 55.67 мкмоль), и результирующий реакционный раствор перемешивали при 20 °C в течение 2 часов в атмосфере азота. Реакционный раствор упаривали, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (хроматографическая колонка: Xtimate C18 150*40мм*5мкм; подвижная фаза: [вода (0.05% соляная кислота)-ацетонитрил]; (ацетонитрил)%: 5%-35%, 10 мин),, получая гидрохлорид соединения **2B**, LCMS m/z = 594.4 [M+H]⁺.

[00431] Пример 3





[00432] Стадия 1: Синтез интермедиата 3-2

[00433] Соединение **3-1** (50 г, 139.46 ммоль) добавляли в безводный дихлорметан (500 мл). Добавляли *N,N*-диизопропилэтилендиамин (54.07 г, 418.39 ммоль, 72.87 мл). Смесь охлаждали до 0°C и медленно добавляли по каплям хлорметилметилвый эфир (15.59 г, 193.64 ммоль, 14.71 мл). Полученную смесь медленно нагревали до 18°C в течение 1 часа. Реакционный раствор выливали в 500 мл ледяной воды. Смесь экстрагировали дихлорметаном (100 мл*2). Органические фазы объединяли, затем промывали последовательно 500 мл насыщенного раствора карбоната натрия, 500 мл насыщенного раствора хлорида аммония и 500 мл полунасыщенного раствора хлорида натрия, сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 3:1), получая соединение **3-2**. MS $m/z = 403.2 [M+H]^+$.

[00434] Стадия 2: Синтез интермедиата 3-3

[00435] Соединение **3-2** (36 г, 89.42 ммоль) и *N,N*-диизопропилэтилендиамин

(34.67 г, 268.27 ммоль, 46.73 мл) добавляли в безводный дихлорметан (360 мл). Смесь охлаждали до -40°C и добавляли по каплям ангидрид трифторметансульфоуксусной кислоты (37.85 г, 134.14 ммоль, 22.13 мл). Смесь перемешивали 1 час. Реакционный раствор выливали в 300 мл ледяной воды. Смесь разделяли и экстрагировали. Органическую фазу промывали последовательно 200 мл насыщенного раствора бикарбоната натрия, 200 мл насыщенного раствора хлорида аммония и 200 мл насыщенного раствора хлорида натрия, сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 10:1), получая соединение **3-3**. ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ = 7.71 (дд, J = 5.2, 9.2 Гц, 1H), 7.43 (д, J = 2.4 Гц, 1H), 7.36 (д, J = 2.0 Гц, 1H), 7.33 (т, J = 8.8 Гц, 1H), 5.28 (с, 2H), 3.53 (с, 3H), 1.28 - 1.18 (м, 21H).

[00436] Стадия 3: Синтез интермедиата 3-4

[00437] Соединение **3-3** (34 г, 63.59 ммоль) добавляли в N,N -диметилформамид (340 мл). Добавляли винилтрибутилолово (42.03 г, 132.55 ммоль, 38.56 мл) и хлорид лития (10.78 г, 254.38 ммоль, 5.21 мл). Воздух в реакционной колбе заменяли 3 раза на азот. Добавляли трифенилфосфин палладий дихлорид (4.46 г, 6.36 ммоль) в атмосфере азота. Смесь оставляли перемешиваться при 30°C в течение 20 часа. Добавляли в реакционный раствор 300 мл 20%-ного водного раствора KF и 300 мл метил-трет-бутилового эфира. Смесь перемешивали в течение 20 минут, затем фильтровали через слой целита. Остаток на фильтре промывали метил-трет-бутиловым эфиром (50 мл*4). Водную фазу отбрасывали, а органическую фазу промывали 500 мл насыщенного раствора хлорида натрия, сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали при пониженном давлении. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 5:1), получая соединение **3-4**. MS m/z = 413.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[00438] Стадия 4: Синтез интермедиата 3-5

[00439] Соединение **3-4** (20 г, 48.47 ммоль) добавляли в безводный тетрагидрофуран (200 мл) и воду (50 мл). Смесь охлаждали до 0°C . Добавляли периодат натрия (31.10 г, 145.42 ммоль, 8.06 мл) и тетроксид осмия (1.5 г, 5.90 ммоль, 306.12 мкл). Полученную смесь медленно нагревали до 18°C . Реакционную смесь перемешивали в течение 1 часа. Реакционную смесь выливали в 300 мл 10%-ного раствора тиосульфата

натрия. Смесь экстрагировали этилацетатом (100 мл*2), промывали 500 мл насыщенного раствора хлорида натрия, сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 5:1), получая соединение **3-5**. MS $m/z = 415.3 [M+H]^+$.

[00440] Стадия 5: Синтез интермедиата 3-7

[00441] В раствор соединения **3-6** (1 г, 4.05 ммоль) и **1-1A** (1.03 г, 4.86 ммоль) в дихлорметане добавляли N,N-диизопропилэтиламин (1.05 г, 8.11 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре 25°C в течение 1 часа. Добавляли в реакционный раствор воду (20 мл) и дихлорметан (50 мл). Смесь перемешивали в течение 5 минут. Водную фазу отделяли, и органическую фазу упаривали при пониженном давлении. Остаток очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 5:1), получая соединение **3-7**. MS $m/z = 423.1 [M+H]^+$.

[00442] Стадия 6: Синтез интермедиата 3-8

[00443] В раствор соединения **3-7** (0.6 г, 1.42 ммоль) в тетрагидрофуране (5 мл) добавляли литийалюминийгидрид (0.1 г, 2.84 ммоль) порциями при 0°C (на ледяной бане) в атмосфере азота. Полученную смесь оставляли нагреваться до 25°C и перемешивали в течение 2 часов. Воду (0.1 г), 15%-ный водный раствор гидроксида натрия (0.1 г) и воду (0.3 г) последовательно добавляли по каплям в реакционный раствор. Смесь перемешивали в течение 30 минут, затем фильтровали. Остаток на фильтре промывали тетрагидрофураном (10 мл). Фильтрат упаривали при пониженном давлении, получая соединение **3-8**. MS $m/z = 381.1 [M+H]^+$.

[00444] Стадия 7: Синтез интермедиата 3-9

[00445] В раствор соединения **3-8** (0.5 г, 1.33 ммоль) в тетрагидрофуране (10 мл) добавляли диизопропиламид лития (1.51 мл, 3.02 ммоль, 2M) по каплям при -65°C (на бане сухой лед-этилацетат) в атмосфере азота. После 30 минут перемешивания, добавляли по каплям раствор соединения **3-5** (0.5 г, 1.51 ммоль) в тетрагидрофуране (5 мл). Полученную смесь оставляли нагреваться до 25°C. Добавляли в реакционный раствор 0.1M разбавленный водный раствор соляной кислоты (15 мл) и этилацетат (20 мл). Смесь перемешивали в течение 10 минут. Водную фазу отделяли, органическую фазу упаривали при пониженном давлении, и остаток очищали методом колоночной хроматографии

(петролейный эфир: этилацетат = 5:1), получая соединение **3-9**. MS $m/z = 795.4 [M+H]^+$.

[00446] Стадия 8: Синтез интермедиата 3-10

[00447] В раствор соединения **3-9** (0.51 г, 641.44 мкмоль) в тетрагидрофуране (10 мл) добавляли *n*-бутиллитий (2.5 М, 564.47 мкл) при -65°C (на бане сухой лед-этилацетат) в атмосфере азота. После 30 минут перемешивания, добавляли по каплям *p*-толуолсульфонилхлорид (183.43 мг, 962.16 мкмоль) в тетрагидрофуране (3 мл). Полученную смесь оставляли нагреваться до 25°C и перемешивали в течение 2 часов. Реакцию гасили добавлением 50 мл насыщенного водного раствора хлорида аммония. Смесь экстрагировали 50 мл этилацетата. Водную фазу отделяли. Органическую фазу упаривали при пониженном давлении. Остаток очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 5:1), получая соединение **3-10**. MS $m/z = 777.4 [M+H]^+$.

[00448] Стадия 9: Синтез интермедиата 3-11

[00449] В раствор соединения **3-10** (45 мг, 57.91 мкмоль) в дихлорметане (2 мл) добавляли мета-хлорпербензойную кислоту (14.11 мг, 69.49 мкмоль, 85% содержание). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре 25°C в течение 2 часов. Добавляли в реакционный раствор 2 мл насыщенного водного раствора бикарбоната натрия, 2 мл насыщенного водного раствора сульфита натрия и 5 мл дихлорметана, и смесь перемешивали в течение 5 минут. Водную фазу отделяли, и органическую фазу упаривали при пониженном давлении. Остаток очищали методом препаративной ТСХ (петролейный эфир: этилацетат = 5:1), получая соединение **3-11**. MS $m/z = 793.4 [M+H]^+$.

[00450] Стадия 10: Синтез интермедиата 3-12

[00451] В раствор соединения **1-2A** (32.12 мг, 201.76 мкмоль) в тетрагидрофуране (2 мл) добавляли трет-бутоксид натрия (19.39 мг, 201.76 мкмоль) при 0°C (на ледяной бане) в атмосфере азота. После 30 минут перемешивания, добавляли соединение **3-11** (40 мг, 50.44 мкмоль). Полученную смесь оставляли нагреваться до 25°C и перемешивали в течение 2 часов. Реакционный раствор доводили до рН примерно 6 добавлением 0.5М разбавленной соляной кислоты. Добавляли 5 мл этилацетата и 2 мл насыщенного раствора хлорида натрия. Смесь перемешивали в течение 5 минут. Водную фазу отделяли, и органическую фазу упаривали при пониженном давлении, получая соединение **3-12**. MS $m/z = 888.5 [M+H]^+$.

[00452] Стадия 11: Синтез гидрохлорида интермедиата 3-13

[00453] В раствор соединения **3-12** (45 мг, 50.67 мкмоль) в дихлорметане (1 мл) добавляли раствор хлороводорода в этилацетате (4 М, 126.67 мкл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре 2 часа и упаривали при пониженном давлении, получая гидрохлорид соединения **3-13**. MS $m/z = 744.4$ $[M+H]^+$.

[00454] Стадия 12: Синтез интермедиата 3-14

[00455] В раствор гидрохлорида соединения **3-13** (0.5 г, 612.06 мкмоль) в MeOH (10 мл) добавляли NaHCO₃ (2 М, 1.53 мл) и Voc₂O (267.16 мг, 1.22 ммоль, 281.22 мкл). Смесь перемешивали при комнатной температуре 2 часа. Реакционный раствор упаривали при пониженном давлении для удаления метанола. В остаток добавляли 10 мл этилацетата и 5 мл насыщенного раствора хлорида натрия, и смесь перемешивали в течение 5 минут. Водную фазу отделяли, и органическую фазу упаривали при пониженном давлении, получая соединение **3-14**, MS $m/z = 844.4$ $[M+H]^+$.

[00456] Стадия 13: Синтез интермедиата 3-15

[00457] В раствор соединения **3-14** (1.2 г, 1.42 ммоль) в ДХМ (5 мл) добавляли Et₃N (287.70 мг, 2.84 ммоль, 395.74 мкл) и Tf₂O (601.64 мг, 2.13 ммоль, 351.83 мкл). Смесь перемешивали при комнатной температуре 2 часа. Добавляли в реакционный раствор 10 мл воды и 10 мл дихлорметана, и смесь перемешивали в течение 10 минут. Водную фазу отделяли. Органическую фазу упаривали при пониженном давлении. Остаток очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 1:1), получая соединение **3-15**, MS $m/z = 976.2$ $[M+H]^+$.

[00458] Стадия 14: Синтез интермедиата 3-16

[00459] Соединение **3-15** (200 мг, 204.88 мкмоль), соединение **3-15A** (74.26 мг, 409.76 мкмоль, 68.76 мкл), карбонат цезия (200.26 мг, 614.64 мкмоль) и Xantphos (23.71 мг, 40.98 мкмоль) добавляли в безводный толуол (5 мл). Воздух в реакционной колбе заменяли три раза на азот. Добавляли трис(дибензилиденацетон)дипалладий (18.76 мг, 20.49 мкмоль). Смесь оставляли перемешиваться при 100°C в течение 3 часов в атмосфере азота. Реакционный раствор охлаждали до комнатной температуры, фильтровали через слой целита и промывали 30 мл этилацетата. Маточный раствор упаривали при пониженном давлении, получая соединение **3-16**.

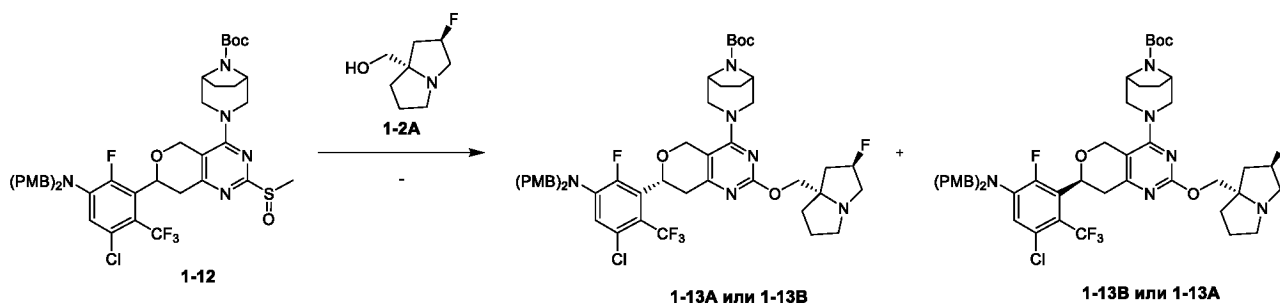
[00460] Стадия 15: Синтез гидрохлорида интермедиата 3-17

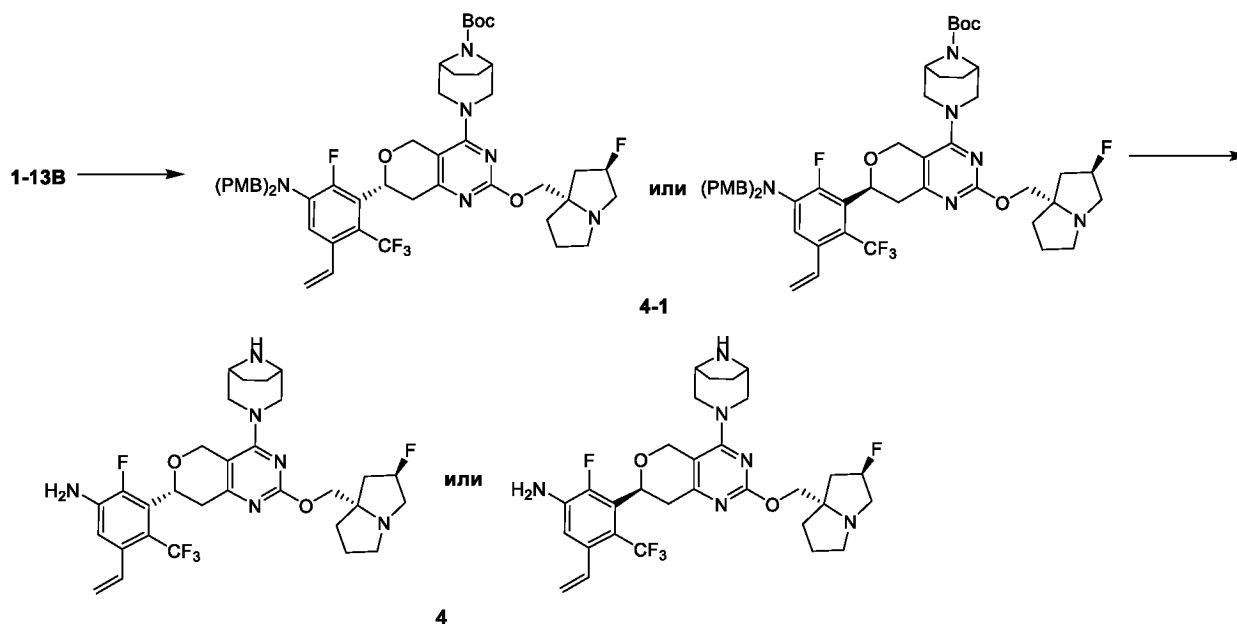
[00461] Соединение **3-16** (180 мг, 178.69 мкмоль) добавляли в 4М раствор хлороводорода в метаноле (5 мл). Смесь оставляли перемешиваться при комнатной температуре в течение 1 часа. Реакционный раствор упаривали, получая неочищенный гидрохлорид соединения **3-17**. MS $m/z = 743.3 [M+H]^+$.

[00462] **Стадия 16: Синтез гидрохлорида соединения 3**

[00463] Гидрохлорид соединения **3-17** (180.00 мг), фторид цезия (73.60 мг, 484.51 мкмоль), и безводный карбонат калия (267.86 мг, 1.94 ммоль) добавляли в N,N-диметилформамид (10 мл). Смесь оставляли перемешиваться при 60°C в течение 16 часов. Добавляли в реакционный раствор 10 мл воды. Смесь экстрагировали 10 мл*2 этилацетата. Органические фазы объединяли, промывали насыщенным раствором хлорида натрия (10 мл*3), сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали. Продукт очищали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (хроматографическая колонка: Phenomenex luna C18 80*мм*3мм; подвижная фаза: [вода (0.05% соляная кислота)-ацетонитрил]; (ацетонитрил)%: 1%-20%, 7 мин), получая гидрохлорид соединения **3**. ^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) $\delta = 7.75 - 7.63$ (м, 1H), 7.42 - 7.24 (м, 2H), 6.91 - 6.81 (м, 1H), 6.57 - 6.41 (м, 1H), 5.58 - 5.45 (м, 2H), 5.36 - 5.14 (м, 1H), 5.06 - 4.90 (м, 1H), 4.84 - 4.58 (м, 2H), 3.97 - 3.78 (м, 3H), 3.66 - 3.38 (м, 2H), 3.10 - 2.89 (м, 4H), 2.85 - 2.64 (м, 1H), 2.15 - 1.89 (м, 6H), 1.87 - 1.56 (м, 9H). MS $m/z = 587.3 [M+H]^+$.

[00464] **Пример 4**





[00465] Стадия 1: Синтез интермедиата 1-13В

[00466] Соединение **1-12** (4.16 г, 26.15 ммоль) растворяли в безводном тетрагидрофуране (150 мл) в атмосфере азота. Смесь охлаждали до 20°C. Добавляли трет-бутоксид натрия (2.85 г, 29.64 ммоль). Смесь перемешивали в течение 0.5 часа. Раствор соединения **1-2А** (15 г, 17.43 ммоль) в ТГФ (15 мл) добавляли по каплям в реакционный раствор. Смесь перемешивали при той же температуре 0.5 часа. Реакционный раствор выливали в насыщенный водный раствор хлорида аммония (200 мл). Смесь экстрагировали этилацетатом (100 мл x 3). Органические фазы объединяли и упаривали, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (хроматографическая колонка: Phenomenex luna C18 (250*мм, 15мкм); подвижная фаза: [вода (0.05% соляная кислота)-ацетонитрил]; ацетонитрил%: 40%-70%, 20 мин), и затем очищали еще раз (хроматографическая колонка: Phenomenex luna c18 250мм*100мм*10мкм; подвижная фаза: [вода (0.025% трифторуксусная кислота)- ацетонитрил]; ацетонитрил%: 40%-70%, 20 мин), получая продукт, который очищали методом сверхкритической флюидной хроматографии (SFC) (хроматографическая колонка: DAICEL CHIRALPAK IE (250мм*30мм, 10мкм); подвижная фаза: А: сверхкритический CO₂, В: [ацетонитрил/изопропанол = 1:1 (0.1% аммиак в воде)]; В%: 65%-65%, 45 мин), получая соединение **1-13А** и **1-13В**. SFC анализ: (хроматографическая колонка: DAICEL CHIRALPAK IE (50мм*4.6мм, 3мкм); подвижная фаза: А: сверхкритический CO₂, В:

[ацетонитрил/изопропанол = 1:1 (0.1% диизопропиламин)]; В%: 50%-50%), соединение **1-13А**, время удерживания = 2.143; соединение **1-13В**, время удерживания = 4.935. MS m/z = 955.5 [M+H]⁺.

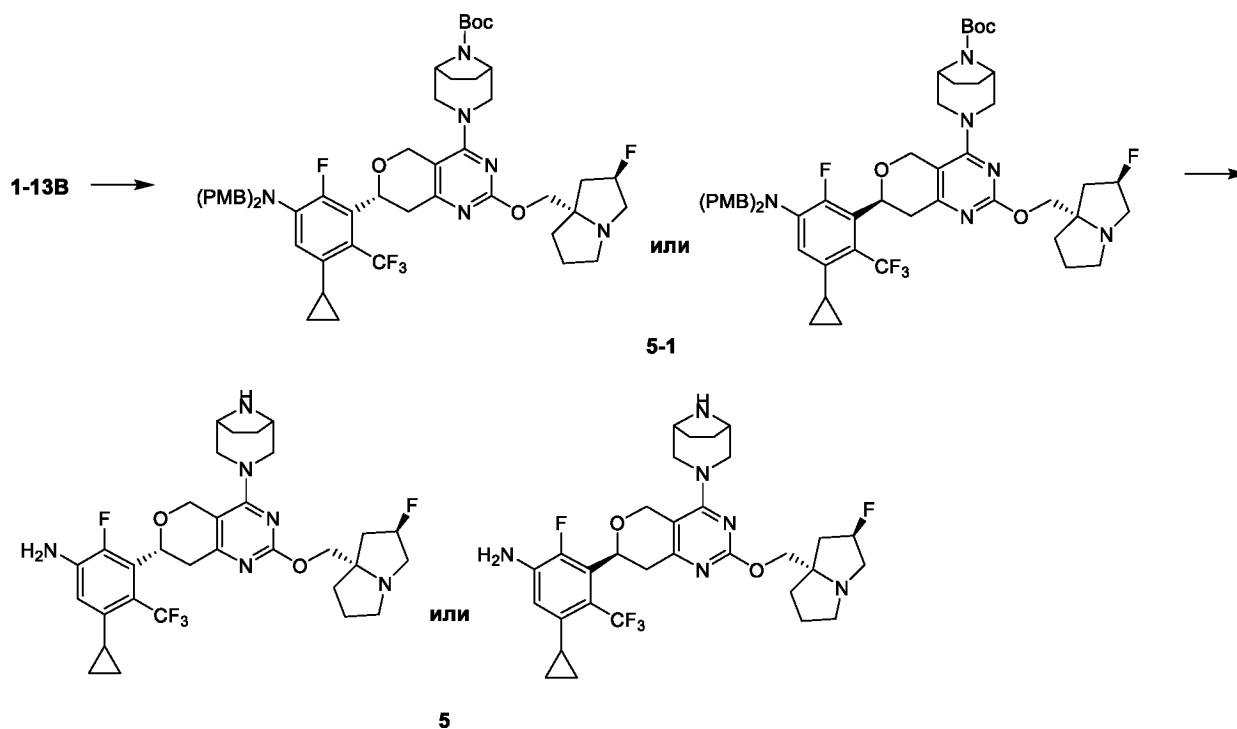
[00467] Стадия 2: Синтез интермедиата 4-1

[00468] Соединение **1-13В** (120 мг, 125.60 мкмоль), безводный фосфат калия (53.32 мг, 251.19 мкмоль), и этилентрифторборат калия (25.24 мг, 188.39 мкмоль) растворяли в 1,4-диоксане (1 мл) и воде (0.2 мл). Воздух в реакционной колбе заменяли три раза на азот. Добавляли хлор[(н-бутилди(1-адамантил)фосфин)-2-(2-аминобифенил)]палладий(II) (8.40 мг, 12.56 мкмоль). Смесь оставляли перемешиваться при 80°C в течение 3 часов. Реакционный раствор выливали в воду (5 мл). Смесь экстрагировали этилацетатом (10 мл x 2), разделяли, сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали, получая соединение **4-1**. MS m/z =947.4 [M+H]⁺.

[00469] Стадия 3: Синтез гидрохлорида соединения 4

[00470] Соединение **4-1** (100 мг, 105.59 мкмоль) растворяли в безводном дихлорметане (2 мл). Добавляли трифторуксусную кислоту (770.00 мг, 6.75 ммоль). Смесь оставляли перемешиваться при 20 °С в течение 3 часов. Реакционный раствор упаривали, получая сырой продукт. Продукт очищали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (хроматографическая колонка: Phenomenex Luna 80*30мм*3мкм; подвижная фаза: [вода (0.05% соляная кислота)-ацетонитрил]; ацетонитрил%: 1%-30%, 8 мин), получая гидрохлорид соединения **4**. MS m/z =607.4 [M+H]⁺.

[00471] Пример 5

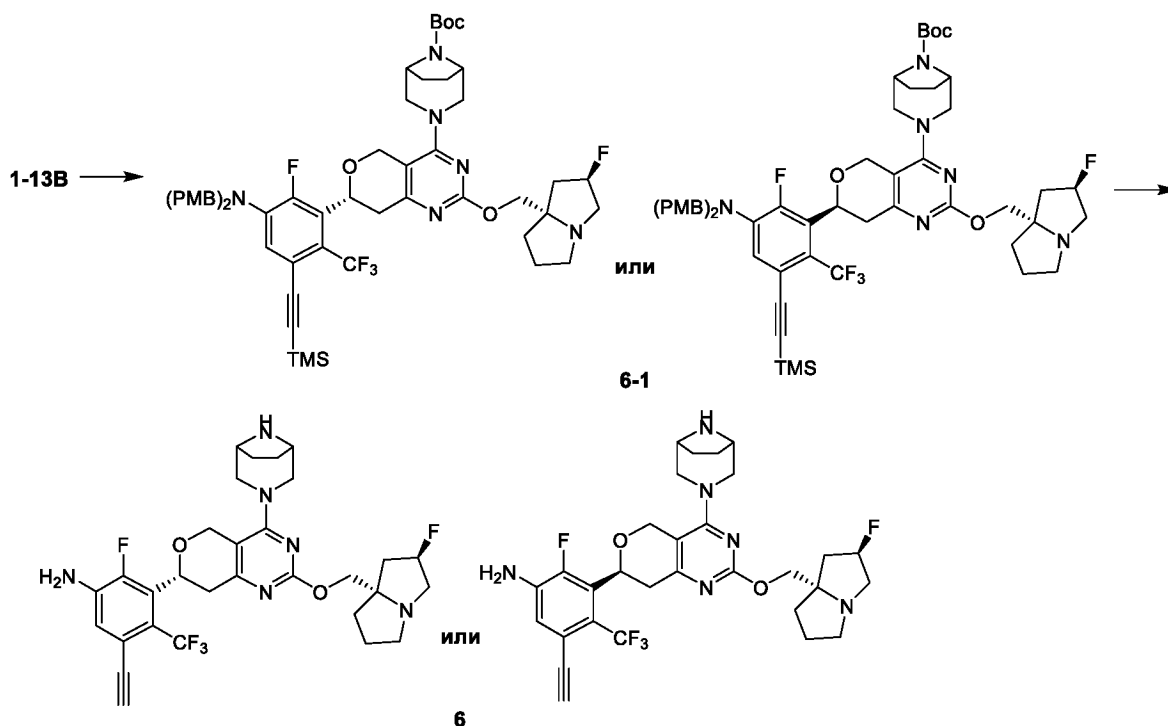


[00472] Стадия 1: Синтез интермедиата 5-1

[00473] Соединение **1-13B** (100 мг, 104.66 мкмоль), фосфат калия (55.54 мг, 261.66 мкмоль) и циклопропилбороновую кислоту (89.90 мг, 1.05 ммоль) добавляли в 1,4-диоксан (2.5 мл) и воду (0.5 мл). Воздух в реакционной колбе заменяли три раза на азот. Добавляли хлор(2-дициклогексилфосфин-2',6'-диметокси-1,1'-бифенил)[2-(2'-амино-1,1'-бифенил)] палладий (II) (7.54 мг, 10.47 мкмоль). Смесь оставляли перемешиваться при 100°C в течение 3 часов в атмосфере азота. Реакционный раствор охлаждали до комнатной температуры и упаривали при пониженном давлении, получая сырое соединение **5-1**, MS $m/z = 961.5 [M+H]^+$.

[00474] Стадия 2: Синтез гидрохлорида соединения 5

[00475] К соединению **5-1** (150 мг, 156.08 мкмоль) добавляли трифторуксусную кислоту (1.60 г, 14.05 ммоль). Смесь перемешивали в безводном дихлорметане (5 мл) при 0°C в течение 16 часов. Реакционный раствор выливали в 10 мл воды. Органическую фазу отделяли. Водную фазу экстрагировали этилацетатом (5 мл*2). Органические фазы объединяли, сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали. Остаток очищали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (хроматографическая колонка: Phenomenex Luna 80*30мм*3мкм; подвижная фаза: [вода (0.05% соляная кислота)-ацетонитрил]; ацетонитрил%: 1%-30%, 8 мин), получая гидрохлорид соединения **5**. MS $m/z = 621.3 [M+H]^+$.

[00476] Пример 6**[00477] Стадия 1: Синтез интермедиата 6-1**

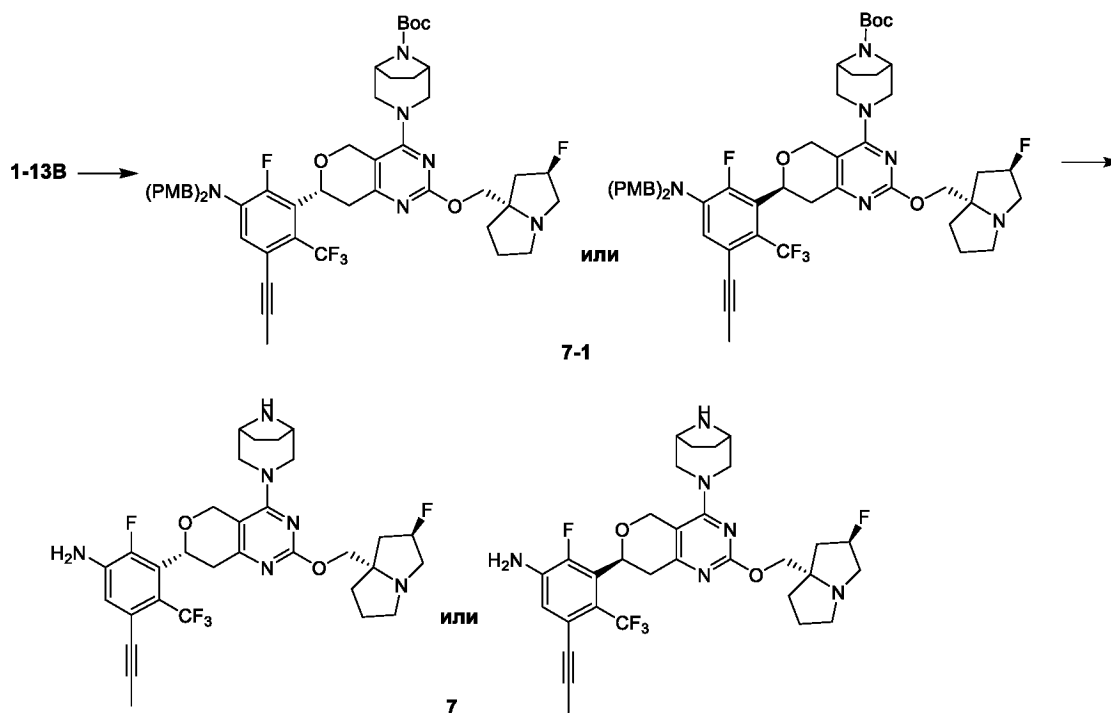
[00478] Соединение **1-13B** (120 мг, 125.60 мкмоль), бис(ацетонитрил)палладий(II) хлорид (3.26 мг, 12.56 мкмоль), карбонат цезия (122.76 мг, 376.79 мкмоль) и 2-дихлоргексилфосфино-2',4',6'-триизопропилбифенил (11.97 мг, 25.12 мкмоль) растворяли в ацетонитриле (1.5 мл). Воздух в реакционной колбе заменяли три раза на азот. Смесь перемешивали при комнатной температуре 0.5 часа. Добавляли в реакционный раствор триметилсилилацетилен (49.34 мг, 502.38 мкмоль). Смесь оставляли перемешиваться при 80°C в течение 10 часа. Реакционный раствор упаривали, получая соединение **6-1**. MS $m/z = 1017.5 [M+H]^+$.

[00479] Стадия 2: Синтез соединения 6

[00480] Соединение **6-1** (100 мг, 98.31 мкмоль) растворяли в безводном дихлорметане (4 мл). Добавляли трифторуксусную кислоту (1.54 г, 13.51 ммоль). Смесь оставляли перемешиваться при 20°C в течение 3 часов. Смесь выливали в насыщенный водный раствор бикарбоната натрия (5 мл). Слои разделяли. Водную фазу экстрагировали дихлорметаном (5 мл x 3), промывали насыщенным раствором хлорида натрия, сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом препаративной ВЭЖХ (хроматографическая колонка: Waters Xbridge ВЕН С18 100*30мм*10мкм; подвижная фаза:

[вода (10 mM NH₄HCO₃)-ацетонитрил]; ацетонитрил%: 30%-50%, 8 мин), получая соединение **6**. MS m/z =605.4 [M+H]⁺.

[00481] Пример 7



[00482] Стадия 1: Синтез интермедиата 7-1

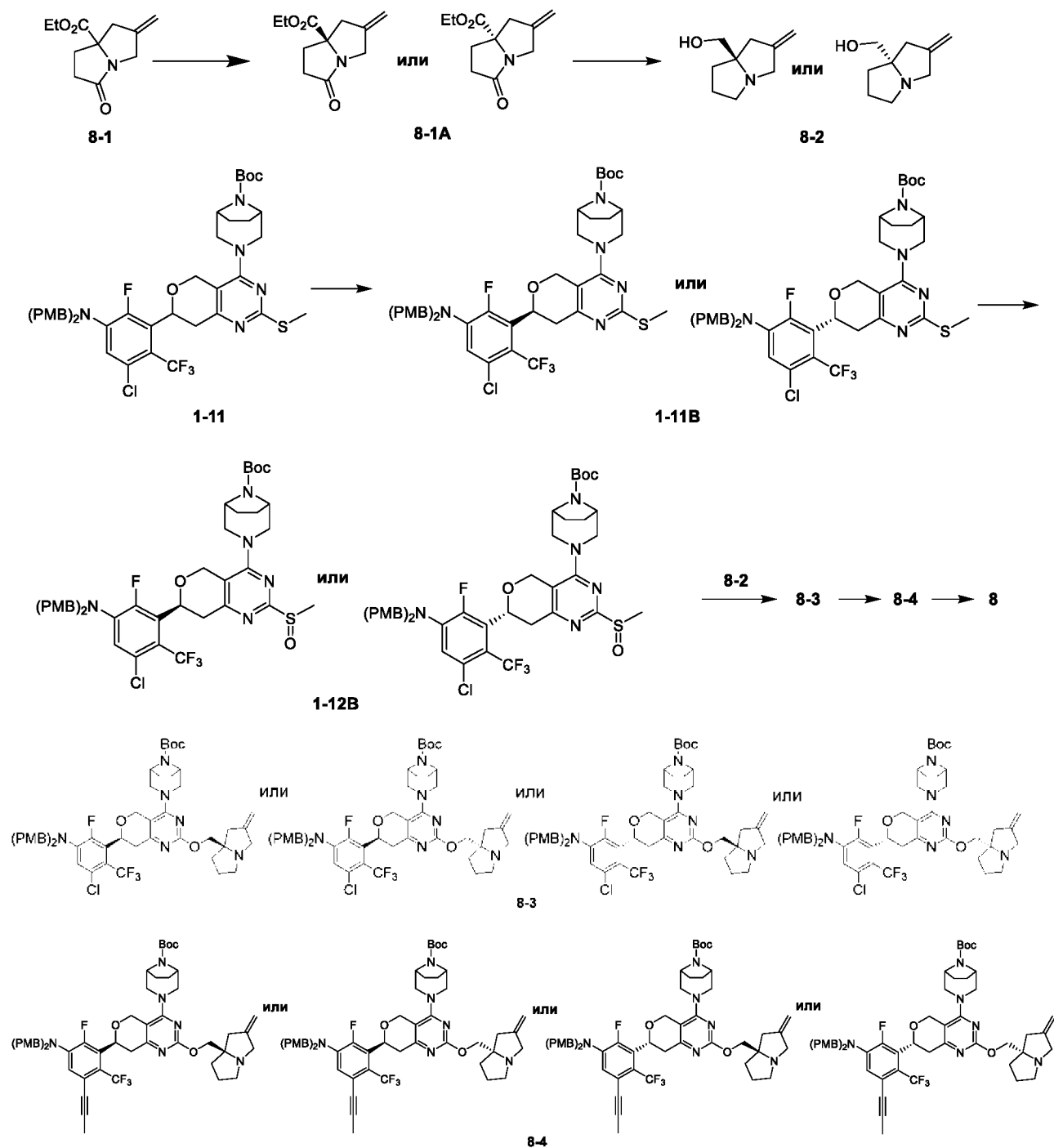
[00483] Соединение **1-13B** (200 мг, 209.33 мкмоль) растворяли в безводном толуоле (2.5 мл). Через смесь барботировали азот 10 минут. Добавляли дихлорбис[ди-трет-бутил-(4-диметиламинофенил)фосфин]палладий (II) (44.47 мг, 62.80 мкмоль) и 1-пропинилтри-н-бутилолово (275.56 мг, 837.30 мкмоль) в атмосфере азота. Смесь оставляли перемешиваться при 110°C в течение 3 часов. Реакционный раствор выливали в 5 мл воды. Смесь экстрагировали этилацетатом (3 мл x 2). Органические фазы объединяли, промывали насыщенным раствором хлорида натрия (3 мл x 2), сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали, получая соединение **7-1**, MS m/z =959.3 [M+H]⁺.

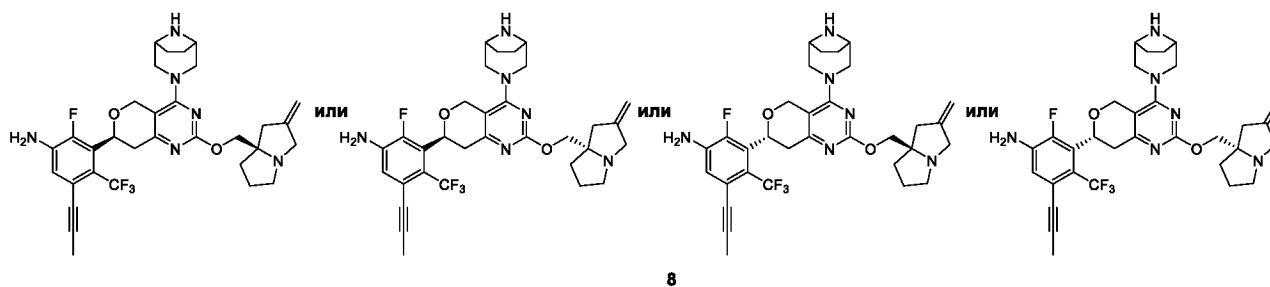
[00484] Стадия 2: Синтез гидрохлорида соединения 7

[00485] Соединение **7-1** (450 мг, 469.21 мкмоль) растворяли в дихлорметане (2.5 мл). Добавляли трифторуксусную кислоту (802.50 мг, 7.04 ммоль). Смесь оставляли перемешиваться при 25°C в течение 4 часов. Реакционный раствор упаривали и очищали методом ВЭЖХ (хроматографическая колонка: Phenomenex luna C18 250*50мм*10мкм; подвижная фаза: [вода (0.05% соляная кислота)-ацетонитрил]; ацетонитрил %: 5%-35%, 10

мин), получая гидрохлорид соединения 7, MS $m/z = 619.2 [M+H]^+$. 1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD) δ 7.00 - 6.92 (м, 1H), 5.74 - 5.50 (м, 1H), 5.31 - 5.17 (м, 1H), 5.03 - 4.92 (м, 2H), 4.79 - 4.72 (м, 2H), 4.31 - 4.16 (м, 2H), 4.09 - 3.92 (м, 4H), 3.90 - 3.83 (м, 1H), 3.64 - 3.54 (м, 1H), 3.54 - 3.36 (м, 3H), 3.11 - 3.01 (м, 1H), 2.84 - 2.61 (м, 2H), 2.57 - 2.47 (м, 1H), 2.44 - 2.33 (м, 1H), 2.36 (ушир.д, $J = 8.5$ Гц, 6H), 2.06 - 2.02 (м, 3H).

[00486] Пример 8





[00487] Стадия 1: Синтез интермедиата 8-1А

[00488] Соединение **8-1** очищали методом препаративной сверхкритической флюидной хроматографии (SFC) (хроматографическая колонка: ChiralPak IH, 250*50мм, 10мкм; подвижная фаза: А: сверхкритический CO₂, В: [0.1% аммиак - этанол]; В%: 20%-20%, время анализа 3.7 мин, время выхода пиков: 1.266 мин и 1.521 мин). Собирали образец со временем выхода пика 1.521 мин, получая соединение **8-1А**. Анализ методом SFC (хроматографическая колонка: Chiralpak IH-3, 100×4.6мм ID, 3мкм; подвижная фаза: А (сверхкритический CO₂) и В (этанол, содержащий 0.1% изопропиламин); градиент: В%=10~50%, 4 мин; скорость потока: 3.4 мл/мин; длина волны: 220 нм; давление: 2000 фунт/кв.дюйм), соединение **8-1А**, Rt = 1.489 мин, значение ee = 98.82%. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ = 4.99 - 4.86 (м, 2H), 4.26 - 3.95 (м, 3H), 3.59 (м, 1H), 3.00 - 2.88 (м, 1H), 2.87 - 2.12 (м, 4H), 1.91 (с, 1H), 1.20 - 1.08 (м, 3H).

[00489] Стадия 2: Синтез интермедиата 8-2

[00490] Литийалюминийгидрид (1.55 г, 40.15 ммоль) растворяли в безводном тетрагидрофуране (30 мл). Смесь охлаждали до 0°C, и добавляли раствор соединения **8-1А** (2.8 г, 13.38 ммоль) в безводном тетрагидрофуране (20 мл) в атмосфере азота. Смесь оставляли перемешиваться при 70°C в течение 1 часа. В реакционный раствор добавляли 1.5 мл воды, 1.5 мл 15% раствора NaOH и 4.5 мл воды при 0°C. Смесь перемешивали в течение 20 минут. Реакционный раствор фильтровали. Остаток на фильтре промывали 10 мл тетрагидрофурана, и фильтрат упаривали, получая соединение **8-2**. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ = 4.99 - 4.86 (м, 2H), 4.26 - 3.95 (м, 3H), 3.59 (м, 1H), 3.00 - 2.88 (м, 1H), 2.74 - 2.27 (м, 4H), 1.91 (с, 1H), 1.20 - 1.08 (м, 3H).

[00491] Стадия 3: Синтез интермедиата 1-11В

[00492] Соединение **1-11** очищали методом сверхкритической флюидной хроматографии (хроматографическая колонка: (S,S)Whelk-01 100×4.6мм ID, 5.0мкм; подвижная фаза: А: сверхкритический CO₂, В: [0.1% этаноламин - изопропанол]; В%: 50%,

скорость потока: 2.5 мл/мин, время удерживания 2.705 мин и 3.357 мин). Собирали образец со временем удерживания 3.357 мин, получая соединение **1-11В**, препаративная SFC (хиральная колонка: REGIS (s,s) WHELK-O1 (250мм*50мм,10мкм); подвижная фаза: А: сверхкритический CO₂, В: [75% изопропанол -25 % ацетонитрил]; В%: 50%-50%). Анализ методом сверхкритической флюидной хроматографии (хроматографическая колонка: (S,S)Whelk-O1 100×4.6мм ID, 5.0мкм; подвижная фаза: А: сверхкритический CO₂, В: [75% изопропанол/25% ацетонитрил/0.05% диэтиламин]; В%: 50% - 50 %, скорость потока: 2.5 мл/мин), соединение **1-11А**, время удерживания = 2.536 мин, значение ee = 99%; Соединение **1-11В**, время удерживания =3.317 мин, значение ee = 99%, MS m/z =844.5 [M+H]⁺.

[00493] Стадия 4: Синтез интермедиата 1-12В

[00494] Соединение **1-11В** (1 г, 1.18 ммоль) помещали в 20 мл дихлорметана. Добавляли м-хлорпербензойную кислоту (240.44 мг, 1.18 ммоль, 85% чистота). Смесь оставляли перемешиваться при комнатной температуре в течение 1 часа. Добавляли в реакционную смесь 5 мл 5%-ного раствора тиосульфата натрия. Смесь экстрагировали дихлорметаном (10 мл x 2). Органические фазы объединяли. Органическую фазу промывали насыщенным раствором хлорида натрия (5 мл x 2), сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали и очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = от 10:1 до 1:1), получая соединение **1-12В**, MS m/z = 860.4 [M+H]⁺.

[00495] Стадия 5: Синтез интермедиата 8-3

[00496] Соединение **8-2** (103.29 мг, 674.14 мкмоль) растворяли в безводном тетрагидрофуране (3 мл). Добавляли трет-бутоксид натрия (64.78 мг, 674.14 мкмоль). Смесь охлаждали до -15°C в течение 15 минут. Добавляли соединение **1-12В** (0.29 г, 337.07 мкмоль). Смесь оставляли перемешиваться при температуре от -15°C до 25°C еще на 1 час. Добавляли в реакционный раствор 5 мл насыщенного раствора хлорида аммония. Смесь экстрагировали этилацетатом (5 мл x 2), промывали насыщенным раствором хлорида натрия (5 мл x 2), сушили над безводным сульфатом натрия и упаривали. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 0:1), получая соединение **8-3**, MS m/z = 949.2 [M+H]⁺.

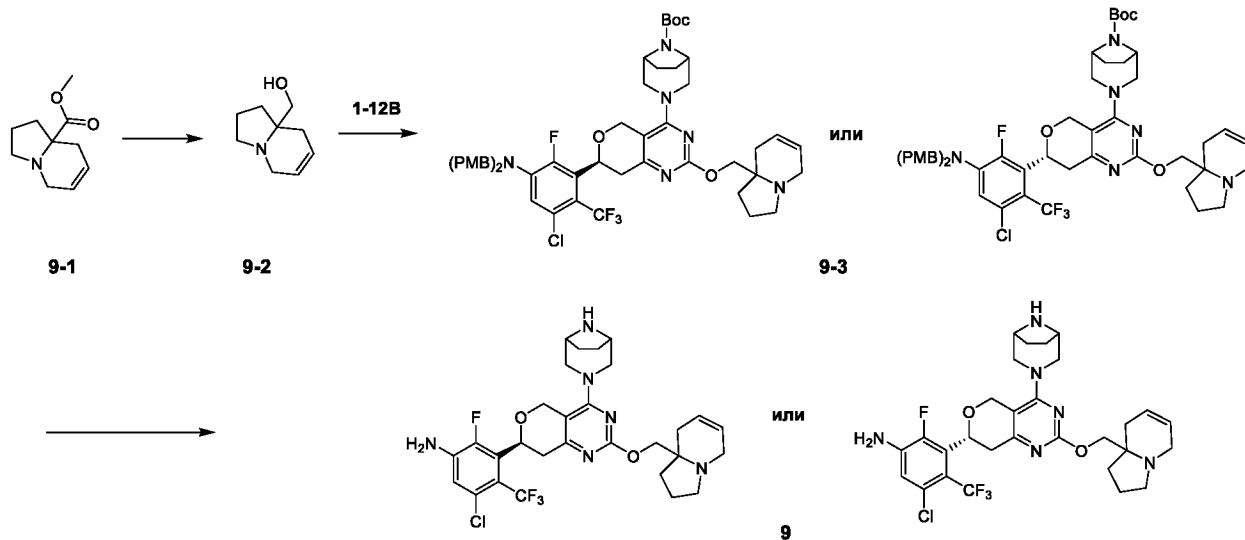
[00497] Стадия 6: Синтез интермедиата 8-4

[00498] Соединение **8-3** (0.24 г, 252.77 мкмоль) растворяли в безводном толуоле (2.5 мл). Через реакционную смесь пропускали азот в течение 10 минут. Дихлорбис[ди-трет-бутил-(4-диметиламинофенил)фосфин]палладий (53.69 мг, 75.83 мкмоль, 53.69 мкл) и трибутил(1-пропинил)олово (332.76 мг, 1.01 ммоль) добавляли в атмосфере азота. Смесь оставляли перемешиваться при 110°C в течение 2 часов. Реакционный раствор выливали в 5 мл воды. Смесь экстрагировали этилацетатом (3 мл x 2). Органические фазы объединяли, промывали насыщенным раствором хлорида натрия (3 мл x 2), сушили над безводным сульфатом натрия и упаривали, получая сырое соединение **8-4**. MS $m/z = 953.4 [M+H]^+$.

[00499] Стадия 7: Синтез гидрохлорида соединения 8

[00500] Соединение **8-4** (100 мг, 104.92 мкмоль) растворяли в трифторуксусной кислоте (3 мл). Смесь оставляли перемешиваться при 25°C в течение 0.5 часа. После окончания реакции, реакционный раствор упаривали и очищали методом ВЭЖХ (хроматографическая колонка: Xtimate C18 150*40мм*5мкм; подвижная фаза: [вода(0.05% HCl)-ацетонитрил]; ацетонитрил%: 5%-35%, 10 мин), получая гидрохлорид соединения **8**, MS $m/z = 613.3 [M+H]^+$. ¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD) δ м.д. 6.99 - 6.93 (м, 1 H), 5.36 (ушир.д, $J = 6.75$ Гц, 2 H), 5.24 (ушир.дд, $J = 10.94, 4.31$ Гц, 1 H), 5.01 - 4.92 (м, 2 H), 4.78 - 4.73 (м, 2 H), 4.36 (ушир.д, $J = 14.13$ Гц, 1 H), 4.29 - 4.18 (м, 2 H), 4.08 - 4.0 (м, 1 H), 3.95 (ушир.д, $J = 14.38$ Гц, 2 H), 3.85 - 3.77 (м, 1 H), 3.56 (ушир.д, $J = 14.63$ Гц, 1 H), 3.45 - 3.37 (м, 1 H), 3.30 - 3.23 (м, 1 H), 3.15 - 3.01 (м, 2 H), 2.85 (ушир.д, $J = 15.63$ Гц, 1 H), 2.45 (ушир.дд, $J = 12.01, 6.50$ Гц, 1 H), 2.31 - 2.03 (м, 11 H).

[00501] Пример 9



[00502] Стадия 1: Синтез интермедиата 9-2

[00503] Соединение **9-1** (1.2 г, 6.62 ммоль) отвешивали и помещали в ТГФ (50 мл). Смесь охлаждали до -20°C . Добавляли LiAlH_4 (1 М, 6.62 мл). Смесь оставляли перемешиваться при -20°C в течение 0.5 часа. Реакцию гасили водой. Реакционный раствор упаривали. Остаток очищали методом колоночной хроматографии (дихлорметан: метанол = 10:1), получая соединение **9-2**, MS $m/z = 154.1$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

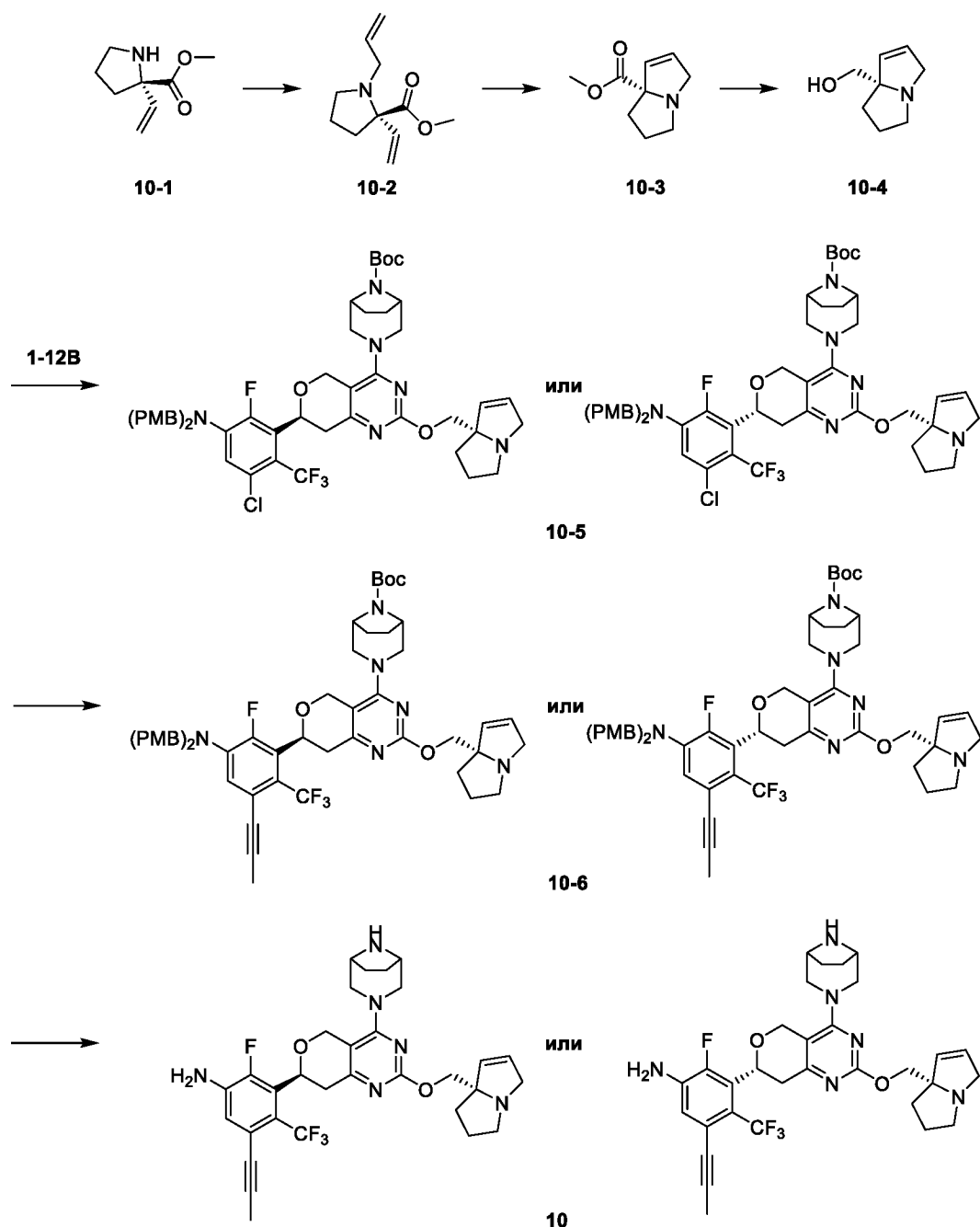
[00504] Стадия 2: Синтез интермедиата 9-3

[00505] Соединение **9-2** (73.43 мг, 479.26 мкмоль) растворяли в безводном тетрагидрофуране (2 мл). Добавляли трет-бутоксид натрия (46.06 мг, 479.26 мкмоль). Смесь охлаждали до -15°C в течение 15 минут. Добавляли соединение **1-12В** (200 мг, 228.22 мкмоль). Смесь оставляли перемешиваться при температуре от -15°C до 25°C в течение еще 1 часа. Добавляли в реакционный раствор 5 мл насыщенного раствора хлорида аммония. Смесь экстрагировали этилацетатом (5 мл x 2), промывали насыщенным раствором хлорида натрия (5 мл x 2), сушили над безводным сульфатом натрия и упаривали. Остаток очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 0:1), получая соединение **9-3**. MS $m/z = 949.4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[00506] Стадия 3: Синтез гидрохлорида соединения 9

[00507] Соединение **9-3** (0.12 г, 126.39 мкмоль) растворяли в безводном дихлорметане (1 мл). Смесь охлаждали до 0°C . Добавляли трифторуксусную кислоту (302.62 мг, 2.65 ммоль, 196.51 мкл), и реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 2 часов. Реакционный раствор упаривали и очищали методом ВЭЖХ (хроматографическая колонка: Phenomenex Luna 80*30мм*3мкм; подвижная фаза: [вода (0.05% соляная кислота)-ацетонитрил]; ацетонитрил%: 5%-40%, время анализа 8 мин), получая гидрохлорид соединения **9**. MS $m/z = 609.1$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, ^1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD) $\delta = 6.90$ (с, 1H), 6.13 - 5.78 (м, 2H), 5.31 - 5.21 (м, 1H), 4.98 - 4.89 (м, 3H), 4.28 - 4.14 (м, 2H), 4.07 - 3.68 (м, 6H), 3.54 - 3.33 (м, 4H), 3.11 - 2.99 (м, 1H), 2.61 - 2.49 (м, 2H), 2.37 - 1.94 (м, 8H).

[00508] Пример 10



[00509] Стадия 1: Синтез интермедиата 10-2

[00510] Соединение **10-1** (1.0 г, 5.22 ммоль) растворяли в ДМФА (15 мл). Добавляли K_2CO_3 (3.61 г, 26.09 ммоль). После 30 минут перемешивания добавляли аллилбромид (757.46 мг, 6.26 ммоль). Смесь оставляли перемешиваться при комнатной температуре на 5 часов. Реакционный раствор разводили добавлением 80 мл этилацетата и затем фильтровали через слой целита. Фильтрат упаривали при пониженном давлении для удаления растворителя, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 10:1), получая соединение **10-2**. 1H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$): δ = 6.07 - 5.92 (м, 1H), 5.88 - 5.73 (м, 1H), 5.27

- 5.18 (м, 1H), 5.16 - 5.08 (м, 2H), 5.04 - 4.96 (м, 1H), 3.72 - 3.61 (м, 3H), 3.30 - 3.18 (м, 1H), 3.10 - 2.93 (м, 2H), 2.75 - 2.63 (м, 1H), 2.34 - 2.17 (м, 1H), 1.91 - 1.72 (м, 3H).

[00511] Стадия 2: Синтез интермедиата 10-3

[00512] Соединение **10-2** (325 мг, 1.66 ммоль) растворяли в толуоле (36 мл). Добавляли катализатор Граббса второго поколения (70.65 мг, 83.22 мкмоль). Смесь нагревали до 120°C и перемешивали в атмосфере азота 20 часов. Реакционный раствор упаривали, получая сырой продукт, который очищали методом колоночной хроматографии (дихлорметан: метанол = 20:1), получая соединение **10-3**. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): δ = 5.94 - 5.77 (м, 2H), 4.12 - 4.00 (м, 1H), 3.83 - 3.72 (м, 3H), 3.49 - 3.41 (м, 1H), 3.39 - 3.30 (м, 1H), 2.74 - 2.59 (м, 1H), 2.43 - 2.27 (м, 1H), 1.93 - 1.82 (м, 3H).

[00513] Стадия 3: Синтез интермедиата 10-4

[00514] Соединение **10-3** (130 мг, 777.49 мкмоль) растворяли в ТГФ (3 мл). Смесь охлаждали до 0°C в атмосфере азота, и затем добавляли по каплям литийалюминийгидрид (1 М, 777.49 мкл). Реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 0.5 часа. Реакцию гасили добавлением 200 мкл воды. Добавляли 20 мл этилацетата. Смесь перемешивали в течение 2 минут. Смесь сушили над 2 граммами безводного сульфата натрия и фильтровали через целит. Фильтрат упаривали при пониженном давлении для удаления растворителя, получая соединение **10-4**. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): δ = 5.74 - 5.63 (м, 1H), 5.59 - 5.47 (м, 1H), 3.92 - 3.70 (м, 1H), 3.44 - 3.23 (м, 3H), 3.14 - 2.99 (м, 1H), 2.62 - 2.47 (м, 1H), 1.76 - 1.51 (м, 5H).

[00515] Стадия 4: Синтез интермедиата 10-5

[00516] Соединение **10-4** (43.68 мг, 313.82 мкмоль) растворяли в безводном тетрагидрофуране (2 мл). Добавляли трет-бутоксид натрия (26.14 мг, 271.98 мкмоль). Смесь охлаждали до -15°C в течение 15 минут. Добавляли соединение **1-12B** (180 мг, 209.22 мкмоль). Смесь оставляли перемешиваться при температуре от -15°C до 25°C в течение 1 часа. В реакционный раствор добавляли 5 мл насыщенного раствора хлорида аммония. Смесь экстрагировали этилацетатом (5 мл x 2), промывали насыщенным раствором хлорида натрия (5 мл x 2), сушили над безводным сульфатом натрия и упаривали. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = от 1:0 до 0:1), получая соединение **10-5**. MS m/z = 935.2 [M+H]⁺.

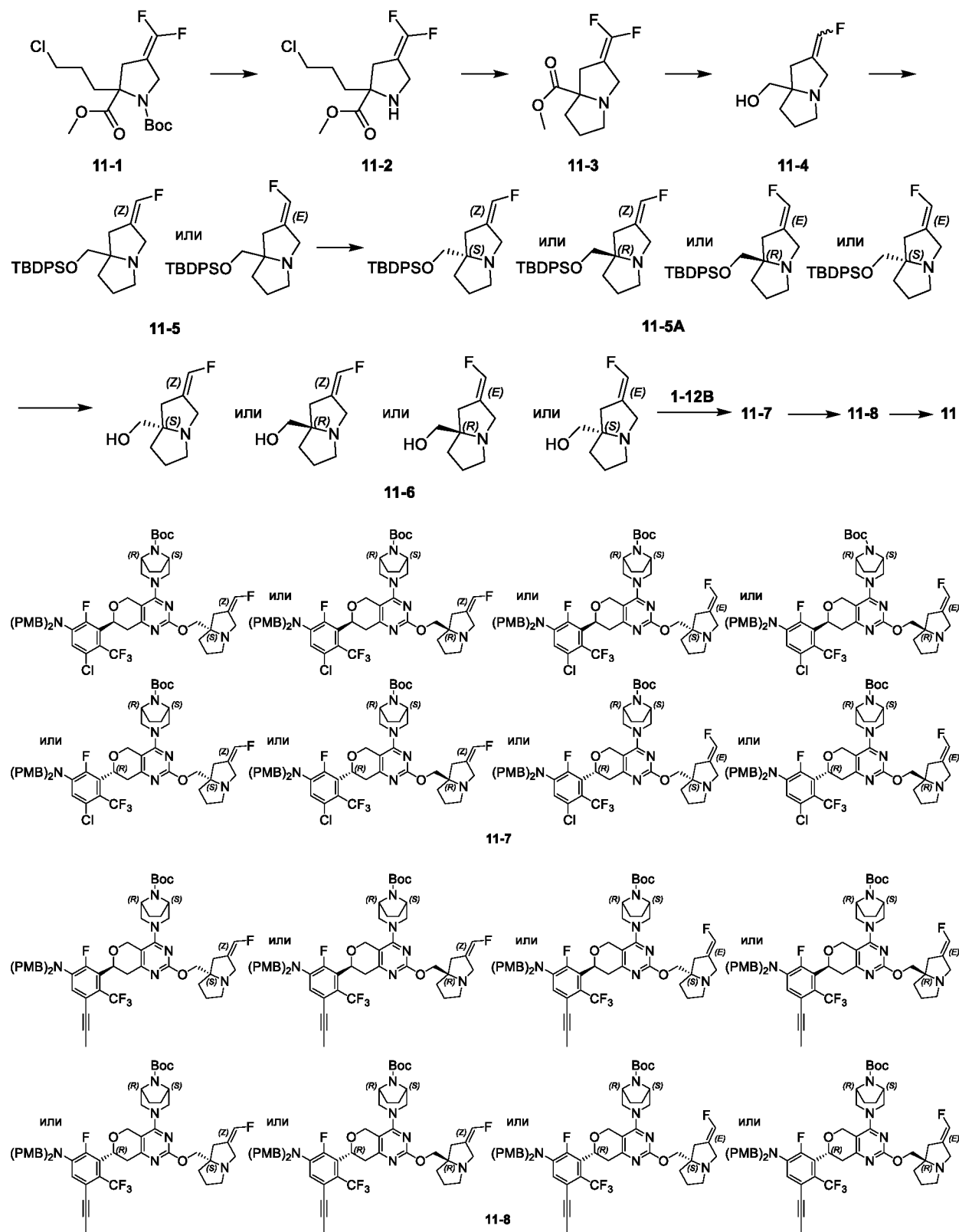
[00517] Стадия 5: Синтез интермедиата 10-6

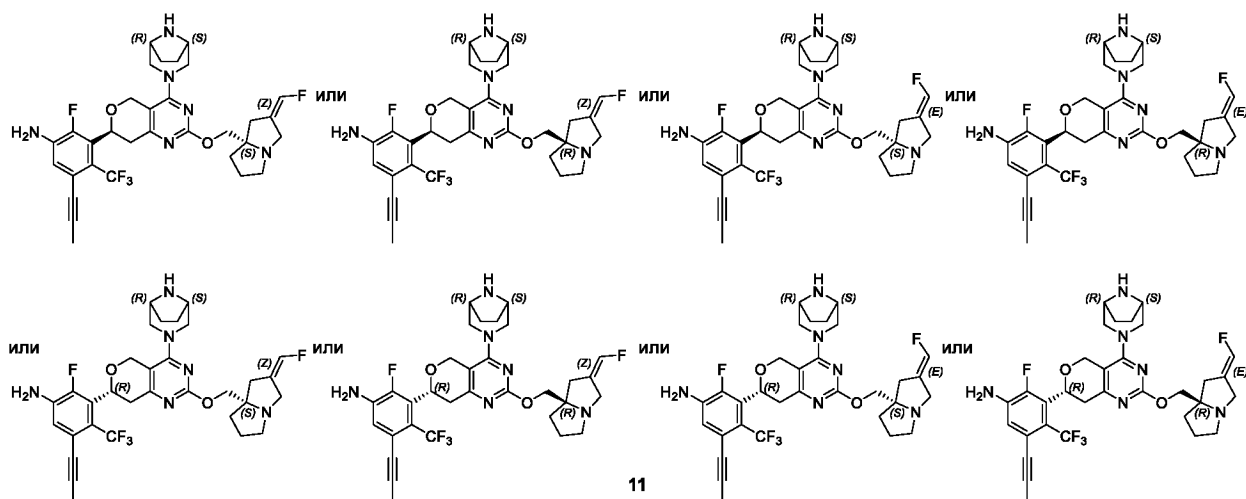
[00518] Соединение **10-5** (130.00 мг, 138.97 мкмоль) растворяли в безводном толуоле (1.5 мл). Через смесь пропускали азот 10 минут. Добавляли дихлорбис[ди-трет-бутил-(4-диметиламинофенил)фосфин]палладий (29.52 мг, 41.69 мкмоль, 29.52 мкл) и трибутил(1-пропинил)олово (182.95 мг, 555.89 мкмоль) в атмосфере азота. Смесь оставляли перемешиваться при 110°C в течение 2 часов. Реакционный раствор выливали в 5 мл воды. Смесь экстрагировали этилацетатом (3 мл x 2). Органические фазы объединяли и промывали насыщенным раствором хлорида натрия (3 мл x 2), сушили над безводным сульфатом натрия и упаривали. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 0:1) и затем дополнительно очищали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (хроматографическая колонка: Phenomenex Luna 80*30мм*3мкм; подвижная фаза А: вода (0.05% соляная кислота); подвижная фаза В: ацетонитрил; градиент: ацетонитрил%: 35%-70%; время анализа: 8 мин), получая соединение **10-6**. MS $m/z = 939.3 [M+H]^+$.

[00519] Стадия 6: Синтез гидрохлорида соединения 10

[00520] Соединение **10-6** (30 мг, 31.95 мкмоль) растворяли в безводном дихлорметане (0.5 мл). Добавляли трифторуксусную кислоту (1.16 г, 10.16 ммоль, 752.18 мкл) при 0°C, и реакционную смесь перемешивали при 0-25°C в течение 3 часов. Реакционный раствор упаривали. Остаток очищали методом ВЭЖХ (хроматографическая колонка: Phenomenex Luna 80*30мм*3мкм; подвижная фаза А: вода (0.05% соляная кислота); подвижная фаза В: ацетонитрил; градиент: ацетонитрил%: 5%-35%; время анализа: 8 мин) и подвергали лиофильной сушке, получая гидрохлорид соединения **10**. MS $m/z = 599.1 [M+H]^+$.

[00521] Пример 11





[00522] Стадия 1: Синтез интермедиата 11-2

[00523] Соединение **11-1** (20 г, 56.53 ммоль) растворяли в смеси хлороформ/этилацетат (4 М, 120 мл). Смесь оставляли перемешиваться при 25°C в течение 2 часов. Реакционный раствор упаривали, получая сырой гидрохлорид **11-2**. Полученный сырой продукт напрямую использовали в следующей стадии.

[00524] Стадия 2: Синтез интермедиата 11-3

[00525] Сырой гидрохлорид **11-2** (20 г) растворяли в ДМФА (65 мл). Добавляли карбонат калия (14.2 г, 102 ммоль). Смесь оставляли перемешиваться при 25°C в течение 12 часов. Реакционный раствор разводили добавлением 500 мл этилацетата, промывали последовательно водой (300 x 2) и 300 мл насыщенного раствора хлорида натрия, сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 2:1), получая соединение **11-3**.

[00526] Стадия 3: Синтез интермедиата 11-4

[00527] Соединение **11-3** (7 г, 32.23 ммоль) растворяли в 2-метилтетрагидрофуране (75 мл). Воздух в реакционной колбе заменяли 3 раза на азот. Раствор красного алюминия в толуоле (37.2 г, 129 ммоль, 35.8 мл, 70% чистота) медленно добавляли при 10°C в атмосфере азота. Смесь оставляли перемешиваться при 25°C в течение 12 часов. Реакционный раствор гасили добавлением по каплям в 26.0%-ный водный раствор тартрата натрия. Смесь экстрагировали 2-метилтетрагидрофураном (200 мл). Водную фазу экстрагировали 2-метилтетрагидрофураном (50 мл x 3). Объединенные органические фазы промывали насыщенным раствором хлорида натрия, сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали, получая соединение

11-4.**[00528] Стадия 4: Синтез формиата интермедиата 11-5**

[00529] Соединение **11-4** (2.3 г, 13.4 ммоль) растворяли в ДХМ (30 мл). Добавляли имидазол (3.66 г, 53.7 ммоль), DMAP (164 мг, 1.34 ммоль) и TBDPSCl (7.38 г, 26.9 ммоль, 6.90 мл). Смесь оставляли перемешиваться при 45 °С в течение 12 часов. Добавляли в реакционный раствор воду (50 мл). Органическую фазу отделяли, и водную фазу экстрагировали дихлорметаном (50 мл). Органические фазы объединяли, промывали 50 мл насыщенного раствора хлорида натрия, сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали. Добавляли метил-трет-бутиловый эфир (10 мл), н-гептан (21 мл) и HCl (2M, 21 мл). Водную фазу отделяли, промывали смесью метил-трет-бутилового эфира и н-гептана = 1:2 (20 мл*3), и доводили до pH 7 водным раствором карбоната натрия. Смесь экстрагировали последовательно 270 мл этилацетата и 40 мл этилацетата. Органические фазы объединяли и промывали 20 мл насыщенного раствора хлорида натрия, сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 10:1), получая сырой интермедиат **11-5** (первое пятно) с $R_f = 0.6$, который дополнительно очищали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: (хроматографическая колонка: Phenomenex luna C18 250*80мм*10мкм; подвижная фаза: [вода (0.225% муравьиная кислота)-ацетонитрил]; ацетонитрил %: 32%-62%, 12 мин), получая формиат соединения **11-5**. MS $m/z = 410.3 [M+H]^+$. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ м.д. 7.62 - 7.53 (м, 4 H), 7.37 - 7.27 (м, 6 H), 6.47 - 6.17 (м, 1 H), 3.66 (ушир.д, $J = 14.92$ Гц, 1 H), 3.38 - 3.30 (м, 2 H), 3.25 (ушир.д, $J = 14.79$ Гц, 1 H), 3.03 - 2.94 (м, 1 H), 2.56 - 2.43 (м, 2 H), 2.12 (ушир.д, $J = 15.41$ Гц, 1 H), 1.92 (ддд, $J = 12.20, 7.92, 3.97$ Гц, 1 H), 0.99 (с, 9 H) 1.82 - 1.51 (м, 3 H). ¹⁹F ЯМР (377 МГц, CDCl₃) δ м.д. -131.66.

[00530] Стадия 5: Синтез интермедиата 11-5А

[00531] Соединение **11-5** (3.3 г, 7.57 ммоль) отделяли методом препаративной хиральной SFC (хроматографическая колонка: DAICEL CHIRALPAK IC (250мм*30мм, 10мкм); подвижная фаза: А: сверхкритический CO₂, В: [0.1% NH₃ H₂O в метаноле]; В%: 25%-25%, 4.5мин, время выхода пиков: 2.117 мин и 2.980 мин). Собирали образец со временем выхода пика 2.117мин, получая соединение **11-5А**. Анализ методом SFC

соединения **11-5A** (хроматографическая колонка: Chiralpak IC-3 50×4.6мм ID, 3мкм; подвижная фаза: А (сверхкритический CO₂) и В (MeOH, содержащий 0.05% диэтиламин); градиент: В % = 5 ~ 10 %, скорость потока: 3 мл / мин), Rt = 2.014 мин, значение ee = 98.5%. MS m/z = 410.3 [M+H]⁺.

[00532] Стадия 6: Синтез гидрохлорида интермедиата 11-6

[00533] Соединение **11-5A** (1.2 г, 2.93 ммоль) растворяли в 24 мл 1,4-диоксана. Добавляли концентрированную соляную кислоту (12M, 7.20 мл). Смесь оставляли перемешиваться при 95°C в течение 12 часов. Реакционный раствор охлаждали и разбавляли 10 мл воды. Смесь промывали 10 мл этилацетата. Водную фазу подвергали лиофильной сушке, получая гидрохлорид соединения **11-6**. ¹H ЯМР (400 МГц, D₂O) δ м.д. 6.90 - 6.53 (м, 1 H), 4.22 (ушир.д, J = 15.04 Гц, 1 H), 3.97 (ушир.д, J = 15.04 Гц, 1 H), 3.79 - 3.69 (м, 1 H), 3.67 - 3.55 (м, 2 H), 3.24 - 3.14 (м, 1 H), 2.76 - 2.67 (м, 1 H), 2.64 - 2.54 (м, 1 H), 2.19 - 1.94 (м, 4 H). ¹⁹F ЯМР (376 МГц, CDCl₃) δ м.д. -126.73.

[00534] Стадия 7: Синтез интермедиата 11-7

[00535] Соединение **1-12B** (300 мг, 349 мкмоль) растворяли в безводном толуоле (10.0 мл). Добавляли трет-бутоксид натрия (134 мг, 1.39 ммоль, 4 экв), 4A молекулярные сита (500 мг) и гидрохлорид соединения **11-6** (109 мг, 523 мкмоль). Смесь оставляли перемешиваться при 110°C в течение 12 часов. Реакционный раствор гасили добавлением 30 мл насыщенного водного раствора хлорида аммония. Смесь экстрагировали этилацетатом (30 мл). Органическую фазу промывали насыщенным раствором хлорида натрия (20 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 1:1), получая соединение **11-7**. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ м.д. 7.14 (д, J = 8.56 Гц, 4 H), 6.87 (д, J = 8.68 Гц, 5 H), 6.64 - 6.36 (м, 1 H), 5.28 - 5.18 (м, 1 H), 4.79 - 4.68 (м, 2 H), 4.44 - 4.24 (м, 6 H), 4.10 - 3.97 (м, 2 H), 3.94 - 3.74 (м, 8 H), 3.51 - 2.94 (м, 7 H), 2.77 - 2.55 (м, 2 H), 2.32 (ушир.д, J = 15.16 Гц, 1 H), 2.22 - 2.11 (м, 1 H), 1.95 - 1.58 (м, 7 H), 1.51 (с, 9 H). ¹⁹F ЯМР (376 МГц, CDCl₃) δ м.д. -119.86, -50.65.

[00536] Стадия 8: Синтез интермедиата 11-8

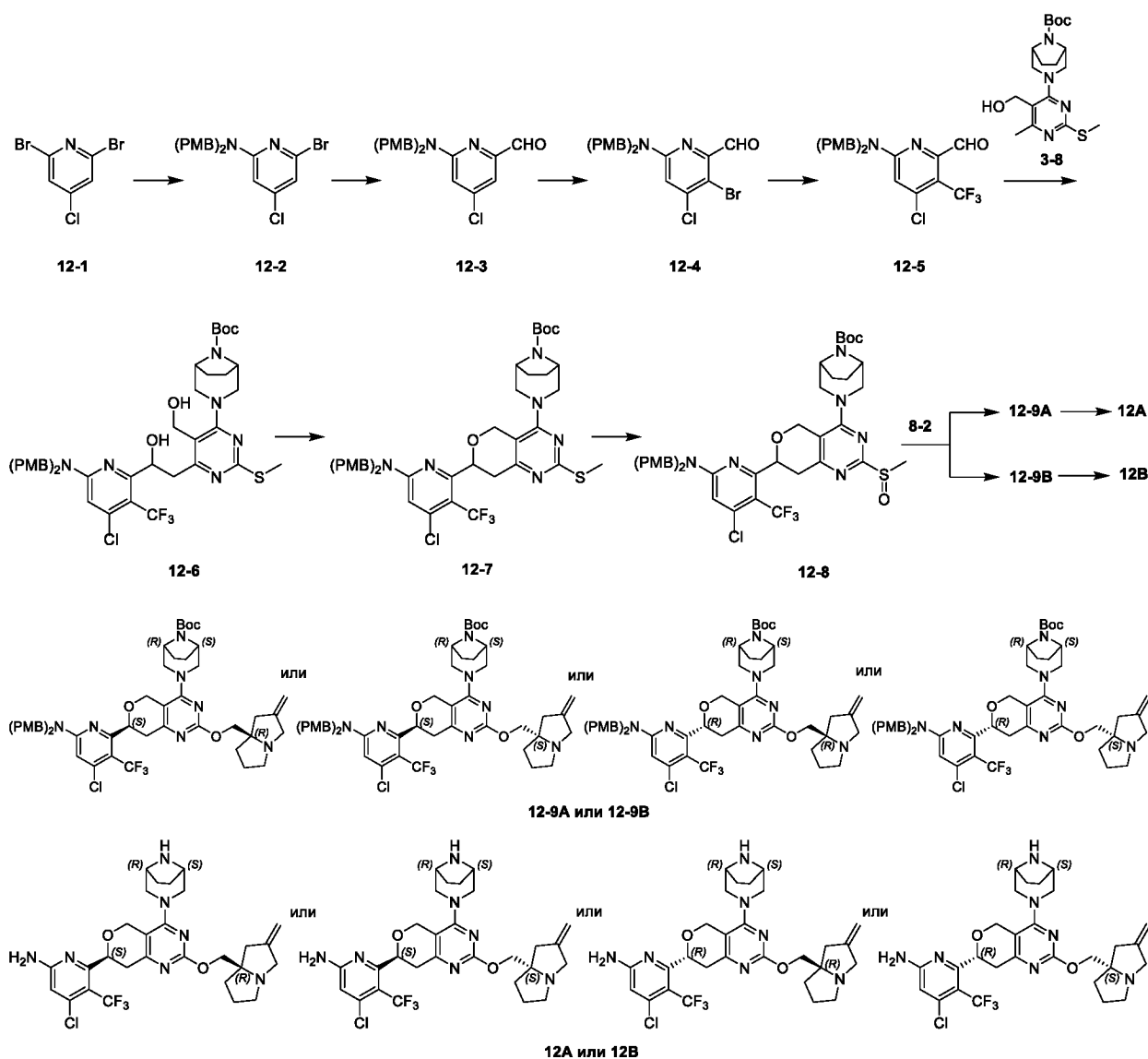
[00537] Соединение **11-7** (222 мг, 229 мкмоль) растворяли в безводном толуоле (10.0 мл). Добавляли 1-пропинилтри-н-бутилолово (755 мг, 2.29 ммоль) и

дихлорбис[ди-трет-бутил- (4-диметиламинофенил)фосфин]палладий(II) (162 мг, 229 мкмоль, 162 мкл). Воздух в реакционной колбе заменяли 3 раза на азот. Смесь оставляли перемешиваться при 110 °С в атмосфере азота на 12 часов. Реакционный раствор охлаждали и упаривали, получая сырой продукт, который очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 1:1), получая соединение **11-8**. MS m/z = 971.3 [M+H]⁺.

[00538] Стадия 9: Синтез формиата соединения 11

[00539] Соединение **11-8** (149 мг, 129 мкмоль, 84% чистота) растворяли в дихлорметане (10 мл). Добавляли трифторуксусную кислоту (770 мг, 6.75 ммоль, 0.5 мл). Смесь оставляли перемешиваться при 25°C в течение 12 часов. Реакционный раствор разводили добавлением 10 мл воды и 20 мл этилацетата. Слои разделяли. Органическую фазу промывали 1н. раствором соляной кислоты (5 мл x 2). Все водные фазы объединяли и доводили до pH=8 насыщенным водным раствором NaHCO₃. Раствор упаривали. В полученный остаток добавляли 20 мл ацетонитрила, смесь перемешивали и фильтровали. Фильтрат упаривали, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (хроматографическая колонка: Phenomenex luna C18 150*25мм*10мкм; подвижная фаза: [вода (0.225% муравьиная кислота)-ацетонитрил]; ацетонитрил %: 9%-39%, 10 мин) и подвергали лиофильной сушке, получая формиат соединения **11**. MS m/z = 631.3 [M+H]⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD) δ м.д. 6.93 (д, J = 8.44 Гц, 1 H), 6.90 - 6.65 (м, 1 H), 5.19 (ушир дд, J = 11.13, 3.79 Гц, 1 H), 4.77 - 4.69 (м, 2 H), 4.41 - 4.31 (м, 2 H), 4.26 (ушир.д, J = 13.57 Гц, 1 H), 4.19 - 4.04 (м, 3 H), 3.86 - 3.73 (м, 2 H), 3.68 - 3.61 (м, 1 H), 3.52 - 3.44 (м, 1 H), 3.37 (с, 3 H), 3.32 - 3.24 (м, 2 H), 3.06 - 2.81 (м, 3 H), 2.62 (ушир.д, J = 16.14 Гц, 1 H), 2.31 - 2.05 (м, 6 H), 2.02 - 1.91 (м, 2 H).

[00540] Пример 12



[00541] Стадия 1: Синтез интермедиата 12-2

[00542] Соединение **12-1** (20.0 г, 73.7 ммоль) и бис-(4-метоксибензил)-амин (37.9 г, 147 ммоль) добавляли в N-метилпирролидон (600 мл). Смесь нагревали на масляной бане при 140°C в течение 12 часов. Реакционный раствор разводили добавлением 250 мл воды, промывали этилацетатом (200 мл×3) и 200 мл насыщенного раствора хлорида натрия. Органическую фазу сушили и фильтровали. Фильтрат упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 20:1), получая соединение **12-2**.

[00543] Стадия 2: Синтез интермедиата 12-3

[00544] Соединение **12-2** (22.0 г, 49.1 ммоль) растворяли в безводном тетрагидрофуране (220 мл). Смесь охлаждали до -78°C в атмосфере азота, и затем

добавляли по каплям *n*-бутиллитий (2.5 М, 21.6 мл). После окончания добавления, реакционную смесь перемешивали в течение 1 часа и затем добавляли по каплям *N,N*-диметилформаид (71.8 г, 982 ммоль, 75.6 мл). Смесь перемешивали в течение 1 часа. Реакцию гасили добавлением 100 мл воды. Смесь экстрагировали этилацетатом (100 мл×3). Органические фазы объединяли и упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 20:1), получая соединение **12-3**. MS m/z = 397.1 [M+H]⁺.

[00545] Стадия 3: Синтез интермедиата 12-4

[00546] Соединение **12-3** (15.0 г, 37.8 ммоль) растворяли в *N,N*-диметилформамиде (170 мл). Добавляли *N*-бромсукцинимид (7.06 г, 39.6 ммоль). Реакционную смесь оставляли перемешиваться при комнатной температуре 25°C в атмосфере азота в течение 1 часа. Реакцию гасили добавлением 300 мл воды. Смесь экстрагировали этилацетатом (200 мл×3). Органические фазы объединяли и упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 10:1), получая соединение **12-4**. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ м.д. 10.10 (с, 1 H), 7.16 (д, *J* = 8.63 Гц, 4 H), 6.89 - 6.85 (м, 4 H), 6.76 (с, 1 H), 4.73 (с, 4 H), 3.81 (с, 6 H).

[00547] Стадия 4: Синтез интермедиата 12-5

[00548] Соединение **12-4** (14.2 г, 29.8 ммоль) и метил фторсульфонил дифторацетат (28.6 г, 149 ммоль, 18.9 мл) добавляли в *N,N*-диметилформаид (160 мл). Добавляли иодид меди (5.68 г, 29.8 ммоль). Воздух в реакционной колбе заменяли на азот, и смесь перемешивали при 100°C в течение 2.5 часов. Реакцию гасили добавлением 100 мл воды. Затем смесь экстрагировали этилацетатом (300 мл×3). Органические фазы объединяли и упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 20:1), получая соединение **12-5**. MS m/z = 465.0 [M+H]⁺.

[00549] Стадия 5: Синтез интермедиата 12-6

[00550] Тетраметилпиперидин (1.45 г, 10.2 ммоль) растворяли в безводном тетрагидрофуране (100 мл). Смесь охлаждали до -40°C в атмосфере азота, и затем добавляли по каплям *n*-бутиллитий (2.5 М, 32.8 мл). После окончания добавления, смесь перемешивали в течение 0.5 часа. Соединение **3-8** (7.80 г, 20.5 ммоль) растворяли в

безводном тетрагидрофуране (50 мл). Смесь добавляли по каплям в реакционную колбу при $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$. После окончания добавления, смесь перемешивали 0.3 часа. В реакционную смесь добавляли соединение **12-5** (10.4 г, 22.5 ммоль) при $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$. После окончания добавления, смесь перемешивали в течение 0.5 часа. Реакцию гасили добавлением 300 мл воды. Затем смесь экстрагировали этилацетатом (400 мл \times 3). Органические фазы объединяли и упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 5:1), получая соединение **12-6**. MS $m/z = 845.2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[00551] Стадия 6: Синтез интермедиата 12-7

[00552] Соединение **12-6** (6.1 г, 7.22 ммоль) растворяли в безводном толуоле (60 мл). Добавляли цианометил три-*n*-бутилфосфин (5.22 г, 21.6 ммоль) в атмосфере азота. После окончания добавления реакционную смесь перемешивали при $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 12 часов. Реакционный раствор упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 5:1), получая соединение **12-7**. MS $m/z = 827.2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ м.д. 7.09 (ушир.д, $J = 8.50$ Гц, 4 H), 6.84 (ушир.д, $J = 8.50$ Гц, 4 H), 6.53 (с, 1 H), 5.20 (ушир дд, $J = 10.01$, 3.00 Гц, 1 H), 4.81 - 4.54 (м, 7 H), 4.37 - 4.25 (м, 2 H), 3.80 (с, 7 H), 3.67 - 3.55 (м, 1 H), 3.50 - 3.37 (м, 2 H), 3.14 - 2.92 (м, 2 H), 2.49 (с, 3 H), 1.94 (ушир.с, 3 H), 1.50 (с, 9 H).

[00553] Стадия 7: Синтез интермедиата 12-8

[00554] Соединение **12-7** (600 мг, 725 мкмоль) растворяли в безводном дихлорметане (6 мл). Добавляли *m*-хлорпербензойную кислоту (176 мг, 870 мкмоль, 85% чистота) в атмосфере азота. После окончания добавления смесь перемешивали при $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 1 часа. Реакцию гасили добавлением воды (10 мл). Смесь экстрагировали этилацетатом (10 мл \times 3). Органические фазы объединяли и упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 2:1), получая соединение **12-8**.

[00555] Стадия 8: Синтез интермедиатов 12-9А и 12-9В

[00556] Соединение **12-8** (600 мг, 698 мкмоль) растворяли в безводном толуоле (5 мл). Трет-бутоксид натрия (201 мг, 2.09 ммоль) и соединение **8-2** (128 мг, 837 мкмоль)

добавляли в атмосфере азота. После окончания добавления смесь перемешивали при 80°C в течение 12 часов. Реакцию гасили добавлением воды (10 мл). Затем смесь экстрагировали этилацетатом (10 мл×3). Органические фазы объединяли и упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 2:1), получая соединение **12-9**. Соединение **12-9** очищали методом препаративной хиральной SFC (хиральная колонка: DAICEL CHIRALCEL OD (250 мм*30мм, 10мкм); подвижная фаза: [сверхкритический CO₂-метанол (0.1 % аммиак)]; метанол (0.1% аммиак) %: 40% - 40 %), получая соединения **12-9А** и **12-9В**. SFC анализ: (хиральная колонка: DAICEL CHIRALCEL OD - 3 (50мм*4.6мм, 3мкм); подвижная фаза: [сверхкритический CO₂-метанол (0.05% диэтиламин)]; метанол %: 5%-40%), соединение **12-9А**, Rt = 2.091мин, значение ee = 99 %; MS m/z = 932.4 [M+H]⁺; соединение **12-9В**, Rt = 2.331мин, MS m/z = 932.3 [M+H]⁺.

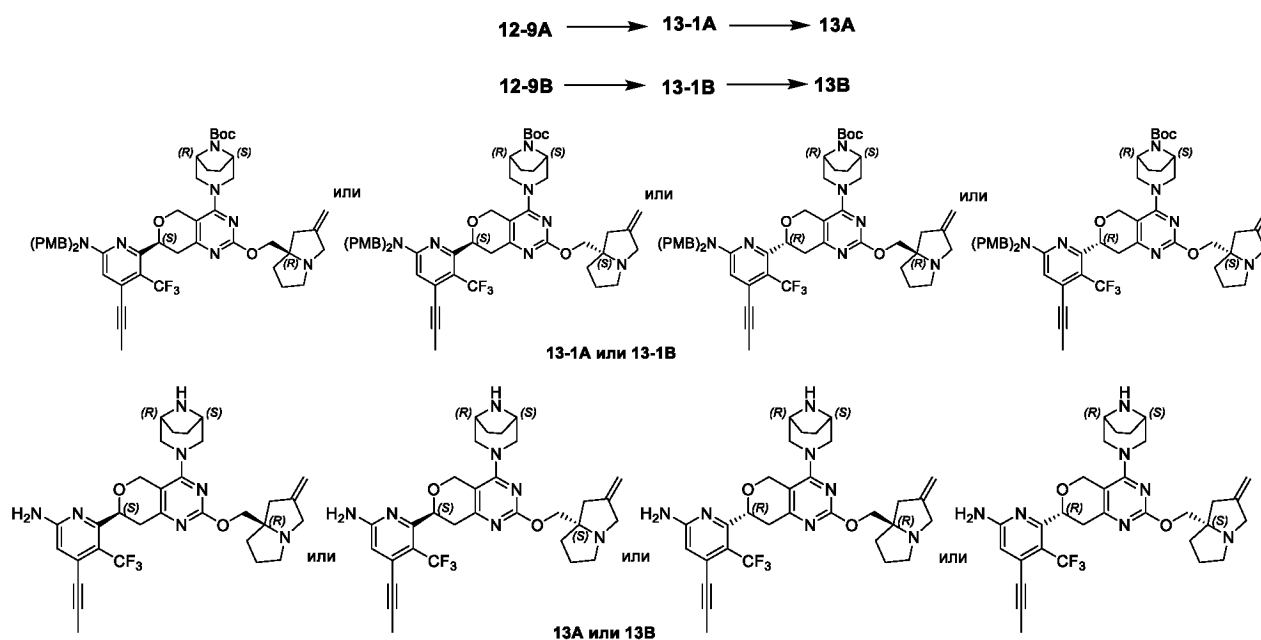
[00557] Стадия 9: Синтез трифторацетата соединения 12А и трифторацетата соединения 12В

[00558] Соединение **12-9А** (40.0 мг, 42.9 мкмоль) растворяли в трифторуксусной кислоте (1.54 г, 13.4 ммоль, 1 мл). Смесь оставляли перемешиваться при 50°C в течение 9 часов. Реакционный раствор упаривали при пониженном давлении, и полученный сырой продукт очищали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (колонка: Phenomenex luna C18 150*25мм*10мкм; подвижная фаза: [вода (0.075 % трифторуксусная кислота)-ацетонитрил]; ацетонитрил %: 8%-38%, 8 мин), получая трифторацетат соединения **12А**. MS m/z = 592.2 [M+H]⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD) δ м.д. 6.73 (с, 1 H), 5.34 (ушир.д, J = 8.00 Гц, 2 H), 5.27 (дд, J = 10.13, 3.25 Гц, 1 H), 4.98 (ушир.с, 1 H), 4.74 (д, J = 13.76 Гц, 1 H), 4.69 - 4.59 (м, 2 H), 4.46 (ушир.д, J = 14.26 Гц, 1 H), 4.37 (ушир.д, J = 14.26 Гц, 1 H), 4.19 (ушир.д, J = 13.13 Гц, 2 H), 3.99 - 3.92 (м, 2 H), 3.84 - 3.76 (м, 1 H), 3.73 (ушир.д, J = 13.38 Гц, 1 H), 3.57 (дд, J = 18.26, 10.01 Гц, 1 H), 3.42 (ушир.д, J = 14.01 Гц, 1 H), 3.26 (дт, J = 11.48, 7.08 Гц, 1 H), 3.07 (ушир.д, J = 16.01 Гц, 1 H), 2.93 (дд, J = 18.32, 3.19 Гц, 1 H), 2.82 (ушир.д, J = 16.13 Гц, 1 H), 2.39 (дд, J = 11.88, 6.50 Гц, 1 H), 2.31 - 2.10 (м, 6 H), 2.04 - 1.95 (м, 1 H).

[00559] Соединение **12-9В** (40.0 мг, 42.9 мкмоль) растворяли в трифторуксусной кислоте (1.54 г, 13.4 ммоль, 1 мл). Смесь оставляли перемешиваться при 50 °C в течение 9

часов. Реакционный раствор упаривали при пониженном давлении, и полученный сырой продукт очищали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (колонка: Phenomenex luna C18 150*25мм*10мкм; подвижная фаза: [вода (0.075 % трифторуксусная кислота)-ацетонитрил]; ацетонитрил %: 8%-38%, 8 мин), получая трифторацетат соединения **12В**. MS $m/z = 592.3 [M+H]^+$. 1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD) δ м.д. 6.71 (с, 1 H), 5.32 (ушир.д, $J = 8.50$ Гц, 2 H), 5.25 (дд, $J = 10.19, 3.19$ Гц, 1 H), 4.96 (с, 1 H), 4.73 (д, $J = 13.76$ Гц, 1 H), 4.63 (с, 2 H), 4.46 (ушир.д, $J = 14.13$ Гц, 1 H), 4.36 (ушир.д, $J = 14.38$ Гц, 1 H), 4.17 (ушир.д, $J = 13.01$ Гц, 2 H), 4.00 - 3.89 (м, 2 H), 3.83 - 3.69 (м, 2 H), 3.55 (дд, $J = 18.20, 10.07$ Гц, 1 H), 3.41 (ушир.д, $J = 14.13$ Гц, 1 H), 3.24 (дт, $J = 11.54, 7.11$ Гц, 1 H), 3.05 (ушир.д, $J = 16.01$ Гц, 1 H), 2.91 (дд, $J = 18.20, 3.31$ Гц, 1 H), 2.80 (ушир.д, $J = 16.26$ Гц, 1 H), 2.43 - 2.33 (м, 1 H), 2.28 - 2.08 (м, 6 H), 2.03 - 1.93 (м, 1 H).

[00560] Пример 13



[00561] Стадия 1: Синтез интермедиатов **13-1A** и **13-1B**

[00562] Соединение **12-9A** (250 мг, 268 мкмоль) растворяли в безводном толуоле (1 мл). Добавляли 1-пропинилтри-*n*-бутилолово (264 мг, 804 мкмоль) и дихлорбис[ди-трет-бутил-(4-диметиламинофенил)фосфин]палладий (II) (37.9 мг, 53.6 мкмоль). Воздух в реакционной колбе заменяли 3 раза на азот. Смесь оставляли перемешиваться при 100 °С в атмосфере азота на 12 часов. Реакционный раствор охлаждали и упаривали, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт отделяли методом препаративной тонкослойной хроматографии (дихлорметан: метанол = 15:1), получая соединение **13-1A**.

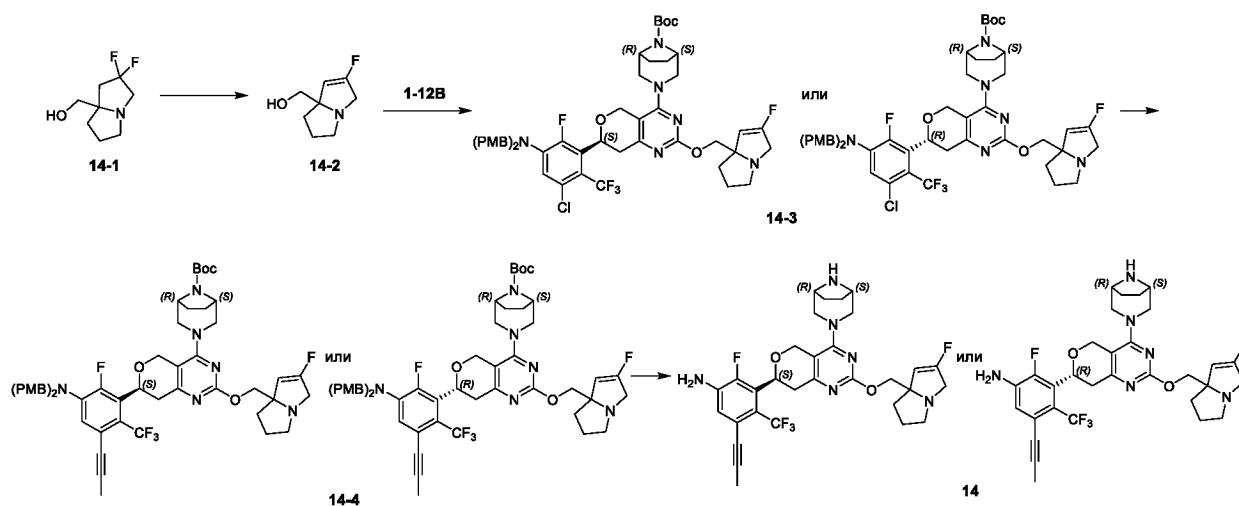
[00563] Согласно стадии 1, было получено соединение **13-1В** с использованием **12-9В** как исходного вещества.

[00564] Стадия 2: Синтез трифторацетата соединения **13А** и трифторацетата соединения **13В**

[00565] Соединение **13-1А** (120 мг, 128 мкмоль) растворяли в трифторуксусной кислоте (1.54 г, 13.4 ммоль, 1 мл). Смесь оставляли перемешиваться при 50 °С в течение 9 часов. Реакционный раствор упаривали при пониженном давлении. Полученный сырой продукт очищали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (колонка: Phenomenex luna C18 150*25мм*10мкм; подвижная фаза: [вода (0.075 % трифторуксусная кислота)- ацетонитрил]; ацетонитрил %: 10%-40%, 9 мин), получая трифторацетат соединения **13А**. MS $m/z = 596.3 [M+H]^+$. ¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD) δ м.д. 6.80 (с, 1 H), 5.43 - 5.26 (м, 3 H), 5.00 (ушир.д, $J = 13.88$ Гц, 2 H), 4.81 (д, $J = 13.63$ Гц, 1 H), 4.60 (д, $J = 2.50$ Гц, 2 H), 4.45 - 4.30 (м, 2 H), 4.24 - 4.13 (м, 2 H), 3.99 - 3.84 (м, 2 H), 3.83 - 3.64 (м, 2 H), 3.40 - 3.34 (м, 2 H), 3.28 - 3.21 (м, 1 H), 3.06 (ушир.д, $J = 16.26$ Гц, 1 H), 2.95 (дд, $J = 18.07$, 3.56 Гц, 1 H), 2.81 (ушир.д, $J = 16.01$ Гц, 1 H), 2.38 (ушир дд, $J = 11.63$, 6.38 Гц, 1 H), 2.29 - 2.12 (м, 8 H), 1.99 (ушир.т, $J = 9.44$ Гц, 1 H).

[00566] Соединение **13-1В** (120 мг, 128 мкмоль) растворяли в трифторуксусной кислоте (1.54 г, 13.4 ммоль, 1 мл). Смесь оставляли перемешиваться при 50 °С в течение 9 часов. Реакционный раствор упаривали при пониженном давлении. Полученный сырой продукт очищали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (колонка: Phenomenex luna C18 150*25мм*10мкм; подвижная фаза: [вода (0.075 % трифторуксусная кислота)- ацетонитрил]; ацетонитрил %: 8%-38%, 8 мин), получая трифторацетат соединения **13В**. MS $m/z = 596.2 [M+H]^+$. ¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD) δ м.д. 6.80 (с, 1 H), 5.31 (ушир.д, $J = 8.88$ Гц, 3 H), 4.99 (ушир.д, $J = 13.76$ Гц, 2 H), 4.80 (д, $J = 13.88$ Гц, 1 H), 4.58 (д, $J = 2.38$ Гц, 2 H), 4.43 - 4.31 (м, 2 H), 4.16 (ушир.д, $J = 16.01$ Гц, 2 H), 3.95 - 3.84 (м, 2 H), 3.79 - 3.67 (м, 2 H), 3.37 (ушир.д, $J = 13.63$ Гц, 2 H), 3.28 - 3.22 (м, 1 H), 3.07 - 2.91 (м, 2 H), 2.80 (ушир.д, $J = 15.88$ Гц, 1 H), 2.40 - 2.33 (м, 1 H), 2.23 - 2.10 (м, 8 H), 2.02 - 1.93 (м, 1 H).

[00567] Пример 14



[00568] Стадия 1: Синтез интермедиата 14-2

[00569] Соединение **14-1** растворяли в ДМФА (2.00 мл). В реакционный раствор добавляли трет-бутоксид калия (299 мг, 2.67 ммоль). Реакционный раствор нагревали до 80 °С в течение 12 часов. Добавляли в реакционный раствор воду (10 мл). Смесь экстрагировали смесью дихлорметан:метанол = 5:1 (10 мл*3). Органические фазы объединяли, промывали насыщенным раствором хлорида натрия (20 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и упаривали при пониженном давлении. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (дихлорметан: метанол = 5:1), получая соединение **14-2**. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ м.д. 5.03 (с, 1 H) 3.89 (ддд, *J* = 15.04, 5.07, 2.14 Гц, 1 H) 3.38 - 3.44 (м, 1 H) 3.26 - 3.36 (м, 2 H) 3.13 - 3.22 (м, 1 H) 2.59 - 2.66 (м, 1 H) 1.61 - 1.90 (м, 5 H); ¹⁹F ЯМР (376 МГц, CDCl₃) δ м.д. -128.29 (ушир.с, 1 F).

[00570] Стадия 2: Синтез интермедиата 14-3

[00571] Соединение **1-12B** (120 мг, 139 мкмоль), соединение **14-2** (43.9 мг, 279 мкмоль) и трет-бутоксид натрия (40.2 мг, 418 мкмоль) добавляли в толуол (2.00 мл). Реакционный раствор нагревали до 100°С в течение 5 часов. Реакционный раствор упаривали при пониженном давлении. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 1:1), получая соединение **14-3**. MS *m/z* = 953.1 [M+H]⁺.

[00572] Стадия 3: Синтез интермедиата 14-4

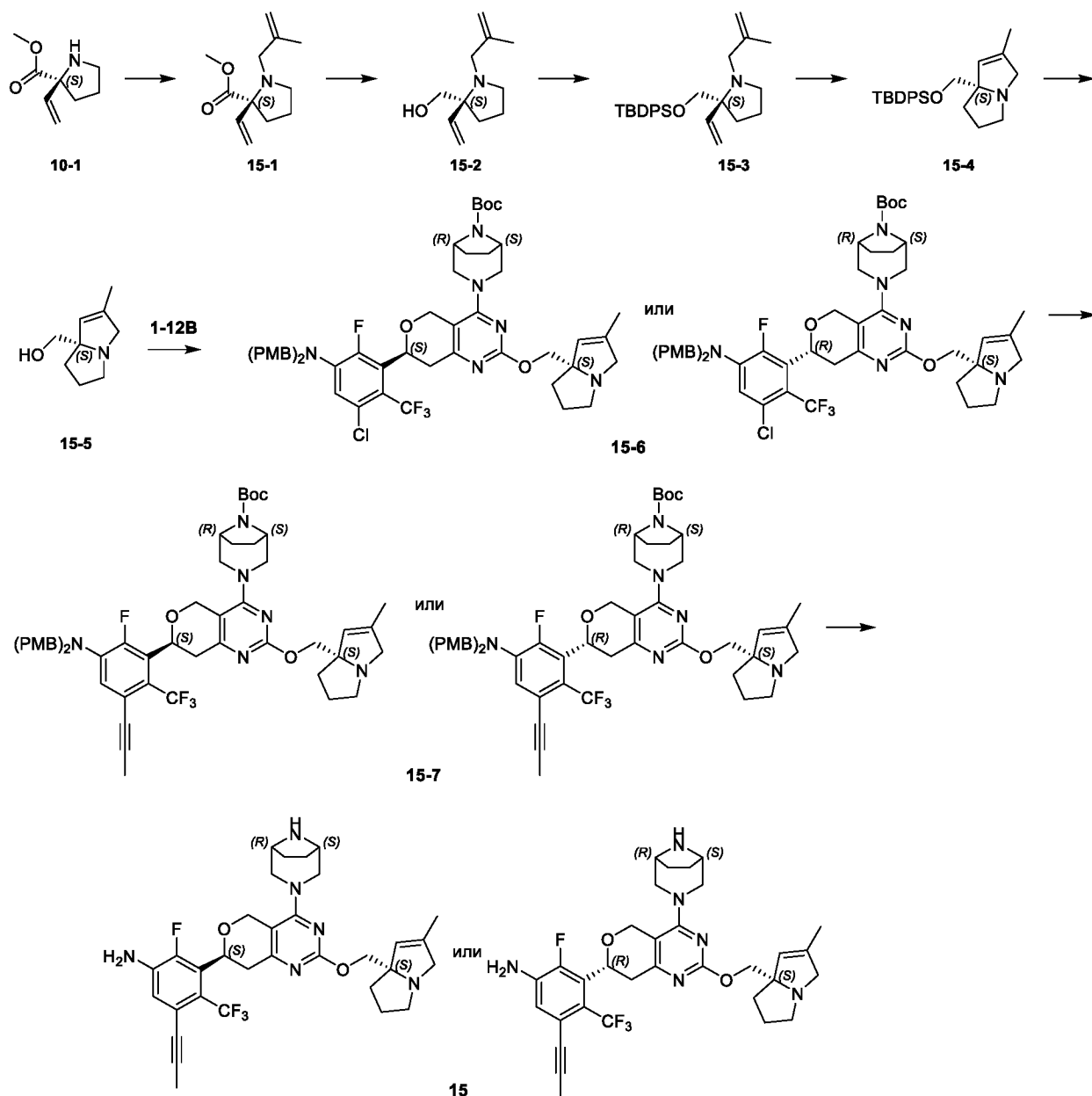
[00573] Соединение **14-3** (75.0 мг, 78.7 мкмоль) и 1-пропинилтри-*n*-бутилолово (104 мг, 315 мкмоль) добавляли в толуол (2.00 мл). Воздух в реакционной колбе заменяли три раза на азот. Добавляли в реакционный раствор дихлорбис[ди-трет-бутил-(4-

диметиламинофенил)фосфин]палладий(II) (16.7 мг, 23.6 мкмоль). Воздух в реакционной колбе заменяли на азот еще 3 раза. Смесь нагревали до 110 °С в течение 3 часов. Реакционный раствор фильтровали через слой целита, и фильтрат упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 1:1), получая соединение **14-4**, MS $m/z = 957.4 [M+H]^+$.

[00574] Стадия 4: Синтез соединения 14

[00575] Соединение **14-4** (73.0 мг, 76.3 мкмоль) растворяли в дихлорметане (1.00 мл). Добавляли в реакционный раствор ТФУК (0.10 мл). Смесь оставляли перемешиваться при 25°C в течение 3 часов. Реакционный раствор доводили до рН 7 насыщенным раствором бикарбоната натрия. Смесь упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (колонка: Waters Xbridge 150*25мм*5мкм; подвижная фаза: [вода (0.05% водный аммиак)-ацетонитрил]; ацетонитрил %: 53%-83%, 9 мин), получая соединение **14**, MS $m/z = 617.4 [M+H]^+$. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ м.д. 6.91 - 6.82 (м, 1 H), 5.49 - 5.38 (м, 1 H), 5.21 - 5.10 (м, 1 H), 4.75 - 4.69 (м, 2 H), 4.18 - 3.92 (м, 6 H), 3.65 (ушир.д, $J = 1.96$ Гц, 2 H), 3.44 (ушир.с, 1 H), 3.37 - 3.25 (м, 3 H), 3.10 - 3.04 (м, 1 H), 3.00 - 2.91 (м, 1 H), 2.67 - 2.58 (м, 1 H), 2.19 - 2.08 (м, 1 H), 2.04 (с, 2 H), 2.03 - 1.97 (м, 1 H), 1.90 - 1.83 (м, 3 H), 1.78 - 1.72 (м, 3 H), 1.26 (ушир.с, 1 H), 0.88 - 0.80 (м, 2 H).

[00576] Пример 15



[00577] Стадия 1: Синтез интермедиата 15-1

[00578] Соединение 10-1 (3.00 г, 15.6 ммоль) растворяли в ДМФА (21 мл). Добавляли карбонат калия (8.65 г, 62.6 ммоль) и 3-бром-2-метилпропен (2.54 г, 18.7 ммоль). Смесь оставляли перемешиваться при комнатной температуре на 12 часов. Выливали 100 мл воды в реакционный раствор, и смесь экстрагировали три раза этилацетатом (10 мл). Органическую фазу промывали насыщенным раствором хлорида натрия (100 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 20:1), получая соединение 15-1.

[00579] Стадия 2: Синтез интермедиата 15-2

[00580] Соединение **15-1** (2.5 г, 11.9 ммоль) растворяли в безводном ТГФ (20.0 мл). Добавляли литийалюминийгидрид (680 мг, 17.9 ммоль) при 0°C. Смесь затем перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа. В реакционный раствор добавляли 1 мл воды, 1 мл 15%-ного водного раствора NaOH и 3 мл воды. Смесь сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали при пониженном давлении, получая соединение **15-2**, MS m/z = 182.1 [M+H]⁺.

[00581] Стадия 3: Синтез интермедиата 15-3

[00582] Соединение **15-2** (1.7 г, 9.38 ммоль) растворяли в безводном ДХМ (20.0 мл). Добавляли имидазол (2.55 г, 37.5 ммоль) и 4-диметиламинопиридин (114 мг, 937 мкмоль), и затем добавляли трет-бутилдифенилсилил хлорид (5.16 г, 18.7 ммоль) при 0 °C. Смесь оставляли перемешиваться при комнатной температуре на 12 часов. Добавляли 50 мл воды в реакционный раствор, и результирующую смесь экстрагировали три раза дихлорметаном (100 мл). Органическую фазу промывали насыщенным раствором хлорида натрия (100 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 15:1), получая соединение **15-3**, MS m/z = 420.4 [M+H]⁺.

[00583] Стадия 4: Синтез интермедиата 15-4

[00584] Соединение **15-3** (2 г, 4.77 ммоль) растворяли в безводном толуоле (200 мл). Добавляли катализатор Граббса (597 мг, 953 мкмоль). Смесь оставляли перемешиваться при 110 °C в течение 12 часов. Реакционный раствор упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом тонкослойной хроматографии (дихлорметан: метанол = 20:1), получая соединение **15-4**, MS m/z = 392.2 [M+H]⁺.

[00585] Стадия 5: Синтез гидрохлорида интермедиата 15-5

[00586] Соединение **15-4** (200 мг, 510 мкмоль) растворяли в безводном диоксане (1.0 мл). добавляли HCl (12 M, 212 мкл). Смесь оставляли перемешиваться при 95 °C в течение 12 часов. Добавляли в реакционный раствор 10 мл воды. После экстракции водную фазу лиофилизывали, получая сырой продукт, который использовали в следующей стадии без дополнительной очистки. Получали гидрохлорид соединения **15-5**. MS m/z = 154.1 [M+H]⁺.

[00587] Стадия 6: Синтез интермедиата 15-6

[00588] Соединение **1-12B** (300 мг, 348 мкмоль) растворяли в безводном толуоле (2 мл). Добавляли трет-бутоксид натрия (100 мг, 1.05 ммоль) и гидрохлорид соединения **15-5** (64.1 мг). Смесь оставляли перемешиваться при комнатной температуре в течение 12 часов. Выливали в реакционный раствор 30 мл насыщенного водного раствора хлорида аммония, и смесь экстрагировали этилацетатом (30 мл). Органическую фазу промывали насыщенным раствором хлорида натрия (20 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (дихлорметан: метанол = 10:1), получая соединение **15-6**, MS $m/z = 949.5 [M+H]^+$.

[00589] Стадия 7: Синтез интермедиата 15-7

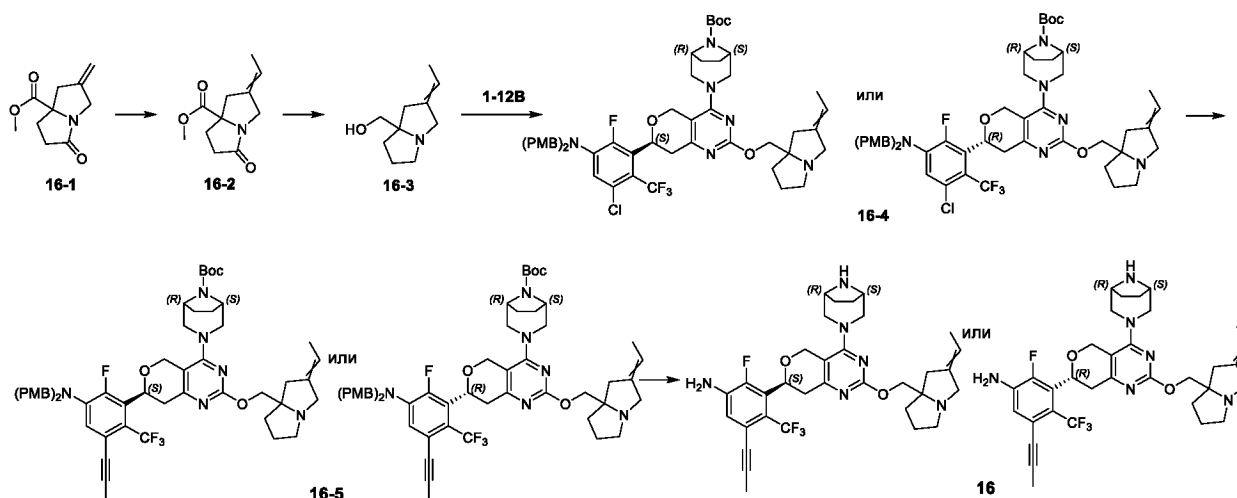
[00590] Соединение **15-6** (80 мг, 84.2 мкмоль) растворяли в безводном толуоле (2 мл). Добавляли 1-пропинилтри-*n*-бутилолово (83.1 мг, 252 мкмоль) и дихлорбис[ди-трет-бутил-(4-диметиламинофенил)фосфин]палладий (II) (11. мг, 16.8 мкмоль). Воздух в реакционной колбе заменяли три раза на азот. Смесь оставляли перемешиваться при 110 °C в течение 2 часов в атмосфере азота. Реакционный раствор охлаждали и упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом тонкослойной хроматографии (дихлорметан: метанол = 10:1), получая соединение **15-7**, MS $m/z = 953.6 [M+H]^+$.

[00591] Стадия 8: Синтез трифторацетата соединения 15

[00592] Соединение **15-7** (40 мг, 41.9 мкмоль) растворяли в дихлорметане (1.0 мл). Добавляли трифторуксусную кислоту (4.79 мг, 41.9 мкмоль). Смесь оставляли перемешиваться при 25°C в течение 1 часа. Реакционный раствор упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (колонка: Phenomenex luna C18 150*25мм*10мкм; подвижная фаза: [вода (0.075 % трифторуксусная кислота)-ацетонитрил]; ацетонитрил %: 15%-45%, 9 мин) и подвергали лиофильной сушке, получая трифторацетат соединения **15**. MS $m/z = 613.5 [M+H]^+$. ¹H ЯМР (CD₃OD, 400 МГц) δ 6.92 (д, $J = 8.5$ Гц, 1H), 5.48 (ушир.с, 1H), 5.20-5.10 (м, 1H), 4.95-4.90 (м, 3H), 4.80-4.70 (м, 1H), 4.64 (д, $J = 12.3$ Гц, 1H), 4.55-4.51 (м, 2H), 4.33 (ушир.д, $J = 14.5$ Гц, 1H), 4.15 (ушир дд, $J = 2.1, 16.1$ Гц, 2H), 3.92 (ушир.д, $J = 15.4$ Гц, 1H), 3.82 (ушир.д, $J = 13.1$ Гц, 1H), 3.81-3.70 (м,

1H), 3.71-3.61 (м, 1H), 2.92 (ушир дд, $J = 4.1, 18.4$ Гц, 1H), 2.30-2.11 (м, 8H), 2.01-1.91 (м, 4H), 1.85 (с, 3H).

[00593] Пример 16



[00594] Стадия 1: Синтез интермедиата 16-2

[00595] Соединение **16-1** (500 мг, 2.56 ммоль) растворяли в безводном толуоле (1 мл). Добавляли катализатор Граббса (217 мг, 256 мкмоль) и раствор пропилена в дихлорметане (0.5 М, 5.12 мл). Смесь оставляли перемешиваться при 50°C в течение 2 часов. Реакционный раствор упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 10:1), получая соединение **16-2**, MS $m/z = 210.0$ $[M+H]^+$.

[00596] Стадия 2: Синтез интермедиата 16-3

[00597] Соединение **16-2** (210 мг, 1.00 ммоль) растворяли в безводном ТГФ (1.0 мл). Добавляли литийалюминийгидрид (76.1 мг, 2.01 ммоль) при 0°C. Смесь оставляли перемешиваться при 70°C в течение 12 часов. В реакционный раствор добавляли 0.7 мл воды, 0.7 мл 15%-ного водного раствора NaOH и 2 мл воды. Смесь сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт, который напрямую использовали в следующей стадии. Получали соединение **16-3**.

[00598] Стадия 3: Синтез интермедиата 16-4

[00599] Соединение **1-12B** (300 мг, 348 мкмоль) растворяли в безводном ТГФ (1 мл). Добавляли трет-бутоксид натрия (100 мг, 1.05 ммоль) и соединение **16-3** (58.3 мг, 348 мкмоль). Смесь оставляли перемешиваться при комнатной температуре в течение 12 часов.

Реакционный раствор гасили добавлением 30 мл насыщенного водного раствора хлорида аммония. Смесь экстрагировали этилацетатом (30 мл). Органическую фазу промывали насыщенным раствором хлорида натрия (20 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (дихлорметан: метанол = 10:1), получая соединение **16-4**, MS $m/z = 963.5 [M+H]^+$.

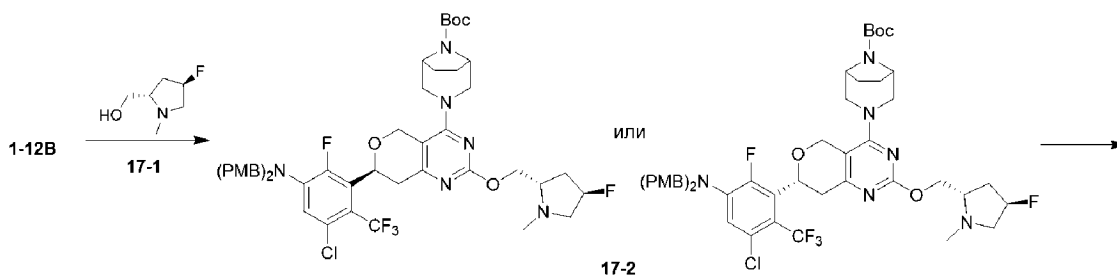
[00600] Стадия 4: Синтез интермедиата 16-5

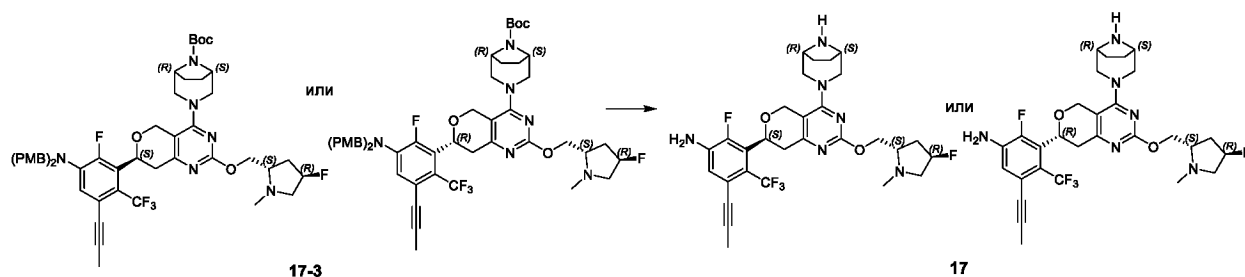
[00601] Соединение **16-4** (90.0 мг, 93.4 мкмоль) растворяли в безводном толуоле (1 мл). Добавляли 1-пропинилтри-*n*-бутилолово (122 мг, 373 мкмоль) и дихлорбис [ди-трет-бутил- (4-диметиламинофенил)фосфин]палладий (II) (19.8 мг, 28.0 мкмоль). Воздух в реакционной колбе заменяли три раза на азот. Смесь оставляли перемешиваться при 110 °С в атмосфере азота в течение 12 часов. Реакционный раствор охлаждали и упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом тонкослойной хроматографии (дихлорметан: метанол = 12:1), получая соединение **16-5**, MS $m/z = 967.5 [M+H]^+$.

[00602] Стадия 5: Синтез трифторацетата соединения 16

[00603] Соединение **16-5** (70.00 мг, 72.3 мкмоль) растворяли в дихлорметане (1.0 мл). Добавляли трифторуксусную кислоту (539 мг, 4.73 ммоль). Смесь оставляли перемешиваться при 25°C в течение 12 часов. Реакционный раствор упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (колонка: Phenomenex luna C18 150*25мм*10мкм; подвижная фаза: [вода (0.075% трифторуксусная кислота)-ацетонитрил]; ацетонитрил %: 18%-48%, 9 мин) и подвергали лиофильной сушке, получая трифторацетат соединения **16**, MS $m/z = 627.3 [M+H]^+$.

[00604] Пример 17





[00605] Стадия 1: Синтез интермедиата 17-2

[00606] Соединение **1-12В** (870 мг, 1.01 ммоль) растворяли в безводном толуоле (10.0 мл). Добавляли трет-бутоксид натрия (777 мг, 8.09 ммоль) и соединение **17-1** (404 мг, 3.03 ммоль). Смесь оставляли перемешиваться при 100°C в течение 12 часов. В реакционный раствор добавляли 30.0 мл насыщенного водного раствора хлорида аммония. Смесь экстрагировали этилацетатом (50.0 мл). Органическую фазу промывали насыщенным раствором хлорида натрия (30.0 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 2:1), получая соединение **17-2**, MS $m/z = 929.4 [M+H]^+$.

[00607] Стадия 2: Синтез формиата интермедиата 17-3

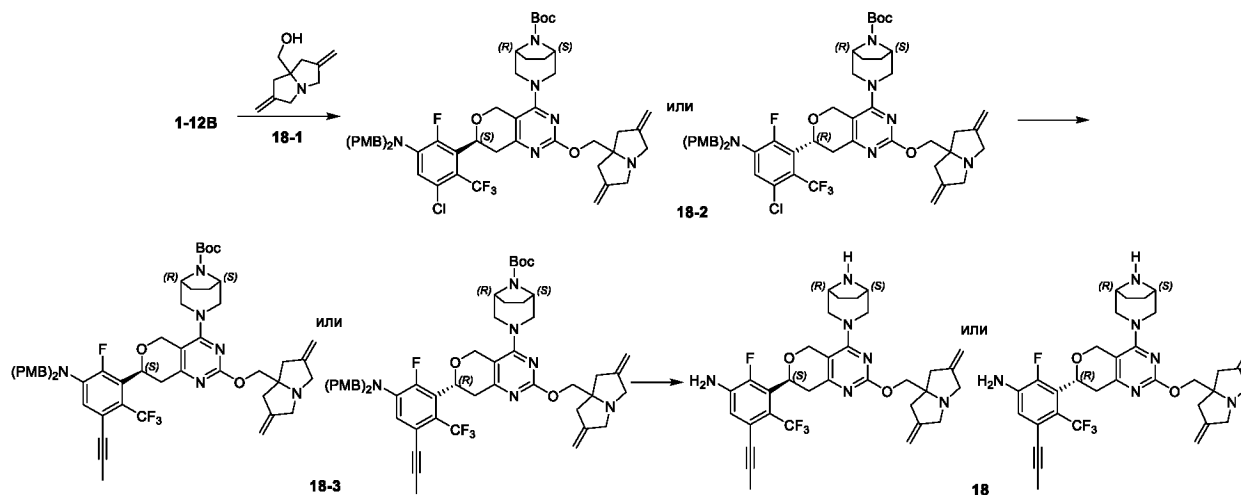
[00608] Соединение **17-2** (445 мг, 479 мкмоль) растворяли в безводном толуоле (4.00 мл). Добавляли 1-пропинилтри-*n*-бутилолово (630 мг, 1.92 ммоль) и дихлорбис[ди-трет-бутил- (4-диметиламинофенил)фосфин]палладий(II) (102 мг, 144 мкмоль). Воздух в реакционной колбе заменяли три раза на азот. Смесь оставляли перемешиваться при 110 °С в течение 3 часов в атмосфере азота. Реакционный раствор охлаждали и упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (колонка: Phenomenex luna C18 150*25мм*10мкм; подвижная фаза: [вода(0.225% муравьиная кислота)-ацетонитрил]; ацетонитрил %: 40%-70%, 10 мин), и подвергали лиофильной сушке, получая формиат соединения **17-3**, MS $m/z = 933.5 [M+H]^+$.

[00609] Стадия 3: Синтез соединения 17

[00610] Формиат соединения **17-3** (210 мг) растворяли в дихлорметане (2.00 мл). Добавляли трифторуксусную кислоту (3.00 мл). Смесь оставляли перемешиваться при 25°C в течение 4 часов. Реакционный раствор гасили добавлением 6.00 мл водного аммиака. Смесь упаривали, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали

методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (колонка: Waters Xbridge 150*25мм*5мкм; подвижная фаза: [вода (0.05% водный аммиак)-ацетонитрил]; ацетонитрил %: 28%-58%) и подвергали лиофильной сушке, получая соединение **17**. MS $m/z = 593.3 [M+H]^+$.

[00611] Пример 18



[00612] Стадия 1: Синтез интермедиата 18-2

[00613] Соединение **18-1** (192.05 мг, 1.16 ммоль) растворяли в ТГФ (10 мл). Добавляли трет-бутоксид натрия (111.70 мг, 1.16 ммоль). Смесь перемешивали при 0°C в течение 1 часа. Добавляли соединение **1-12B** (0.5 г, 581.16 мкмоль). Смесь оставляли перемешиваться при 0°C в течение 1 часа. Добавляли воду (10 мл) в реакционный раствор. Смесь экстрагировали этилацетатом (20 мл * 3). Органические фазы объединяли, промывали насыщенным раствором хлорида натрия (20 мл) и сушили над безводным сульфатом натрия. Фильтрат упаривали при пониженном давлении. Остаток очищали методом колоночной хроматографии (дихлорметан: метанол = 20:1), получая соединение **18-2**, MS $m/z = 961.7 [M+H]^+$.

[00614] Стадия 2: Синтез интермедиата 18-3

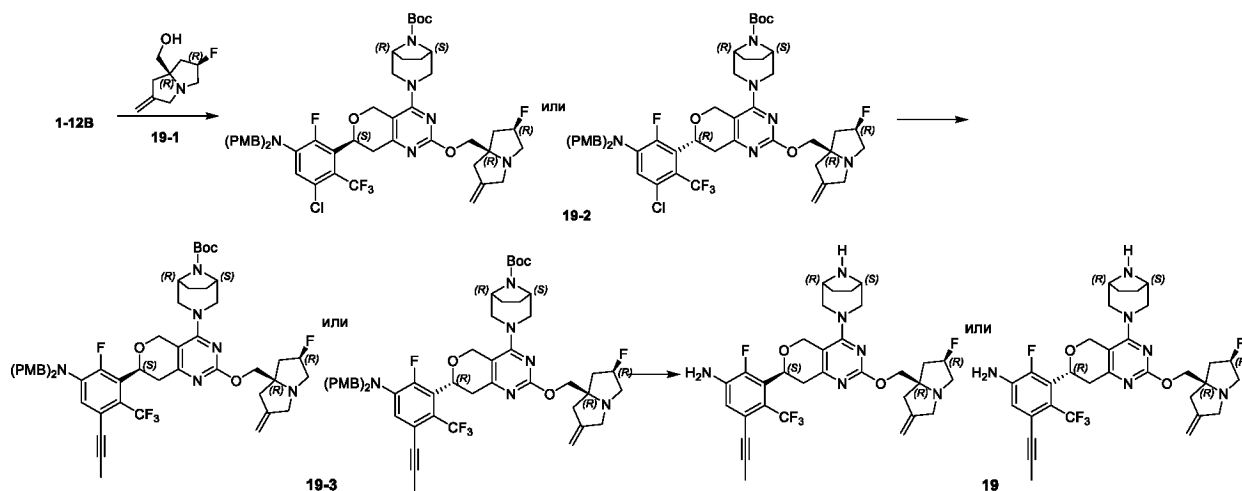
[00615] Соединение **18-2** (0.526 г, 547.07 мкмоль) растворяли в толуоле (20 мл). Добавляли 1-пропинил-три-*n*-бутилолово (900.24 мг, 2.74 ммоль) и дихлорбис[ди-трет-бутил-(4-диметиламинофенил)фосфин]палладий (II) (116.21 мг, 164.12 мкмоль). Воздух в реакционной колбе заменяли на азот 5 раз. Смесь оставляли перемешиваться при 120°C в течение 5 часов. Добавляли воду (10 мл). Смесь фильтровали через слой целита. Остаток на фильтре промывали этилацетатом (20 мл). Фильтрат

экстрагировали этилацетатом (20 мл* 3). Органические фазы объединяли, промывали насыщенным раствором хлорида натрия (20 мл) и сушили над безводным сульфатом натрия. Фильтрат упаривали при пониженном давлении. Остаток очищали методом колоночной хроматографии (дихлорметан: метанол = 10:1), получая соединение **18-3**, MS $m/z = 965.7 [M+H]^+$.

[00616] Стадия 3: Синтез гидрохлорида соединения 18

[00617] Соединение **18-3** (0.5 г, 518.09 мкмоль) растворяли в ДХМ (10 мл). Добавляли трифторуксусную кислоту (4.13 г, 36.25 ммоль). Смесь оставляли перемешиваться при 25°C в течение 1 часа. Реакционный раствор упаривали при пониженном давлении. Полученный сырой продукт очищали методом ВЭЖХ (колодка: Xtimate C18 150*40мм*5мкм; подвижная фаза: [вода (0.05% соляная кислота)-ацетонитрил]; (ацетонитрил)%: 5%-35%, 10 мин), получая гидрохлорид соединения **18**, MS $m/z = 625.3 [M+H]^+$.

[00618] Пример 19



[00619] Стадия 1: Синтез интермедиата 19-2

[00620] Соединение **19-1** (199.00 мг, 1.16 ммоль) растворяли в ТГФ (10 мл). Добавляли трет-бутоксид натрия (111.70 мг, 1.16 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 1 часа. Добавляли соединение **1-12В** (0.5 г, 581.16 мкмоль). Смесь оставляли перемешиваться при 0°C в течение 1 часа. Добавляли воду (10 мл) в реакционный раствор. Смесь экстрагировали этилацетатом (20 мл* 3). Органические фазы объединяли, промывали насыщенным раствором хлорида натрия (20 мл) и сушили над безводным сульфатом натрия. Фильтрат упаривали при пониженном давлении. Остаток очищали методом колоночной хроматографии (дихлорметан: метанол = 20:1),

получая соединение **19-2**, MS $m/z = 967.6 [M+H]^+$.

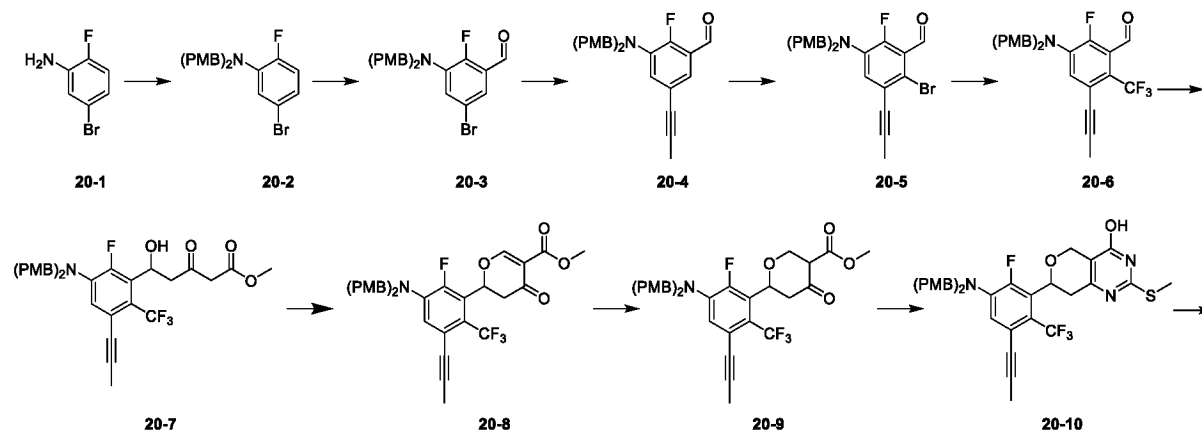
[00621] Стадия 2: Синтез интермедиата 19-3

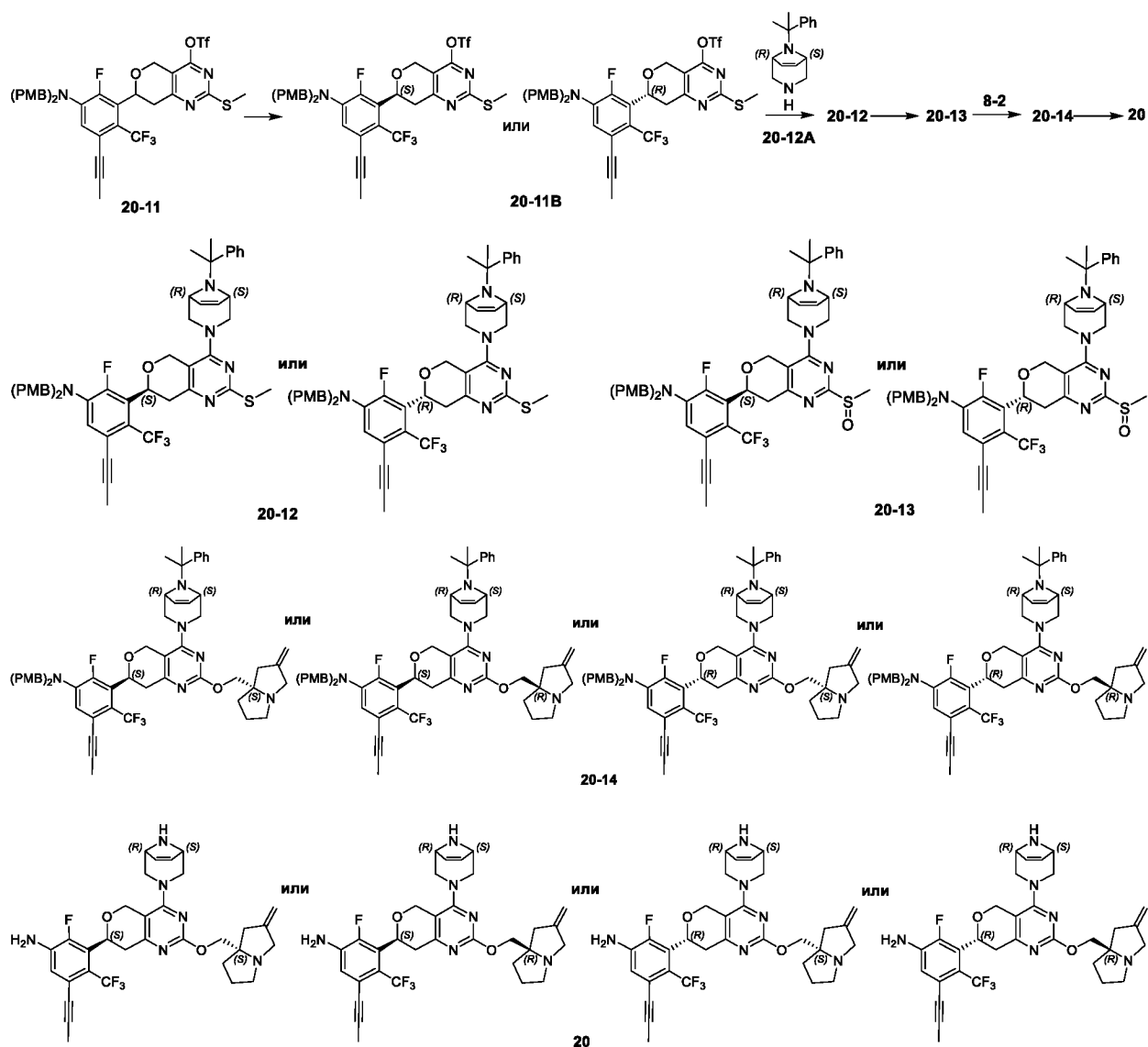
[00622] Соединение **19-2** (0.442 г, 456.87 мкмоль) растворяли в толуоле (10 мл). Добавляли 1-пропинил-три-*n*-бутилолово (601.44 мг, 1.83 ммоль) и дихлорбис[ди-трет-бутил-(4-диметиламинофенил)фосфин]палладий (II) (97.05 мг, 137.06 мкмоль). Воздух в реакционной колбе заменяли на азот 5 раз. Смесь оставляли перемешиваться при 120°C в течение 5 часов. Добавляли воду (10 мл), и смесь фильтровали через слой целита. Остаток на фильтре промывали этилацетатом (20 мл), и фильтрат экстрагировали этилацетатом (20 мл* 3). Органические фазы объединяли, промывали насыщенным раствором хлорида натрия (20 мл) и сушили над безводным сульфатом натрия. Фильтрат упаривали при пониженном давлении. Остаток очищали методом колоночной хроматографии (дихлорметан: метанол = 10:1), получая соединение **19-3**, MS $m/z = 971.8 [M+H]^+$.

[00623] Стадия 3: Синтез гидрохлорида соединения 19

[00624] Соединение **19-3** (0.442 г, 455.17 мкмоль) растворяли в ДХМ (5 мл). Добавляли трифторуксусную кислоту (15.58 г, 136.67 ммоль). Смесь оставляли перемешиваться при 25°C в течение 1 часа. Реакционный раствор упаривали при пониженном давлении, и полученный сырой продукт очищали методом ВЭЖХ (колонок: Xtimate C18 150*40мм*5мкм; подвижная фаза: [вода (0.05% соляная кислота)-ацетонитрил]; (ацетонитрил)%: 5%-35%, 10 мин), получая гидрохлорид соединения **19**, MS $m/z = 631.3 [M+H]^+$.

[00625] Пример 20





[00626] Стадия 1: Синтез соединения 20-2

[00627] Отвешивали соединение **20-1** (480 г, 2.53 моль). Добавляли ДМФА (2500 мл), 4-метоксибензилхлорид (5.18 моль, 702.79 мл), карбонат калия (872.82 г, 6.32 моль) и иодид калия (419.35 г, 2.53 моль). Смесь оставляли перемешиваться при 65°C в течение 2 часов. Добавляли воду (1000 мл). Смесь экстрагировали этилацетатом (1000 мл * 3). Органическую фазу упаривали при пониженном давлении, получая соединение **20-2**, MS $m/z = 430.0 [M+H]^+$.

[00628] Стадия 2: Синтез соединения 20-3

[00629] Отвешивали 2,2,6,6-тетраметилпиперидин (220.59 г, 1.56 моль, 265.13 мл). Добавляли ТГФ (3000 мл) и добавляли н-бутиллитий (2.5 М, 499.73 мл) при -5°C. Смесь перемешивали в течение 0.5 часа. Смесь охлаждали до -60°C. В реакционную смесь добавляли **20-2** (280 г, 624.67 ммоль). Смесь перемешивали в течение 0.5 часа. Наконец

добавляли ДМФА (228.28 г, 3.12 моль, 240.30 мл). Смесь перемешивали еще 0.5 часа. Реакционный раствор выливали в воду (1000 мл). Смесь доводили до pH 7 добавлением 1н раствора соляной кислоты. Смесь экстрагировали этилацетатом (1000 мл * 3). Фильтрат упаривали при пониженном давлении и очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 10:1), получая соединение **20-3**.

[00630] Стадия 3: Синтез соединения 20-4

[00631] Отвешивали соединение **20-3** (370 г, 807.30 ммоль). Добавляли толуол (1500 мл), дихлорбис[ди-трет-бутил-(4-диметиламинофенил)фосфин]палладий (2.86 г, 4.04 ммоль, 2.86 мл) и трибутил(1-пропинил)олово (265.69 г, 807.30 ммоль). Смесь оставляли перемешиваться при 120°C в течение 2 часов в атмосфере азота. Смесь упаривали при пониженном давлении и очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 5:1), получая соединение **20-4**. MS m/z = 418.1 [M+H]⁺.

[00632] Стадия 4: Синтез соединения 20-5

[00633] Отвешивали соединение **20-4** (450 г, 970.13 ммоль). Добавляли ДМФА (100 мл) и N-бромсукцинимид (189.93 г, 1.07 моль). Смесь оставляли перемешиваться при 25 °C в течение 2 часов. Добавляли еще N-бромсукцинимид (17.27 г, 97.01 ммоль). Смесь перемешивали еще 3 часа. Реакционный раствор упаривали при пониженном давлении и очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 5:1), получая соединение **20-5**. MS m/z = 496.0 [M+H]⁺.

[00634] Стадия 5: Синтез соединения 20-6

[00635] Отвешивали соединение **20-5** (55 г, 110.81 ммоль). Добавляли ДМФА (300 мл), метил фторсульфонил дифторацетат (42.57 г, 221.61 ммоль, 28.19 мл) и иодид меди (42.21 г, 221.61 ммоль). Смесь оставляли перемешиваться при 110 °C в атмосфере азота на 2 часа. Реакцию гасили добавлением 500 мл воды. Смесь экстрагировали этилацетатом (600 мл*3). Органические фазы объединяли. Объединенные органические фазы промывали последовательно водой (800 мл*2) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (800 мл), сушили безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали. Остаток очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 10:1), получая соединение **20-6**. MS m/z = 485.9 [M+H]⁺.

[00636] Стадия 6: Синтез соединения 20-7

[00637] В раствор гидрида натрия (6.34 г, 158.61 ммоль, 60% чистота) в

тетрагидрофуране (350 мл) добавляли по каплям метил ацетоацетат (18.42 г, 158.61 ммоль, 17.10 мл) при 0°C. Смесь перемешивали 15 минут. Добавляли раствор **20-6** (35 г, 72.10 ммоль) в тетрагидрофуране (350 мл). Смесь перемешивали 0.5 часа. Реакцию гасили добавлением 200 мл насыщенного раствора хлорида аммония. Смесь экстрагировали этилацетатом (300 мл*2). Органические фазы объединяли, промывали насыщенным раствором хлорида натрия (400 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали при пониженном давлении. Остаток очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = от 10:1 до 1:1), получая соединение **20-7**. MS m/z = 624.2 [M+Na]⁺.

[00638] Стадия 7: Синтез соединения 20-8

[00639] Отвешивали соединение **20-7** (38 г, 63.17 ммоль). Добавляли дихлорметан (300 мл) и диметилацеталь N,N-диметилформамида (9.03 г, 75.80 ммоль). Смесь оставляли перемешиваться при 25°C в течение 16 часов. Реакционный раствор охлаждали до 0 °C. Добавляли эфират трехфтористого бора (10.76 г, 75.80 ммоль, 9.32 мл). Смесь оставляли перемешиваться при 0°C еще на 1 час. В реакционную смесь добавляли 200 мл насыщенного раствора бикарбоната натрия. Органическую фазу отделяли. Водную фазу экстрагировали 200 мл дихлорметана. Органические фазы объединяли. Объединенные органические фазы промывали 250 мл насыщенного раствора хлорида натрия, сушили безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали при пониженном давлении. Остаток очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = от 10:1 до 1:1), получая соединение **20-8**. MS m/z = 612.1 [M+H]⁺.

[00640] Стадия 8: Синтез соединения 20-9

[00641] Отвешивали соединение **20-8** (30 г, 49.05 ммоль). Добавляли тетрагидрофуран (300 мл). В реакционную смесь добавляли три-втор-бутилборгидрид лития (1 M, 53.96 мл) при -60°C. Смесь оставляли перемешиваться при -60°C в течение 1 часа. Реакцию гасили добавлением 200 мл воды. Смесь экстрагировали этилацетатом (300 мл* 2). Органические фазы объединяли, промывали 300 мл насыщенного раствора хлорида натрия, сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали при пониженном давлении. Остаток очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 10:1-5:1), получая соединение **20-9**. MS m/z = 614.1 [M+H]⁺.

[00642] Стадия 9: Синтез соединения 20-10

[00643] Отвешивали соединение **20-9** (20 г, 32.59 ммоль). Добавляли этанол (200 мл), 2-метил-2-тиоизоуровид сульфат (27.22 г, 97.78 ммоль) и карбонат натрия (6.91 г, 65.19 ммоль). Смесь оставляли перемешиваться при 50°C в течение 13 часов. Реакционный раствор упаривали досуха. Добавляли 40 мл воды. Смесь экстрагировали этилацетатом (50 мл*2). Органические фазы объединяли. Объединенные органические фазы промывали 60 мл насыщенного раствора хлорида натрия, сушили безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали при пониженном давлении, получая соединение **20-10**. MS $m/z = 654.3 [M+H]^+$.

[00644] Стадия 10: Синтез соединения 20-11В

[00645] Отвешивали соединение **20-10** (21 г, 32.13 ммоль). Добавляли ДМФА (2 00 мл), N,N-диизопропилэтиламин (12.46 г, 96.38 ммоль, 16.79 мл), и N-фенилбис(трифторметансульфонил)имид (13.77 г, 38.55 ммоль). Смесь оставляли перемешиваться при 25°C в течение 1 часа. В систему добавляли 300 мл воды. Смесь экстрагировали этилацетатом (300 мл*3). Органическую фазу промывали последовательно водой (400 мл*2) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (400 мл), сушили безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали при пониженном давлении и очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 10:1), получая соединение **20-11**, которое очищали методом сверхкритической флюидной хроматографии (хроматографическая колонка: DAICEL CHIRALPAK IG (250мм*50мм, 10мкм); подвижная фаза: [сверхкритический CO₂-этанол (0.1% водный аммиак)]; этанол%: 25%-25%), получая соединение **20-11А** и соединение **20-11В**. Анализ методом сверхкритической флюидной хроматографии (хроматографическая колонка: Chiral Pak IG-3 (100мм*4.6мм, 3мкм); подвижная фаза: [сверхкритический CO₂-этанол (0.05% диэтиламин)]; (этанол (0.05% диэтиламин))%: 5%-40%), соединение **20-11А**, $R_t = 2.574$ минут, значение ee = 99%; соединение **20-11В**, $R_t = 3.055$ минут, значение ee = 99%.

[00646] Стадия 11: Синтез соединения 20-12

[00647] Соединение **20-11В** (2 г, 2.55 ммоль) и **20-12А** (871.78 мг, 3.82 ммоль) отвешивали и растворяли в ДМФА (10 мл). Добавляли N,N-диизопропилэтиламин (986.88 мг, 7.64 ммоль). Смесь оставляли перемешиваться при 100°C в течение 1 часа. Реакционный раствор упаривали при пониженном давлении и очищали методом

колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 5:1), получая соединение **20-12**, MS $m/z = 864.0 [M+H]^+$.

[00648] Стадия 12: Синтез соединения 20-13

[00649] Соединение **20-12** (1.8 г, 2.08 ммоль) отвешивали и растворяли в ТГФ (20 мл). Добавляли м-хлорпербензойную кислоту (422.96 мг, 2.08 ммоль, 85% чистота). Смесь перемешивали при 25°C в течение 0.5 часа. Реакционный раствор упаривали при пониженном давлении, получая соединение **20-13**. MS $m/z = 880.0 [M+H]^+$.

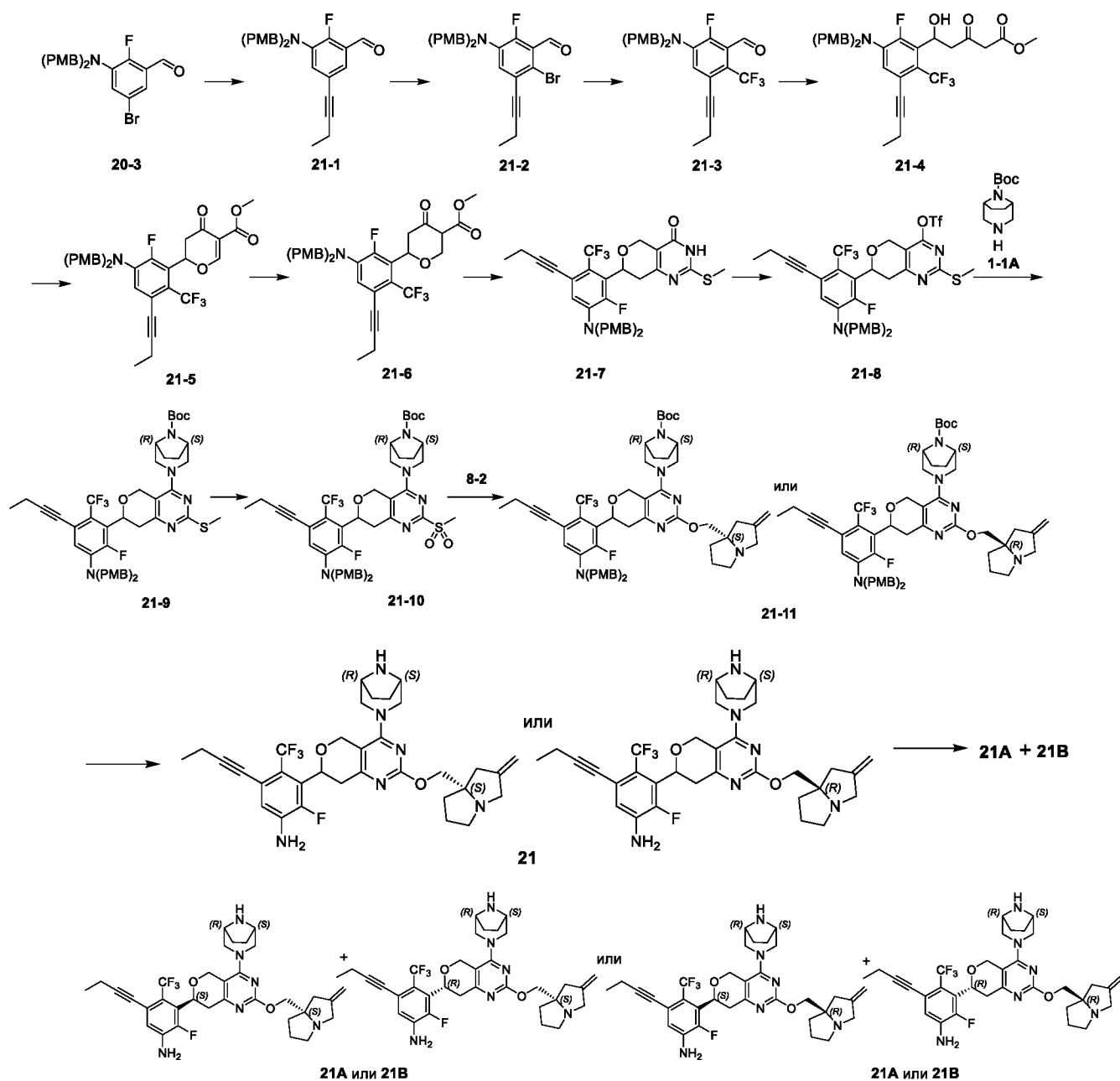
[00650] Стадия 13: Синтез соединения 20-14

[00651] Соединение **8-2** (626.81 мг, 4.09 ммоль) отвешивали и растворяли в ТГФ (5 мл). Трет-бутоксид натрия (393.15 мг, 4.09 ммоль) добавляли при 0°C. Через один час добавляли **20-13** (1.8 г, 2.05 ммоль). Смесь перемешивали еще 1 час. Реакцию гасили добавлением 10 мл воды. Смесь доводили до pH 6 добавлением 1н. разбавленной соляной кислоты. Смесь экстрагировали этилацетатом (100 мл*2). Органические фазы объединяли, сушили безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали при пониженном давлении и очищали методом колоночной хроматографии (дихлорметан: метанол = 10:1), получая соединение **20-14**, MS $m/z = 969.1 [M+H]^+$.

[00652] Стадия 14: Синтез гидрохлорида соединения 20

[00653] Соединение **20-14** (1.4 г, 1.44 ммоль) отвешивали и растворяли в трифторуксусной кислоте (10 мл). Смесь оставляли перемешиваться при 25°C в течение 1 часа. Реакционный раствор упаривали при пониженном давлении, и полученный сырой продукт очищали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (колонок: Xtimate C18 150*40мм*5мкм; подвижная фаза: [вода (0.05% соляная кислота)-ацетонитрил]; (ацетонитрил)%: 5%-35%, 10 мин), получая гидрохлорид соединения **20**, MS $m/z = 610.6 [M+H]^+$.

[00654] Пример 21



[00655] Стадия 1: Синтез интермедиата 21-1

[00656] Соединение **20-3** (19 г, 41.46 ммоль) и пентиновой кислоты (4.88 г, 49.75 ммоль) добавляли в диметилсульфоксид (200 мл). Добавляли дихлорбистрифенилфосфин палладий (290.98 мг, 414.56 мкмоль), 1,4-бис(дифенилфосфино)бутан (353.59 мг, 829.12 мкмоль) и 1,8-диазабигло[5.4.0]ундекан-7-ен (18.93 г, 124.37 ммоль, 18.75 мл). Воздух в реакционной колбе заменяли на азот. Полученную смесь нагревали до 110-115°C, и перемешивали 18 часов. Реакционный раствор разводили добавлением 500 мл этилацетата и промывали водой (50 мл×3) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (100 мл). Органическую фазу упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт,

который очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 5:1), получая соединение **21-1**. ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ : 10.34 (с, 1H), 7.42 (дд, $J = 2.0$, 5.6 Гц, 1H), 7.16 (д, $J = 8.4$ Гц, 4H), 7.11-7.06 (м, 1H), 6.87 - 6.82 (м, 4H), 4.24 (с, 4H), 3.82 - 3.78 (м, 6H), 2.37 (кв., $J = 7.6$ Гц, 2H), 1.21 (т, $J = 7.6$ Гц, 3H).

[00657] Стадия 2: Синтез интермедиата 21-2

[00658] Соединение **21-1** (4.0 г, 9.27 ммоль) растворяли в ДМФА (30 мл). Добавляли N-бромсукцинимид (2.14 г, 12.05 ммоль). Результирующий реакционный раствор перемешивали при 50°C в течение 3 часов в атмосфере азота. Реакционный раствор разводили добавлением 150 мл этилацетата, и затем промывали водой (20 мл \times 3) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (20 мл). Органическую фазу упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 5:1), получая соединение **21-2**, MS $m/z = 510.1$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[00659] Стадия 3: Синтез интермедиата 21-3

[00660] Соединение **21-2** (4.6 г, 9.01 ммоль) и метил фторсульфонил дифторацетат (6.93 г, 36.05 ммоль, 4.59 мл) добавляли в N,N-диметилформаид (30 мл). Иодид меди (3.43 г, 18.03 ммоль) добавляли. Результирующий реакционный раствор нагревали до 105°C в атмосфере азота и перемешивали в течение 3 часов. Реакционный раствор упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 5:1), получая соединение **21-3**, MS $m/z = 500.0$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[00661] Стадия 4: Синтез интермедиата 21-4

[00662] Гидрид натрия (856.78 мг, 21.42 ммоль, 60% чистота) суспендировали в безводном тетрагидрофуране (30 мл). Полученную смесь охлаждали до 0°C. Затем добавляли по каплям метил ацетоацетат (2.09 г, 17.99 ммоль, 1.94 мл). После окончания добавления, смесь перемешивали в течение 30 минут, и затем добавляли н-бутиллитий (2.5 М, 7.88 мл) по каплям. После окончания добавления, смесь перемешивали еще 30 минут. Ледяную баню убрали. Смесь охлаждали до -78°C. Наконец, в смесь добавляли по каплям раствор соединения **21-3** (4.28 г, 8.57 ммоль) в 15 мл тетрагидрофурана. После окончания добавления, смесь перемешивали в течение 0.5 часа. Реакцию гасили добавлением 1М соляной кислоты. Смесь доводили до pH 5 и отделяли органическую фазу.

Водную фазу экстрагировали 30 мл этилацетата три раза. Органические фазы объединяли и упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 2:1), получая соединение **21-4**. MS $m/z = 638.2 [M+Na]^+$.

[00663] Стадия 5: Синтез интермедиата 21-5

[00664] Соединение **21-4** (5.0 г, 6.01 ммоль) растворяли в дихлорметане (40 мл), затем добавляли диметилацеталь N,N-диметилформамида (2.15 г, 18.03 ммоль, 2.40 мл). Результирующий реакционный раствор перемешивали в течение 18 часов в атмосфере азота. Реакционный раствор охлаждали до 0°C и затем добавляли по каплям эфират трехфтористого бора (853.03 мг, 6.01 ммоль). После окончания добавления, реакционный раствор перемешивали в течение 1 часа. Реакцию гасили добавлением 20 мл насыщенного раствора бикарбоната натрия. Затем смесь экстрагировали 30 мл дихлорметана 3 раза. Органические фазы объединяли и упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 2:1), получая соединение **21-5**. MS $m/z = 626.0 [M+H]^+$.

[00665] Стадия 6: Синтез интермедиата 21-6

[00666] Соединение **21-5** (2.6 г, 4.16 ммоль) растворяли в безводном тетрагидрофуране (20 мл). Смесь охлаждали до -78°C в атмосфере азота и затем добавляли по каплям три-втор-бутилборгидрид лития (1 M, 4.57 мл). После окончания добавления реакционный раствор перемешивали при -78°C в течение 0.5 часа. Реакцию гасили добавлением 15 мл воды. Смесь доводили до pH 5-6 добавлением 1M раствора соляной кислоты и отделяли органическую фазу. Водный слой экстрагировали 30 мл × 3. Органические фазы объединяли и упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 5:1), получая соединение **21-6**, MS $m/z = 650.0 [M+Na]^+$.

[00667] Стадия 7: Синтез интермедиата 21-7

[00668] Соединение **21-6** (0.6 г, 955.99 мкмоль) и 2-метилтиомочевины сульфат (539.83 мг, 2.87 ммоль) добавляли в этанол (15 мл) и затем добавляли карбонат натрия (202.65 мг, 1.91 ммоль). Результирующий реакционный раствор нагревали до 65°C в атмосфере азота и перемешивали в течение 18 часов. Реакционный раствор упаривали при пониженном давлении. В остаток добавляли 10 мл воды и 80 мл этилацетата. Смесь

доводили до pH 6 добавлением 2M раствора соляной кислоты при перемешивании. Водный слой отделяли, органическую фазу промывали 10 мл насыщенного раствора хлорида натрия, сушили над безводным сульфатом натрия и упаривали при пониженном давлении, получая соединение **21-7**, MS $m/z = 668.3 [M+H]^+$.

[00669] Стадия 8: Синтез интермедиата 21-8

[00670] Соединение **21-7** (640 мг, 958.50 мкмоль) и N-фенилбис(трифторметансульфонил)имид (513.63 мг, 1.44 ммоль) добавляли в N,N-диметилформамид (5 мл) и затем добавляли N,N-диизопропилэтиламин (247.76 мг, 1.92 ммоль). Воздух в реакционной колбе заменяли на азот. Реакционный раствор нагревали до 35°C и перемешивали в течение 1.5 часов. Реакционный раствор разводили добавлением 50 мл этилацетата, затем промывали водой (10 мл × 3). Органическую фазу упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт, который очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 5:1), получая соединение **21-8**. MS $m/z = 800.4 [M+H]^+$.

[00671] Стадия 9: Синтез интермедиата 21-9

[00672] Соединение **21-8** (340 мг, 425.12 мкмоль) и соединение **1-1A** (180.50 мг, 850.24 мкмоль) добавляли в N,N-диметилформамид (3 мл), затем добавляли N,N-диизопропилэтиламин (164.83 мг, 1.28 ммоль). Результирующий реакционный раствор нагревали до 105°C в атмосфере азота и перемешивали в течение 1 часа. Реакционный раствор упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 2:1), получая соединение **21-9**. MS $m/z = 862.4 [M+H]^+$.

[00673] Стадия 10: Синтез интермедиата 21-10

[00674] Соединение **21-9** (223 мг, 258.71 мкмоль) растворяли в дихлорметане (3 мл) и затем добавляли м-хлорпербензойную кислоту (52.52 мг, 258.71 мкмоль, 85% чистота). Результирующий реакционный раствор перемешивали при 25°C в течение 1 часа в атмосфере азота. Реакционный раствор упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт, который очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 1:1), получая соединение **21-10**. MS $m/z = 894.4 [M+H]^+$.

[00675] Стадия 11: Синтез интермедиата 21-11

[00676] Соединение **8-2** (76.44 мг, 498.89 мкмоль) и трет-бутоксид натрия (47.95 мг,

498.89 мкмоль) добавляли в тетрагидрофуран (2 мл). Смесь перемешивали при 25°C в течение 0.5 часа. Раствор соединения **21-10** (223 мг, 249.45 мкмоль) в 2 мл тетрагидрофурана добавляли по каплям в реакционный раствор. Смесь перемешивали при 25 °C в течение 0.5 часа. Реакционный раствор разводили добавлением 30 мл этилацетата и затем промывали 5 мл насыщенного раствора хлорида натрия. Органическую фазу сушили над безводным сульфатом натрия и упаривали при пониженном давлении, получая соединение **21-11**. MS $m/z = 967.8 [M+H]^+$.

[00677] Стадия 12: Синтез соединения 21

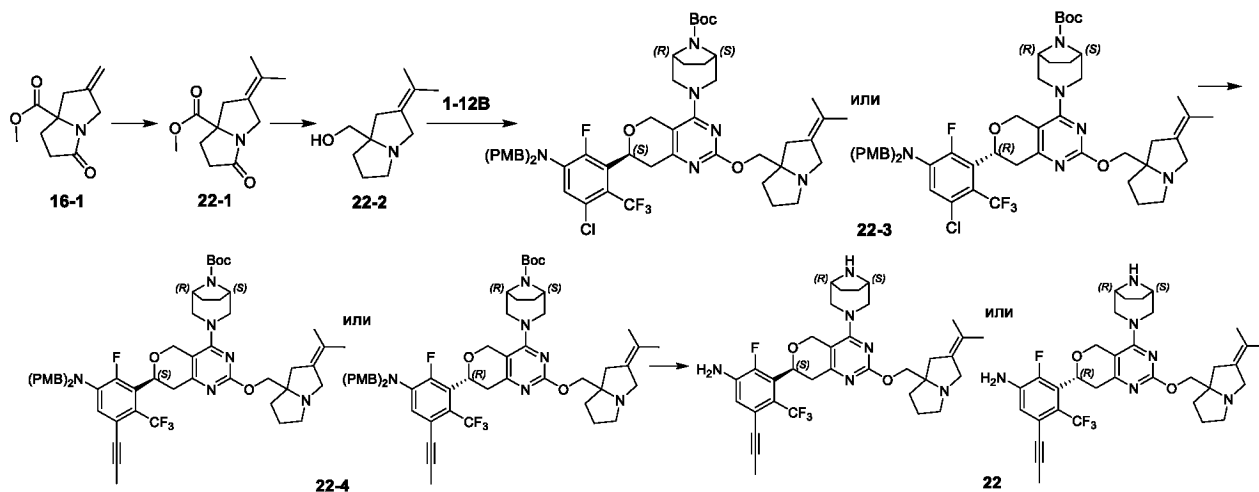
[00678] Соединение **21-11** (238 мг, 246.10 мкмоль) добавляли в трифторуксусную кислоту (2 мл). Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 1 часа. Реакционный раствор упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт, который очищали методом ВЭЖХ (колонка: Xtimate C18 150*40мм*5мкм; подвижная фаза: [вода (0.05% соляная кислота)-ацетонитрил]; (ацетонитрил)%: 5%-35%, 10 мин), получая гидрохлорид соединения **21**, MS $m/z = 627.4 [M+H]^+$.

[00679] Стадия 13: Синтез соединений 21A и 21B

[00680] Гидрохлорид соединения **21** очищали методом сверхкритической флюидной хроматографии (хроматографическая колонка: DAICEL CHIRALPAK IC (250мм*30мм, 10 мкм); подвижная фаза: [сверхкритический CO₂-метанол (0.1% водный аммиак)]; метанол %: 60%-60%), получая соединение **21A** и соединение **21B**, которые анализировали методом сверхкритической флюидной хроматографии (хроматографическая колонка: Chiral Pak IC (100мм*4.6мм, 3мкм); подвижная фаза: [сверхкритический CO₂-этанол (0.05% диэтиламин)]; (метанол (0.05% диэтиламин))%: 60%-60%), соединение **21A**, $R_t = 1.696$ минут, значение ee = 99%, MS $m/z = 627.4 [M+H]^+$; ¹H ЯМР (400МГц, CDCl₃) δ: 6.89 (д, $J = 8.4$ Гц, 1H), 5.21 (д, $J = 12.0$ Гц, 2H), 5.11 (д, $J = 7.6$ Гц, 1H), 4.80 - 4.50 (м, 4H), 4.44 - 4.27 (м, 2H), 4.23 - 3.82 (м, 5H), 3.77 - 3.48 (м, 3H), 3.35-3.20 (м, 1H), 3.11 - 2.86 (м, 3H), 2.63 - 2.51 (м, 1H), 2.38 (кв, $J = 7.2$ Гц, 3H), 2.30 - 2.06 (м, 5H), 2.04 - 1.75 (м, 2H), 1.20 (т, $J = 7.6$ Гц, 3H). Соединение **21B**, $R_t = 5.728$ мин, значение ee = 99%, MS $m/z = 627.3 [M+H]^+$, ¹H ЯМР (400МГц, CDCl₃) δ: 6.86 (д, $J = 8.4$ Гц, 1H), 5.19 - 5.08 (м, 1H), 4.95 (ушир.с, 2H), 4.80 - 4.64 (м, 3H), 4.15 - 4.03 (м, 4H), 4.01-3.93 (м, 1H), 3.82 - 3.67 (м, 3H), 3.59 - 3.43 (м, 2H), 3.36 - 3.14 (м, 4H), 3.00-2.90 (м, 1H), 2.80 (д, $J = 15.0$ Гц, 1H), 2.72 - 2.62 (м, 1H), 2.45-2.32 (м, 3H), 2.22 - 2.11 (м, 1H), 2.09 - 1.84 (м, 5H),

1.82 - 1.67 (м, 2H), 1.21 (т, $J = 7.2$ Гц, 3H).

[00681] Пример 22



[00682] Стадия 1: Синтез формиата интермедиата 22-1

[00683] Соединение **16-1** (1.28 г, 6.56 ммоль) растворяли в толуоле (10.0 мл). Добавляли раствор изобутилена в тетрагидрофуране (2.40 М, 2.73 мл) и катализатор Ховеяда-Граббса (411 мг, 656 мкмоль). Смесь оставляли перемешиваться при 120 °С в течение 12 часов. Реакционный раствор фильтровали через слой целита, и фильтрат упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (колонка: Phenomenex Luna C18 150*25мм*10мкм; подвижная фаза: [вода (0.225 % муравьиная кислота)-ацетонитрил]; ацетонитрил: 25%-55%), получая соединение **22-1**. MS $m/z = 224.1$ $[M+1]^+$.

[00684] Стадия 2: Синтез интермедиата 22-2

[00685] Соединение **22-1** (200 мг) растворяли в ТГФ (2.00 мл). Смесь охлаждали до 0 °С и медленно добавляли по каплям раствор красного алюминия в толуоле (1.03 г, 3.58 ммоль, 70.0% чистота) при 0 °С. После окончания добавления реакционный раствор оставляли перемешиваться при 25 °С в течение 12 часов. Метанол (3.00 мл) добавляли в реакционный раствор, и смесь упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (дихлорметан: метанол = 10:1), получая соединение **22-2**. MS $m/z = 182.1$ $[M+1]^+$.

[00686] Стадия 3: Синтез формиата интермедиата 22-3

[00687] Соединение **1-12В** (100 мг, 116 мкмоль) растворяли в толуоле (1.00 мл) и добавляли в полученный раствор соединение **22-2** (105 мг, 581 мкмоль), 4А молекулярные

сита (100 мг) и трет-бутоксид натрия (33.5 мг, 349 мкмоль). Реакционный раствор оставляли перемешиваться при 110 °С в течение 12 часов. Реакционный раствор охлаждали и фильтровали через слой целита. Фильтрат упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (колонка: Phenomenex luna C18 150*25мм*10мкм; подвижная фаза: [вода (0.225% муравьиная кислота)-ацетонитрил]; ацетонитрил: 50%-80%), получая формиат соединения **22-3**. MS m/z = 977.3 [M+1]⁺.

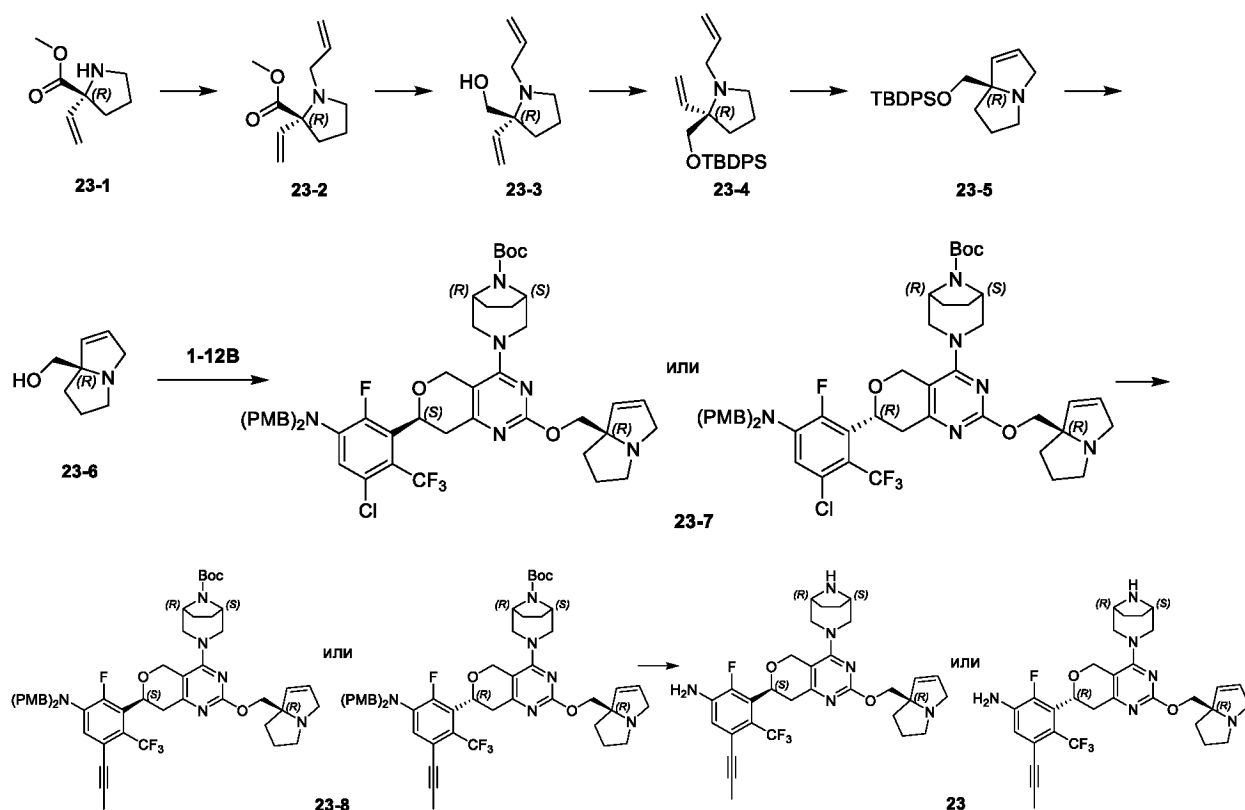
[00688] Стадия 4: Синтез интермедиата 22-4

[00689] Формиат соединения **22-3** (45.0 мг, 46.0 мкмоль) растворяли в толуоле (1.00 мл) и добавляли в реакционный раствор 1-пропинилтри-н-бутилолово (60.6 мг, 184 мкмоль) и дихлорбис[ди-трет-бутил-(4-диметиламинофенил)фосфин]палладий (II) (9.78 мг, 13.8 мкмоль). Реакционный раствор оставляли перемешиваться при 110 °С в течение 3 часов. Реакционный раствор охлаждали и фильтровали через слой целита. Фильтрат упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (колонка: Phenomenex Luna C18 150*25мм*10мкм; подвижная фаза: [вода (0.075 % трифторуксусная кислота)- ацетонитрил]; ацетонитрил: 52%-82%), получая трифторацетат соединения **22-4**. MS m/z = 981.4 [M+1]⁺.

[00690] Стадия 5: Синтез формиата соединения 22

[00691] Трифторацетат соединения **22-4** (35.0 мг, 35.7 мкмоль) растворяли в дихлорметане (1.00 мл) и добавляли в реакционный раствор трифторуксусную кислоту (0.20 мл). Реакционный раствор оставляли перемешиваться при 25 °С в течение 1 часа и затем упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали последовательно методом ВЭЖХ (колонка: Phenomenex luna C18 150*25мм*10мкм; подвижная фаза: [вода (0.075% трифторуксусная кислота)-ацетонитрил]; ацетонитрил: 20%-50% в течение 9 минут); (колонка: Waters Xbridge 150*25мм*5мкм; подвижная фаза: [вода (0.1 % аммиак)-ацетонитрил]; ацетонитрил: 55 % -85 % в течение 10 минут); (колонка: Phenomenex luna C18 150*25мм*10мкм; подвижная фаза: [вода (0.225 % муравьиная кислота)-ацетонитрил]; ацетонитрил: 15%-45% в течение 9 минут), получая формиат соединения **22**. MS m/z = 641.3 [M+1]⁺.

[00692] Пример 23



[00693] Стадия 1: Синтез интермедиата 23-2

[00694] Соединение **23-1** (5.5 г) растворяли в ДМФА (50 мл) и добавляли карбонат калия (15.8 г, 114 ммоль) и аллилбромид (4.17 г, 34.4 ммоль). Смесь оставляли перемешиваться при комнатной температуре в течение 12 часов. 100 мл воды выливали в реакционный раствор. Смесь экстрагировали этилацетатом (200 мл) три раза. Органическую фазу промывали насыщенным раствором хлорида натрия (100 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 20:1), получая соединение **23-2**.

[00695] Стадия 2: Синтез интермедиата 23-3

[00696] Соединение **23-2** (5.5 г, 28.1 ммоль) растворяли в безводном ТГФ (37.0 мл) и добавляли литийалюминийгидрид (2.5 М, 13.5 мл) при 0°C. Смесь оставляли перемешиваться при комнатной температуре в течение 1 часа. В реакционный раствор добавляли 1.2 мл воды, 1.2 мл 15%-ного водного раствора NaOH и наконец 3.6 мл воды. Органическую фазу сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт, который напрямую использовали в следующей стадии. Получали соединение **23-3**.

[00697] Стадия 3: Синтез интермедиата 23-4

[00698] Соединение **23-3** (2.5 г) растворяли в безводном ДХМ (20.0 мл). Добавляли имидазол (4.07 г, 59.7 ммоль) и 4-диметиламинопиридин (182 мг, 1.49 ммоль), затем добавляли трет-бутилдифенилсилил хлорид (8.22 г, 29.9 ммоль) при 0 °С. Смесь оставляли перемешиваться при комнатной температуре в течение 12 часов. Реакцию гасили добавлением 100 мл воды в реакционный раствор, и смесь экстрагировали дихлорметаном (100 мл) три раза. Органическую фазу промывали насыщенным раствором хлорида натрия (100 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 10:1), получая соединение **23-4**. MS $m/z = 406.2 [M+H]^+$.

[00699] Стадия 4: Синтез интермедиата 23-5

[00700] Соединение **23-4** (1.5 г, 3.70 ммоль) растворяли в безводном толуоле (30 мл) и добавляли катализатор Граббса (313.93 мг, 369.78 мкмоль). Смесь оставляли перемешиваться при 120 °С в течение 12 часов. Реакционный раствор упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом тонкослойной хроматографии (дихлорметан: метанол = 10:1), получая соединение **23-5**. MS $m/z = 378.2 [M+H]^+$.

[00701] Стадия 5: Синтез гидрохлорида интермедиата 23-6

[00702] Соединение **23-5** (200 мг, 529 мкмоль) растворяли в безводном диоксане (6.0 мл) и добавляли соляную кислоту (12 М, 44.1 мкл). Смесь оставляли перемешиваться при 95°С в течение 12 часов. В реакционный раствор добавляли 10 мл воды. Смесь экстрагировали. Водную фазу подвергали лиофильной сушке, получая сырой продукт, который использовали в следующей стадии без дополнительной очистки. Получали гидрохлорид соединения **23-6**.

[00703] Стадия 6: Синтез интермедиата 23-7

[00704] Гидрохлорид соединения **23-6** (207 мг) растворяли в безводном толуоле (3 мл) и добавляли трет-бутоксид натрия (250 мг, 2.60 ммоль) и соединение **1-12В** (320 мг, 371 мкмоль). Смесь оставляли перемешиваться при комнатной температуре в течение 12 часов. 30 мл насыщенного водного раствора хлорида аммония выливали в реакционный раствор. Смесь экстрагировали этилацетатом (30 мл). Органическую фазу промывали

насыщенным раствором хлорида натрия (20 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (дихлорметан: метанол = 10:1), получая соединение **23-7**. MS $m/z = 935.3 [M+H]^+$.

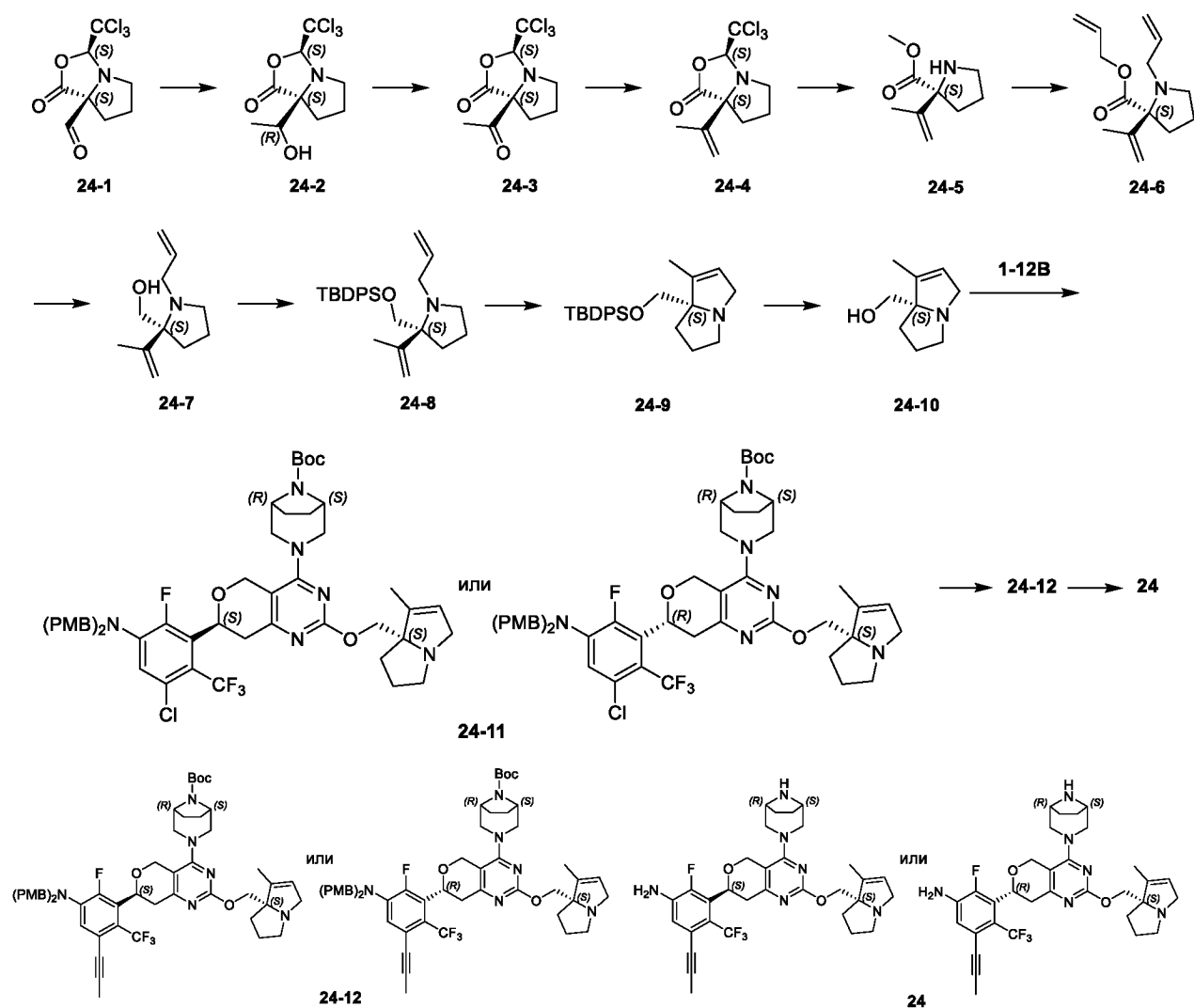
[00705] Стадия 7: Синтез интермедиата 23-8

[00706] Соединение **23-7** (130 мг, 138 мкмоль) растворяли в безводном толуоле (1 мл) и добавляли 1-пропинилтри-*n*-бутилолово (182 мг, 555 мкмоль) и дихлорбис[ди-трет-бутил- (4-диметиламинофенил)фосфин]палладий(II) (9.84 мг, 13.9 мкмоль). Воздух в реакционной колбе заменяли три раза на азот. Смесь оставляли перемешиваться при 130 °С в течение 4 часов в атмосфере азота. Реакционный раствор охлаждали и упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом тонкослойной хроматографии (дихлорметан: метанол = 10:1), получая соединение **23-8**. MS $m/z = 939.4 [M+H]^+$.

[00707] Стадия 8: Синтез трифторацетата соединения 23

[00708] Соединение **23-8** (100 мг, 106 мкмоль) растворяли в дихлорметане (1.0 мл) и добавляли трифторуксусную кислоту (182 мг, 1.60 ммоль). Смесь оставляли перемешиваться при 25°С в течение 0.5 часа. Реакционный раствор упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (колонка: Phenomenex luna C18 150*25мм*10мкм; подвижная фаза: [вода (0.075% трифторуксусная кислота)-ацетонитрил]; ацетонитрил: 10%-40% в течение 9 минут) и подвергали лиофильной сушке, получая трифторацетат соединения **23**. MS $m/z = 599.3 [M+H]^+$. ¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD) 6.92 (д, $J = 8.4$ Гц, 1H), 6.00 (д, $J = 6.4$ Гц, 1H), 5.87 (тд, $J = 2.4, 6.4$ Гц, 1H), 5.18 (дд, $J = 4.4, 11.2$ Гц, 1H), 4.88 - 4.85 (м, 1H), 4.76 - 4.70 (м, 2H), 4.61 - 4.52 (м, 2H), 4.36 - 4.28 (м, 1H), 4.20 - 4.11 (м, 2H), 4.04 (ушир.д, $J = 16.0$ Гц, 1H), 3.85 - 3.74 (м, 2H), 3.66 (ушир.д, $J = 13.6$ Гц, 1H), 3.35 (ушир.д, $J = 6.4$ Гц, 2H), 3.29 - 3.24 (м, 1H), 2.92 (ушир дд, $J = 3.6, 18.0$ Гц, 1H), 2.31 - 2.09 (м, 7H), 2.04 - 1.95 (м, 4H).

[00709] Пример 24



[00710] Стадия 1: Синтез интермедиата 24-2

[00711] Соединение **24-1** (54 г, 198 ммоль) растворяли в безводном ТГФ (450 мл). Смесь охлаждали до -78°C и добавляли по каплям метилмагний бромид (3 М, 79.2 мл). Смесь оставляли перемешиваться при -78°C в течение 0.5 часа и затем перемешивали при комнатной температуре в течение 12 часов. Реакционный раствор гасили добавлением 200 мл соляной кислоты (1М). Смесь экстрагировали этилацетатом (200 мл) три раза. Органическую фазу промывали насыщенным раствором хлорида натрия (100 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 5:1), получая соединение **24-2**. MS $m/z = 288.0 [M+1]^+$.

[00712] Стадия 2: Синтез интермедиата 24-3

[00713] Соединение **24-2** (38 г, 131 ммоль) растворяли в безводном ДХМ (380 мл). Добавляли окислитель Десс-Мартина (111 г, 263 ммоль, 81.6 мл). Смесь оставляли

перемешиваться при комнатной температуре в течение 4 часов. 200 мл воды выливали в реакционный раствор. Смесь экстрагировали этилацетатом (200 мл) 3 раза. Органическую фазу промывали насыщенным раствором хлорида натрия (100 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 5:1), получая соединение **24-3**. MS m/z = 285.9 $[M+1]^+$.

[00714] Стадия 3: Синтез интермедиата 24-4

[00715] Метилтрифенилфосфин бромид (8.42 г, 23.5 ммоль) растворяли в безводном тетрагидрофуране (45 мл). Смесь охлаждали до -78°C . Добавляли по каплям *n*-бутиллитий (2.5 М, 9.42 мл). Смесь оставляли перемешиваться при 0°C в течение 2 часов. Затем смесь охлаждали до -78°C . Добавляли по каплям **24-3** (4.5 г, 15.7 ммоль), растворенный в ТГФ (20 мл). Смесь оставляли перемешиваться при комнатной температуре на 10 часов. Выливали в реакционный раствор 100 мл водного раствора HCl (1М), и смесь экстрагировали этилацетатом (100 мл) три раза. Органическую фазу промывали насыщенным раствором хлорида натрия (100 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 10:1), получая соединение **24-4**.

[00716] Стадия 4: Синтез гидрохлорида интермедиата 24-5

[00717] Соединение **24-4** (5.5 г, 19.3 ммоль) растворяли в метанольном растворе хлороводорода (4М, 61.1 мл). Смесь оставляли перемешиваться при комнатной температуре в течение 12 часов. Реакционный раствор упаривали при пониженном давлении, получая гидрохлорид соединения **24-5**. MS m/z = 170.1 $[M+1]^+$.

[00718] Стадия 5: Синтез интермедиата 24-6

[00719] Гидрохлорид соединения **24-5** (4.5 г) растворяли в ДМФА (40 мл) и добавляли карбонат калия (14.7 г, 106 ммоль) и аллилбромид (3.86 г, 31.9 ммоль). Смесь оставляли перемешиваться при комнатной температуре на 1.5 часа. 100 мл воды выливали в реакционный раствор, и смесь экстрагировали этилацетатом (200 мл) три раза. Органическую фазу промывали насыщенным раствором хлорида натрия (100 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали при пониженном

давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 10:1), получая соединение **24-6**.

[00720] Стадия 6: Синтез интермедиата 24-7

[00721] Соединение **24-6** (2.5 г, 11.9 ммоль) растворяли в безводном тетрагидрофуране (20.0 мл) и добавляли литийалюминийгидрид (2.5 M, 6.32 мл) при 0°C. Смесь оставляли перемешиваться при комнатной температуре в течение 1 часа. В реакционный раствор добавляли 0.6 мл воды, 0.6 мл 15%-ного водного раствора гидроксида натрия и наконец 1.8 мл воды. Смесь сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и упаривали при пониженном давлении, получая сырое соединение **24-7**. MS $m/z = 182.1 [M+H]^+$.

[00722] Стадия 7: Синтез интермедиата 24-8

[00723] Соединение **24-7** (2.3 г) растворяли в безводном дихлорметане (23.0 мл). Добавляли имидазол (3.46 г, 50.7 ммоль), 4-диметиламинопиридин (155 мг, 1.27 ммоль), и затем трет-бутилдифенилсилил хлорид (6.97 г, 25.3 ммоль) при 0°C. Смесь оставляли перемешиваться при комнатной температуре в течение 12 часов. 50 мл воды выливали в реакционный раствор. Смесь экстрагировали этилацетатом (100 мл) три раза. Органическую фазу промывали насыщенным раствором хлорида натрия (10 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 10:1), получая соединение **24-8**. MS $m/z = 420.3 [M+H]^+$.

[00724] Стадия 8: Синтез интермедиата 24-9

[00725] Соединение **24-8** (2.5 г, 5.96 ммоль) растворяли в безводном толуоле (50 мл) и добавляли катализатор Граббса (1.01 г, 1.19 ммоль). Смесь оставляли перемешиваться при 120°C в течение 12 часов. Реакционный раствор упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (дихлорметан: метанол = 20:1), получая соединение **24-9**. MS $m/z = 392.2 [M+H]^+$.

[00726] Стадия 9: Синтез интермедиата 24-10

[00727] Соединение **24-9** (1.00 г, 2.55 ммоль) растворяли в безводном диоксане

(6.0 мл) и добавляли соляную кислоту (12 М, 212 мкл). Смесь оставляли перемешиваться при 95°C в течение 12 часов. Добавляли в реакционный раствор 10 мл воды. Смесь экстрагировали этилацетатом (20 мл * 3). Водную фазу подвергали лиофильной сушке, получая сырое соединение **24-10**.

[00728] Стадия 10: Синтез интермедиата 24-11

[00729] Соединение **24-10** (92.6 мг) растворяли в безводном толуоле (3 мл). Добавляли трет-бутоксид натрия (101 мг, 1.06 ммоль) и соединение **1-12В** (130 мг, 151 мкмоль). Смесь оставляли перемешиваться при 95°C в течение 12 часов. Реакционный раствор упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (дихлорметан: метанол = 10:1), получая соединение **24-11**.

[00730] Стадия 11: Синтез интермедиата 24-12

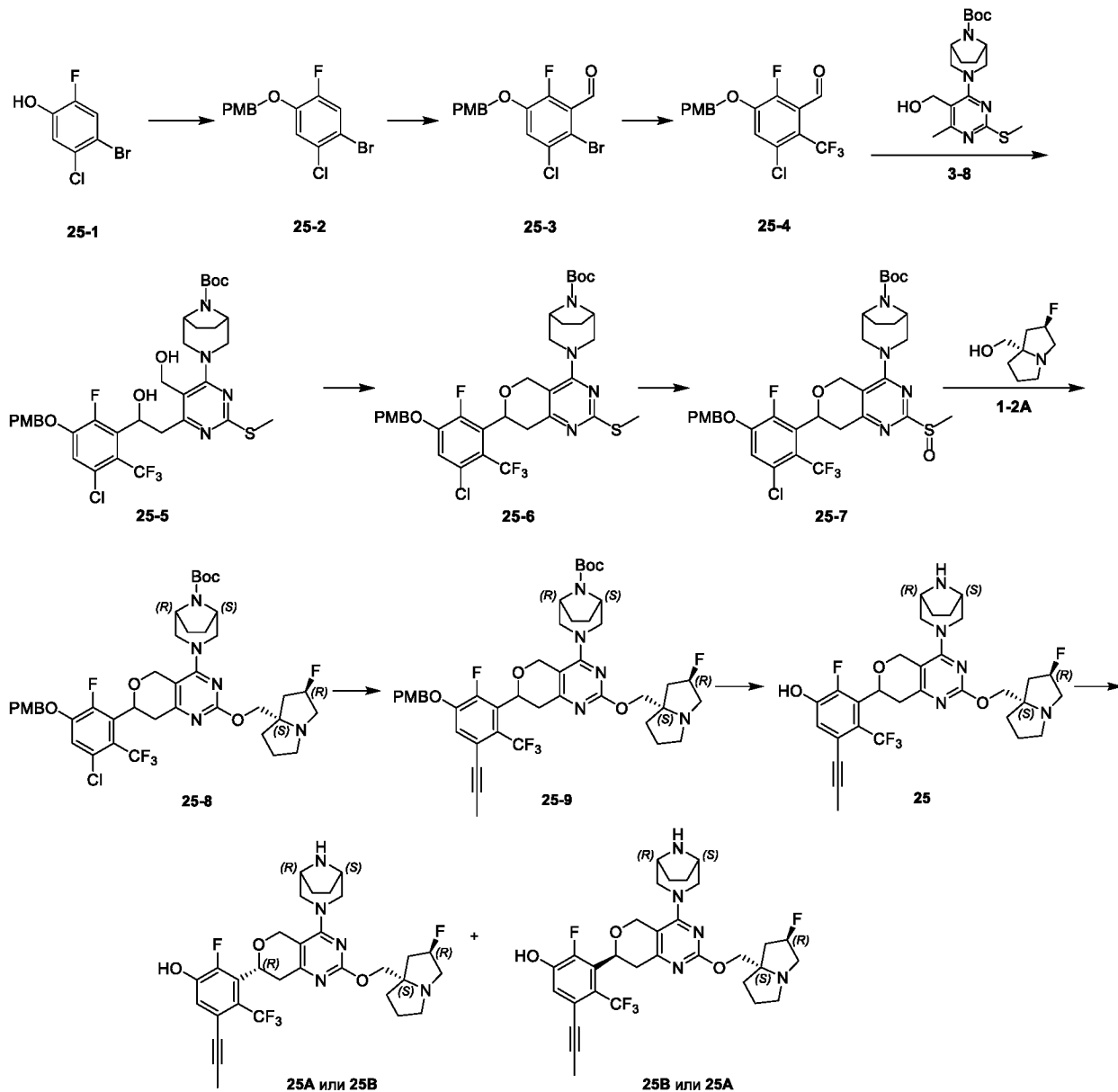
[00731] Соединение **24-11** (89 мг, 93.7 мкмоль) растворяли в безводном толуоле (1 мл) и добавляли 1-пропинилтри-*n*-бутилолово (123 мг, 374 мкмоль) и дихлорбис[ди-трет-бутил- (4-диметиламинофенил)фосфин]палладий (II) (6.64 мг, 9.37 мкмоль). Воздух в реакционной колбе заменяли три раза на азот. Смесь оставляли перемешиваться при 130°C в атмосфере азота на 0.5 часа. Реакционный раствор охлаждали и упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом тонкослойной хроматографии (дихлорметан: метанол = 10:1), получая соединение **24-12**.

[00732] Стадия 12: Синтез трифторацетата соединения 24

[00733] Соединение **24-12** (90 мг, 94.4 мкмоль) растворяли в дихлорметане (1.0 мл) и добавляли трифторуксусную кислоту (161 мг, 1.42 ммоль). Смесь оставляли перемешиваться при 25°C в течение 1.5 часов. Реакционный раствор упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (колонка: Phenomenex luna C18 150*25мм*10мкм; подвижная фаза: [вода (0.075% трифторуксусная кислота)-ацетонитрил]; ацетонитрил: 20%-50% в течение 7 мин) и подвергали лиофильной сушке, получая трифторацетат соединения **24**. MS $m/z = 613.2 [M+H]^+$. ¹H ЯМР (400 МГц, метанол-*d*₄) 6.92 (д, $J = 8.2$ Гц, 1H), 5.61 (д, $J = 1.4$ Гц, 1H), 5.18 (ушир дд, $J = 4.4, 11.6$ Гц, 1H), 4.91 - 4.89 (м, 2H), 4.86 - 4.82 (м, 1H), 4.80 - 4.70 (м, 2H), 4.51 - 4.41 (м, 2H), 4.29

(ушир.д, $J = 14.0$ Гц, 1H), 4.19 - 4.10 (м, 2H), 3.91 (ушир.д, $J = 15.2$ Гц, 1H), 3.85 - 3.74 (м, 2H), 3.63 (ушир.д, $J = 14.4$ Гц, 1H), 3.27 (ушир.д, $J = 5.2$ Гц, 2H), 2.95 (ушир.д, $J = 1.2$ Гц, 1H), 2.28 - 2.08 (м, 7H), 2.02 (с, 3H), 1.83 (д, $J = 1.6$ Гц, 3H).

[00734] Пример 25



[00735] Стадия 1: Синтез интермедиата 25-2

[00736] Соединение 25-1 (9.80 г, 43.5 ммоль) растворяли в безводном ДМФА (98 мл) и затем добавляли п-метоксибензилхлорид (8.17 г, 52.2 ммоль), иодид калия (7.22 г, 43.5 ммоль) и карбонат калия (15.0 г, 109 ммоль). Смесь оставляли перемешиваться при 50 °С в течение 12 часов. 50.0 мл воды выливали в реакционный раствор, и смесь экстрагировали этилацетатом (150 мл). Органическую фазу промывали насыщенным раствором хлорида натрия (100 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и

фильтровали. Фильтрат упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 10:1), получая соединение **25-2**. MS $m/z = 345.6 [M+H]^+$.

[00737] Стадия 2: Синтез интермедиата 25-3

[00738] 2,2,6,6-тетраметилпиперидин (21.3 г, 150 ммоль) растворяли в тетрагидрофуране (130 мл), и воздух в реакционной колбе заменяли три раза на азот. Смесь охлаждали до -5°C , добавляли по каплям *n*-бутиллитий (2.50 М, 60.2 мл) и перемешивали в течение 0.5 часа. Затем смесь охлаждали до -60°C и добавляли соединение **25-2** (13.0 г, 37.6 ммоль). Смесь перемешивали в течение 0.5 часа. Затем добавляли ДМФА (55.0 г, 752 ммоль) при -60°C , и смесь перемешивали в течение 0.5 часа. Реакцию гасили добавлением 200 мл насыщенного раствора хлорида аммония при 0°C . Смесь экстрагировали этилацетатом (300 мл). Органическую фазу промывали насыщенным раствором хлорида натрия (300 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 50:1), получая соединение **25-3**. MS $m/z = 373.28 [M+H]^+$.

[00739] Стадия 3: Синтез интермедиата 25-4

[00740] Соединение **25-3** (4.9 г, 13.12 ммоль), иодид меди (5.00 г, 26.23 ммоль) и метил 2,2-дифтор-2-фторсульфонилацетат (9.57 г, 49.84 ммоль) растворяли в ДМФА (50 мл). Воздух в реакционной колбе заменяли 3 раза на азот. Смесь оставляли перемешиваться при 110°C в течение 2.5 часов. Реакционный раствор охлаждали и фильтровали через слой целита. Воду (100 мл) добавляли в органическую фазу. Смесь экстрагировали один раз этилацетатом (100 мл). Органическую фазу промывали насыщенным раствором хлорида натрия (100 мл) 6 раз, сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 20:1), получая соединение **25-4**. ^1H ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц) 10.29 (кв, $J = 4.25$ Гц, 1 H), 7.35 (д, $J = 8.63$ Гц, 2 H), 7.21 (д, $J = 7.25$ Гц, 1 H), 7.00 - 6.90 (м, 2 H), 5.14 (с, 2 H), 3.84 (с, 3 H).

[00741] Стадия 4: Синтез интермедиата 25-5

[00742] 2,2,6,6-тетраметилпиперидин (3.68 г, 26.02 ммоль, 4.42 мл) растворяли в ТГФ (30 мл). Воздух в реакционной колбе 3 раза заменяли на азот. Смесь охлаждали до -40°C и медленно добавляли по каплям н-бутиллитий (2.5 М, 10.06 мл). Смесь оставляли перемешиваться при -40°C в течение 0.5 часа. Реакционную смесь охлаждали до -60°C . Затем медленно добавляли по каплям раствор **3-8** (3.3 г, 8.67 ммоль) в ТГФ (10 мл). Смесь нагревали до -40°C и перемешивали 15 минут. В полученную смесь порциями добавляли соединение **25-4** (3.77 г, 10.41 ммоль) и перемешивали при комнатной температуре 2 часа. Реакцию гасили добавлением насыщенного водного раствора хлорида аммония (50 мл), и смесь экстрагировали два раза этилацетатом (50 мл). Органическую фазу промывали два раза насыщенным раствором хлорида натрия (100 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Добавляли к сырому продукту смесь петролейного эфира и этилацетата (20 мл) (петролейный эфир: этилацетат = 5:1), и полученную смесь перемешивали в течение 12 часов. Отделяли твердый осадок фильтрованием, получая соединение **25-5**.

[00743] Стадия 5: Синтез интермедиата 25-6

[00744] Соединение **25-5** (2.7 г, 3.63 ммоль) и трибутилцианометиленфосфат (1.75 г, 7.27 ммоль) растворяли в толуоле (27 мл). Воздух в реакционной колбе заменяли на азот. Смесь оставляли перемешиваться при 110°C в течение 12 часов. Выливали в реакционный раствор 50 мл водного раствора хлорида аммония, и смесь экстрагировали два раза этилацетатом (50 мл). Органическую фазу промывали два раза насыщенным раствором хлорида натрия (100 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 10:1), получая соединение **25-6**. MS $m/z = 725.3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[00745] Стадия 6: Синтез интермедиата 25-7

[00746] Соединение **25-6** (1.5 г, 2.07 ммоль) растворяли в безводном ДХМ (15.0 мл) и добавляли порциями м-хлорпербензойную кислоту (461.92 мг, 2.28 ммоль, 85% чистота) при 0°C . Смесь оставляли перемешиваться при комнатной температуре на ночь. Реакционный раствор очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 1:1), получая соединение **25-7**. MS $m/z = 741.3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[00747] Стадия 7: Синтез интермедиата 25-8

[00748] Соединение **25-7** (1.9 г, 2.56 ммоль) растворяли в безводном толуоле (19 мл) и добавляли соединение **1-2A** (816.20 мг, 5.13 ммоль), трет-бутоксид натрия (985.42 мг, 10.25 ммоль) и 4A молекулярные сита (1 г). Воздух в реакционной колбе заменяли на азот. Смесь оставляли перемешиваться при 100 °С в течение 12 часов. Реакционный раствор упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 1:1), получая соединение **25-8**. MS m/z = 836.5 [M+H]⁺.

[00749] Стадия 8: Синтез интермедиата 25-9

[00750] Соединение **25-8** (1.50 г, 1.79 ммоль) растворяли в безводном толуоле (15 мл) и добавляли 1-пропинилтри-н-бутилолово (2.36 г, 7.17 ммоль) и дихлорбис[ди-трет-бутил- (4-диметиламинофенил)фосфин]палладий (II) (381.01 мг, 538.09 мкмоль). Воздух в реакционной колбе заменяли три раза на азот. Смесь оставляли перемешиваться при 110°С в атмосфере азота в течение 12 часов. Реакционный раствор охлаждали и упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 1:1), получая соединение **25-9**. MS m/z = 840.3 [M+H]⁺.

[00751] Стадия 9: Синтез соединения 25

[00752] Соединение **25-9** (1.27 г, 1.51 ммоль) растворяли в дихлорметане (13 мл) и добавляли трифторуксусную кислоту (3.99 г, 35.00 ммоль). Смесь оставляли перемешиваться при 20°С в течение 3 часов. Реакционный раствор доводили до pH 7 добавлением насыщенного раствора бикарбоната натрия. Смесь упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (колонка: Kromasil Eternity XT 250*80мм*10мкм; подвижная фаза: [вода (0.1% водный аммиак)-ацетонитрил]; ацетонитрил: 10%-40% в течение 20 мин) и подвергали лиофильной сушке, получая соединение **25**. MS m/z = 620.4 [M+H]⁺.

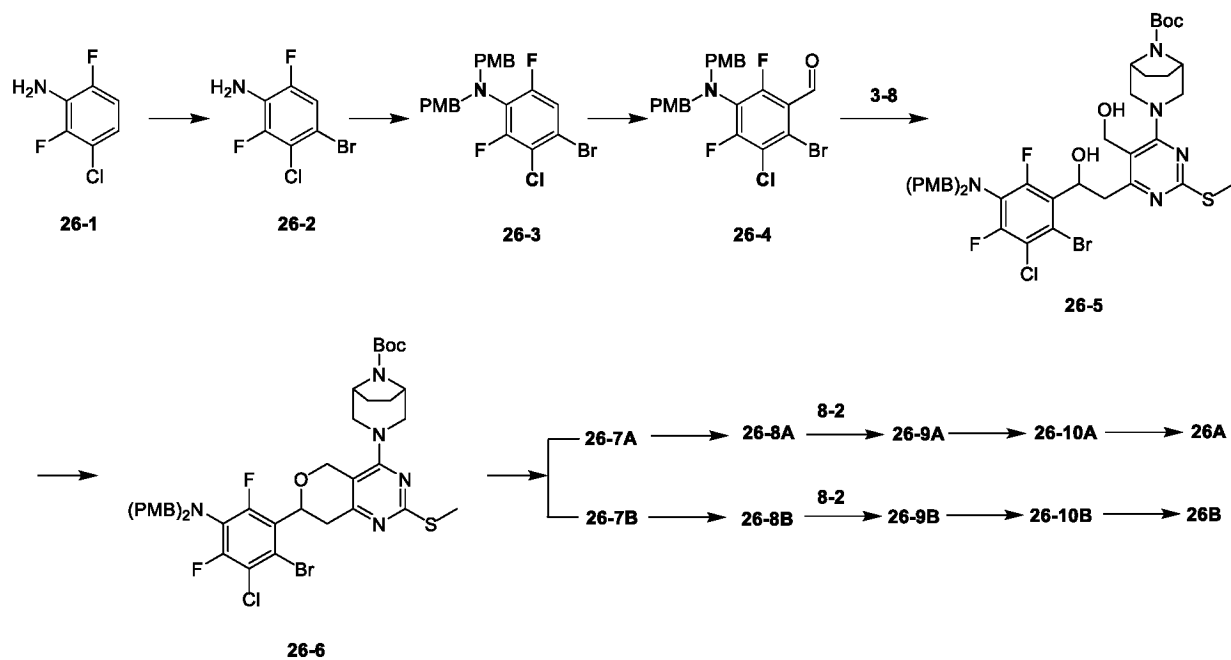
[00753] Стадия 10: Синтез соединений 25A и 25B

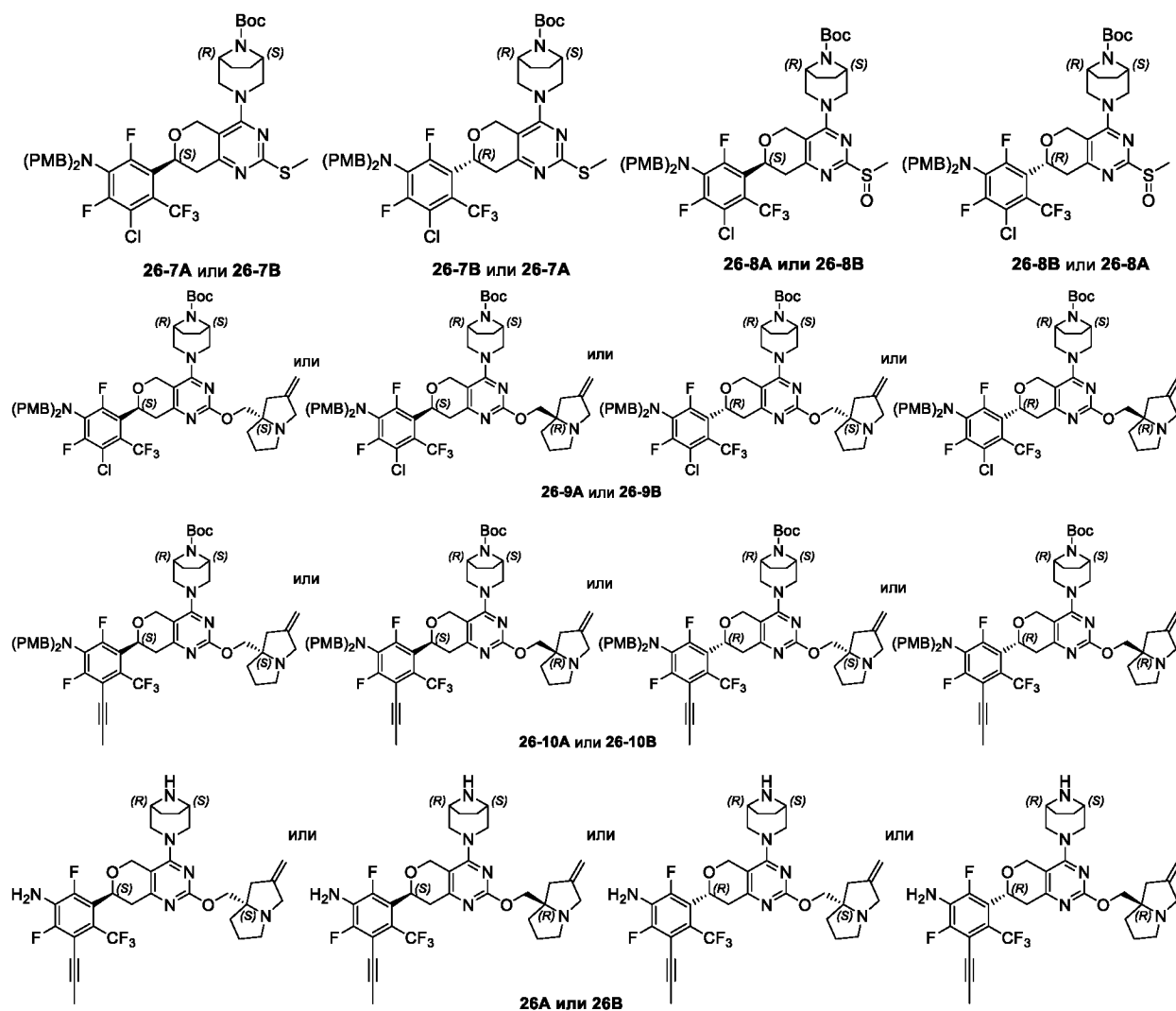
[00754] Соединение **25** очищали методом сверхкритической флюидной хроматографии (колонка: DAICEL CHIRALPAK IC (250мм*3мм, 10мкм); подвижная фаза: [сверхкритический CO₂-этанол (0.1 % аммиак)]; Этанол (0.1% водный аммиак) %: 50% - 50%), получая соединение **25A** и соединение **25B**.

[00755] Соединение **25A**, анализ методом сверхкритической флюидной хроматографии (хроматографическая колонка: Chiral Pak IC-3 (100мм*4.6мм, 3мкм); подвижная фаза: [сверхкритический CO₂-этанол (0.05% диэтиламин)]; (этанол (0.05% диэтиламин))%: 40%- 40%), Rt = 0.695 мин, значение ee = 99%, MS m/z = 620.2 [M+H]⁺; ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц) δ 7.07 (д, J = 8.13 Гц, 1 H), 5.30 - 5.04 (м, 2 H), 4.78 - 4.59 (м, 2 H), 4.13 - 3.89 (м, 3 H), 3.56 (ушир.с, 2 H), 3.45 - 2.77 (м, 12 H), 2.29 - 2.05 (м, 3 H), 2.01 - 1.57 (м, 8 H).

[00756] Соединение **25B**, анализ методом сверхкритической флюидной хроматографии (хроматографическая колонка: Chiral Pak IC-3 (100мм*4.6мм, 3мкм); подвижная фаза: [сверхкритический CO₂-этанол (0.05% диэтиламин)]; (этанол (0.05% диэтиламин))%: 40%- 40%), Rt = 1.229 минут, значение ee = 99%, MS m/z = 620.2 [M+H]⁺. ¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц) 9.44 - 8.91 (м, 2 H), 7.12 (ушир.д, J = 8.25 Гц, 1 H), 5.68 - 5.45 (м, 1 H), 5.12 (ушир дд, J = 10.88, 3.75 Гц, 1 H), 4.95 - 4.63 (м, 2 H), 4.45 (с, 2 H), 4.31 - 4.01 (м, 3 H), 3.95 - 3.51 (м, 6 H), 3.39 - 3.09 (м, 3 H), 2.99 - 2.81 (м, 1 H), 2.54 (ушир.д, J = 4.38 Гц, 1 H), 2.44 (ушир.с, 1 H), 2.35 - 2.24 (м, 1 H), 2.23 - 2.06 (м, 4 H), 1.99 - 1.87 (м, 2 H), 1.87 - 1.72 (м, 1 H).

[00757] Пример 26





[00758] Стадия 1: Синтез интермедиата 26-2

[00759] Соединение **26-1** (5.00 г, 30.6 ммоль) растворяли в безводном дихлорметане (50.0 мл) и добавляли NBS (6.53 г, 36.7 ммоль). Смесь оставляли перемешиваться при комнатной температуре в течение 1 часа. Добавляли в реакционный раствор 50.0 мл воды. Смесь экстрагировали дихлорметаном (150 мл). Органическую фазу промывали насыщенным раствором хлорида натрия (150 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 20:1), получая соединение **26-2**. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ м.д. 7.14 (дд, *J* = 9.88, 2.25 Гц, 1 H) 3.60 - 4.02 (м, 2 H).

[00760] Стадия 2: Синтез интермедиата 26-3

[00761] Соединение **26-2** (5.60 г, 23.1 ммоль) и *p*-метоксибензил хлорид (8.68 г, 55.4 ммоль) растворяли в безводном ДМФА (56.0 мл) и добавляли иодид калия (3.83 г, 23.1 ммоль) и карбонат калия (7.98 г, 57.7 ммоль). Смесь оставляли перемешиваться при 80°C в

течение 2 часов. Выливали в реакционный раствор 100 мл воды, и полученную смесь экстрагировали этилацетатом (150 мл). Органическую фазу промывали насыщенным раствором хлорида натрия (100 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 20:1), получая соединение **26-3**. ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ м.д. 7.20 (д, $J = 8.50$ Гц, 4 Н) 7.09 (дд, $J = 10.38, 2.13$ Гц, 1 Н) 6.83 (д, $J = 8.63$ Гц, 4 Н) 4.16 (с, 4 Н) 3.80 (с, 6 Н).

[00762] Стадия 3: Синтез интермедиата 26-4

[00763] 2,2,6,6-тетраметилпиперидин (10.3 г, 73.2 ммоль, 12.4 мл) растворяли в тетрагидрофуране (90.0 мл). Воздух в реакционной колбе заменяли три раза на азот. Смесь охлаждали до -5°C и добавляли по каплям *n*-бутиллитий (2.50 М, 29.3 мл). Смесь перемешивали в течение 0.5 часа. Смесь охлаждали до -60°C и добавляли соединение **26-4** (9.20 г, 18.3 ммоль). Смесь перемешивали в течение 1 часа. Затем добавляли ДМФА (26.8 г, 366 ммоль) при -60°C . Смесь перемешивали еще 0.5 часа. Добавляли 100 мл насыщенного раствора хлорида аммония при 0°C . Смесь экстрагировали этилацетатом (300 мл). Органическую фазу промывали насыщенным раствором хлорида натрия (300 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 30:1), получая соединение **26-4**. MS $m/z = 510.8$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[00764] Стадия 4: Синтез интермедиата 26-5

[00765] 2,2,6,6-тетраметилпиперидин (3.56 г, 25.2 ммоль, 4.28 мл) растворяли в тетрагидрофуране (50.0 мл). Воздух в реакционной колбе заменяли три раза на азот. Смесь охлаждали до -40°C и добавляли по каплям *n*-бутиллитий (2.5 М, 9.76 мл). Смесь перемешивали в течение 0.5 часа. Смесь затем охлаждали до -60°C и добавляли соединение **3-8** (3.20 г, 8.41 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 15 минут. Затем добавляли соединение **26-4** (5.37 г, 10.1 ммоль) при -60°C . Смесь перемешивали при комнатной температуре еще 0.5 часа. Добавляли 100 мл насыщенного раствора хлорида аммония при 25°C . Смесь экстрагировали этилацетатом (300 мл). Органическую фазу промывали насыщенным раствором хлорида натрия (300 мл), сушили над безводным

сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (колонка: Phenomenex luna C18 (250*70мм, 10 мкм); подвижная фаза: [вода (0.075% трифторуксусная кислота)-ацетонитрил]; ацетонитрил: 80%-100% в течение 20 мин) и подвергали лиофильной сушке, получая соединение **26-5**.

[00766] Стадия 5: Синтез интермедиата 26-6

[00767] Соединение **26-5** (2.20 г, 2.47 ммоль) и трибутилцианометиленфосфат (1.19 г, 4.94 ммоль) растворяли в безводном толуоле (20.0 мл). Смесь оставляли перемешиваться при 110°C в течение 12 часов в атмосфере азота. Реакционный раствор упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 5:1), получая соединение **26-6**.

[00768] Стадия 6: Синтез интермедиатов 26-7А и 26-7В

[00769] Соединение **26-6** (1.10 г, 1.26 ммоль) и метилфторсульфонил дифторацетат (919.60 мг, 4.79 ммоль) растворяли в безводном ДМФА (10.0 мл), затем добавляли иодид меди (480 мг, 2.52 ммоль). Смесь оставляли перемешиваться при 110°C в течение 2.5 часов. Добавляли 50.0 мл воды при 25°C, и смесь экстрагировали этилацетатом (150 мл). Органическую фазу промывали насыщенным раствором хлорида натрия (150 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 5:1), получая соединение **26-7**, которое затем очищали методом SFC (Хиральная колонка: DAICEL CHIRALCEL OD (250мм*30мм, 10мкм); подвижная фаза: сверхкритический CO₂-этанол (0.1% водный аммиак); этанол %: 40% - 40%), получая соединение **26-7А** и соединение **26-7В**. Анализ методом сверхкритической флюидной хроматографии (хроматографическая колонка: (S,S)Whelk-O1 50*4.6мм ID, 3.5мкм; подвижная фаза: [сверхкритический CO₂-этанол (0.05% диэтиламин)]; (этанол (0.05% диэтиламин))%: 50%-50%), соединение **26-7А**, Rt = 1.791 минут, значение ee = 99%, MS m/z = 862.3 [M+H]⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD) δ м.д. 7.15 (д, J = 8.50 Гц, 4 H), 6.85 (д, J = 8.63 Гц, 4 H), 5.21 - 5.09 (м, 1 H), 4.70 (с, 2 H), 4.21 (с, 6 H), 3.81 (с, 6 H), 3.57 - 2.97 (м, 5 H), 2.54 (с, 3 H), 1.96 (ушир.с, 3 H), 1.66 (ушир.д, J =

5.88 Гц, 1 Н), 1.50 (с, 10 Н). Соединение **26-7В**, $R_t = 2.166$ мин, значение $ee = 99\%$, MS $m/z = 862.3 [M+H]^+$.

[00770] Стадия 7: Синтез интермедиатов 26-8А и 26-8В

[00771] Соединение **26-7А** (170 мг, 197 мкмоль) растворяли в безводном дихлорметане (2.00 мл) и добавляли м-хлорпербензойную кислоту (44.0 мг, 217 мкмоль, 85% чистота). Смесь оставляли перемешиваться при комнатной температуре на 2 часа. Смесь экстрагировали дихлорметаном (60.0 мл). Органическую фазу промывали насыщенным раствором хлорида натрия (60.0 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии (петролейный эфир: этилацетат = 2:1), получая соединение **26-8А**. MS $m/z = 878.2 [M+H]^+$.

[00772] Согласно стадии 7, соединение **26-8В** было получено с использованием **26-7В** как исходного вещества. MS $m/z = 878.2 [M+H]^+$

[00773] Стадия 8: Синтез интермедиатов 26-9А и 26-9В в виде формиатов

[00774] Соединение **26-8А** (150 мг, 171 мкмоль) растворяли в безводном толуоле (2.00 мл). Добавляли трет-бутоксид натрия (131 мг, 1.37 ммоль), соединение **8-2** (52.3 мг, 342 мкмоль) и молекулярные сита (70.0 мг). Смесь оставляли перемешиваться при 100°C в течение 12 часов. Выливали в реакционный раствор 60.0 мл насыщенного водного раствора хлорида аммония. Смесь экстрагировали этилацетатом (50.0 мл). Органическую фазу промывали насыщенным раствором хлорида натрия (60.0 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (колонка: Phenomenex luna C18 150*25мм*10мкм; подвижная фаза: [вода (0.225% муравьиная кислота)-ацетонитрил]; ацетонитрил: 40%-70%) и подвергали лиофильной сушке, получая формиат соединения **26-9А**. MS $m/z = 967.3 [M+H]^+$.

[00775] Согласно стадии 8 формиат соединения **26-9В** был получено с использованием **26-8В** как исходного вещества. MS $m/z = 967.3 [M+H]^+$.

[00776] Стадия 9: Синтез интермедиатов 26-10А и 26-10В

[00777] Формиат соединения **26-9А** (20.0 мг) растворяли в безводном толуоле (1.00 мл) и добавляли 1-пропинилтри-н-бутилолово (27.2 мг, 82.7 мкмоль) и

дихлорбис[ди-трет-бутил-(4-диметиламинофенил)фосфин]палладий (II) (4.39 мг, 6.20 мкмоль). Воздух в реакционной колбе заменяли три раза на азот. Смесь оставляли перемешиваться при 110°C в течение 12 часов в атмосфере азота. Смесь упаривали при пониженном давлении для удаления толуола. Добавляли 2.00 мл этилацетата. Остаток очищали методом препаративной жидкостной хроматографии, получая соединение **26-10A**. MS $m/z = 971.3 [M+H]^+$.

[00778] Согласно стадии 9, соединение **26-10B** было получено с использованием формиата **26-9B** как исходного вещества. MS $m/z = 971.3 [M+H]^+$.

[00779] Стадия 10: Синтез соединений 26A и 26B в виде трифторацетата

[00780] Соединение **26-10A** (40.0 мг, 41.2 мкмоль) растворяли в дихлорметане (1.00 мл) и добавляли трифторуксусную кислоту (307 мг, 2.69 ммоль). Смесь оставляли перемешиваться при 25°C в течение 12 часов. Добавляли в реакционный раствор 3.00 мл насыщенного раствора карбоната натрия. Смесь упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (колонка: Phenomenex Luna C18 150*25мм*10мкм; подвижная фаза: [вода (0.075% трифторуксусная кислота)-ацетонитрил]; ацетонитрил: 15%-45%) и подвергали лиофильной сушке, получая трифторацетат **26A**. MS $m/z = 631.3 [M+H]^+$. ¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD) δ м.д. 5.31 (ушир.д, $J = 7.88$ Гц, 3 H), 4.84 - 4.83 (м, 2 H), 4.77 - 4.71 (м, 1 H), 4.58 (ушир.с, 2 H), 4.43 - 4.31 (м, 2 H), 4.23 - 4.13 (м, 2 H), 3.98 - 3.64 (м, 4 H), 3.36 (ушир.с, 1 H), 3.25 (ушир.д, $J = 2.88$ Гц, 1 H), 3.09 - 2.91 (м, 2 H), 2.79 (ушир.д, $J = 16.01$ Гц, 1 H), 2.44 - 2.34 (м, 1 H), 2.32 - 2.20 (м, 4 H), 2.18 - 2.05 (м, 5 H), 2.02 - 1.90 (м, 1 H).

[00781] Соединение **26-10B** (46.0 мг, 47.4 мкмоль) растворяли в дихлорметане (1.00 мл) и добавляли трифторуксусную кислоту (307 мг, 2.69 ммоль). Смесь оставляли перемешиваться при 25°C в течение 12 часов. Реакционный раствор упаривали при пониженном давлении, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт очищали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (колонка: Phenomenex Luna C18 150*25мм*10мкм; подвижная фаза: [вода (0.075% трифторуксусная кислота)-ацетонитрил]; ацетонитрил: 15%-45%) и подвергали лиофильной сушке, получая трифторацетат **26B**. MS $m/z = 631.3 [M+H]^+$. ¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD) δ м.д. 5.34 - 5.16 (м, 3 H), 4.88 (ушир.с, 2 H), 4.77 - 4.71 (м, 1 H), 4.56 (с, 2 H), 4.34 (ушир.д, $J = 14.26$ Гц, 2 H), 4.20 - 4.10 (м, 2 H),

3.92 (ушир.д, $J = 14.63$ Гц, 1 Н), 3.86 - 3.63 (м, 3 Н), 3.27 - 3.21 (м, 1 Н), 3.08 - 2.89 (м, 3 Н), 2.79 (ушир.д, $J = 15.76$ Гц, 1 Н), 2.36 (ушир дд, $J = 11.88, 6.38$ Гц, 1 Н), 2.30 - 2.10 (м, 7 Н), 2.09 (с, 3 Н).

Биологические тесты

[00782] Пример теста 1. Тестирование ингибирования p-ERK в клетках GP2D

[00783] 1. Цель

[00784] Проводили скрининг методом конкурентного HTRF-анализа с целью найти соединения, которые могут эффективно ингибировать p-ERK в KRAS^{G12D} мутантных клетках GP2D.

[00785] 2. Процесс тестирования

[00786] 1) Клетки GP2D инокулировали в прозрачный 96-луночный планшет для культур клеток, и в каждой лунке содержалось 80мкл суспензии клеток и 8000 клеток. Планшет для культур клеток инкубировали в инкубаторе с содержанием диоксида углерода при 37°C в течение ночи;

[00787] 2) Отбирали 2 мкл соединения и добавляли в 78 мкл клеточной среды. После тщательного перемешивания полученной смеси отбирали 20 мкл раствора соединения и добавляли в соответствующую лунку планшета для культур клеток. Планшет для культур клеток снова помещали в инкубатор с содержанием диоксида углерода и инкубировали еще 1 час;

[00788] 3) После окончания инкубирования, клеточный супернатант отбрасывали. Добавляли в каждую лунку 50 мкл 1X клеточного лизата. Смесь инкубировали при встряхивании при комнатной температуре 30 минут;

[00789] 4) Phospho-ERK1/2 Eu Cryptate антитела и Phospho-ERK1/2 d2 антитела разводили в 20 раз буфером для детектирования;

[00790] 5) Отмеряли 16 мкл супернатанта клеточного лизата и добавляли в каждую лунку нового 384-луночного белого микропланшета, и затем добавляли 2 мкл разведенного раствора Phospho-ERK1/2 Eu Cryptate антител и 2 мкл разведенного раствора Phospho-ERK1/2 d2 антител. Смесь инкубировали при комнатной температуре по меньшей мере 4 часа;

[00791] 6) После окончания инкубирования считывали значения HTRF на многопротоковом анализаторе: возбуждение: 320нм, испускание: 615нм, 665нм;

[00792] 7). Вычисляли значение IC_{50} для тестируемых соединений.

[00793] **3 Результаты исследования**

[00794] Полученные результаты приведены в Таблице 5.

[00795] Таблица 5. Значения IC_{50} для соединения в ингибировании p-ERK в клетках GP2D

Соединение	GP2D p-ERK IC_{50} (нМ)
Соединение 1В	0.76

[00796] Заключение по результатам тестирования: Соединение по настоящему изобретению оказывает значительное ингибирующее действие на p-ERK в KRAS^{G12D} мутантных GP2D клетках.

[00797] **Пример теста 2. Тестирование ингибирования p-ERK в клетках AGS**

[00798] **1. Цель**

[00799] Проводили скрининг методом конкурентного HTRF-анализа с целью найти соединения, которые могут эффективно ингибировать p-ERK в KRAS^{G12D} мутантных клетках AGS.

[00800] **2. Процесс тестирования**

[00801] 1) Клетки AGS инокулировали в прозрачный 96-луночный планшет для культур клеток, и в каждой лунке содержалось 80мкл суспензии клеток и 10000 клеток. Планшет для культур клеток инкубировали в инкубаторе с содержанием диоксида углерода при 37°C в течение ночи;

[00802] 2) После окончания инкубирования отбрасывали клеточный супернатант. В каждую лунку добавляли 80 мкл среды, содержащей 0.02% плазмы крови. Планшет для культур клеток инкубировали в инкубаторе с содержанием диоксида углерода при 37°C в течение ночи;

[00803] 3) Отбирали 2 мкл соединения и добавляли в 78 мкл клеточной среды. После тщательного перемешивания полученной смеси отбирали 20 мкл раствора соединения и добавляли в соответствующую лунку планшета для культур клеток. Планшет для культур клеток снова помещали в инкубатор с содержанием диоксида углерода и инкубировали еще 3 часа;

[00804] 4) После окончания инкубирования отбрасывали клеточный супернатант. Добавляли в каждую лунку 50 мкл 1X клеточного лизата. Смесь инкубировали при

встряхивании при комнатной температуре 30 минут;

[00805] 5) Phospho-ERK1/2 Eu Cryptate антитела и Phospho-ERK1/2 d2 антитела разводили в 20 раз буфером для детектирования;

[00806] 6) Отмеряли 16 мкл супернатанта клеточного лизата и добавляли в каждую лунку нового 384-луночного белого микропланшета, и затем добавляли 2 мкл разведенного раствора Phospho-ERK1/2 Eu Cryptate антител и 2 мкл разведенного раствора Phospho-ERK1/2 d2 антител. Смесь инкубировали при комнатной температуре по меньшей мере 4 часа;

[00807] 7) После окончания инкубирования считывали значения HTRF на многопротокольном анализаторе: возбуждение: 320нм, испускание: 615нм, 665нм;

[00808] 8). Вычисляли значение IC_{50} для тестируемого соединения.

[00809] 3 Результаты исследования

[00810] Полученные результаты приведены в Таблице 6.

[00811] Таблица 6. Значения IC_{50} для соединения в ингибировании p-ERK в клетках AGS

Соединение	AGS p-ERK IC_{50} (нМ)
Соединение 3 гидрохлорид	64.6

[00812] Заключение по результатам тестирования: Соединение по настоящему изобретению оказывает значительное ингибирующее действие на p-ERK в KRAS^{G12D} мутантных клетках AGS.

[00813] Пример теста 3. Тестирование ингибирования p-ERK в клетках AsPC-1

[00814] 1. Цель

[00815] Проводили скрининг методом конкурентного HTRF-анализа с целью найти соединения, которые могут эффективно ингибировать p-ERK в KRAS^{G12D} мутантных клетках AsPC-1.

[00816] 2. Материалы для проведения тестирования:

[00817] Клетки ASPC-1 покупали у Procell; среду RPMI-1640 покупали у VivaCell; эмбриональную телячью сыворотку покупали у Biosera; и Advanced Phospho-ERK1/2 (THR202/TYR204) KIT покупали у Cisbio

[00818] Таблица 7. Состав набора Advanced Phospho-ERK1/2(THR202/TYR204)

КИТ

Название компонента	Температура хранения
Advanced PhosphoERK1/2 Eu Cryptate антитело	≤-16°C
Advanced PhosphoERK1/2 d2 антитело	≤-16°C
Блокирующий реагент (стоковый раствор 100X)	≤-16°C
Лизирующий буфер # 1 (стоковый раствор 4X)	≤-16°C
Буфер для детектирования (готовый к использованию)	≤-16°C

[00819] 3. Методика тестирования:

[00820] 6) Клетки ASPC-1 инокулировали в прозрачный 96-луночный планшет для культур клеток, и в каждой лунке содержалось 80мкл суспензии клеток и 8000 клеток. Планшет для культур клеток инкубировали в инкубаторе с содержанием диоксида углерода при 37°C в течение ночи;

[00821] 7) После окончания инкубирования отбрасывали клеточный супернатант. В каждую лунку добавляли 80 мкл контрольной клеточной среды RPMI-1640 и выдерживали голодной в течение ночи;

[00822] 8) Тестируемое соединение разводили до 2 мМ как первой концентрации в 100% ДМСО, и затем проводили серийные 5-кратные разведения до 8 концентраций с помощью пипетки, т.е. от 2 мМ до 25.6 нМ. Отбирали 2 мкл соединения и добавляли в 78 мкл голодной клеточной среды. После тщательного перемешивания полученной смеси отбирали 20 мкл раствора соединения и добавляли в соответствующую лунку планшета для культур клеток. Планшет для культур клеток снова помещали в инкубатор с содержанием диоксида углерода и инкубировали еще 1 час; в этот момент концентрация соединения составляла от 10 мкМ до 0.128 нМ, и концентрация ДМСО составляла 0.5%;

[00823] 9) После окончания инкубирования отбрасывали клеточный супернатант. Добавляли в каждую лунку 50 мкл клеточного лизата. Смесь инкубировали при встряхивании при комнатной температуре 30 минут;

[00824] 10) Phospho-ERK1/2 Eu Cryptate антитела и Phospho-ERK1/2 d2 антитела разводили в 20 раз буфером для детектирования;

[00825] 11) Отмеряли 16 мкл супернатанта клеточного лизата и добавляли в

каждую лунку нового 384-луночного белого микропланшета, и затем добавляли 2 мкл разведенного раствора Phospho-ERK1/2 Eu Cryptate антител и 2 мкл разведенного раствора Phospho-ERK1/2 d2 антител. Смесь инкубировали при комнатной температуре в течение 4 часов;

[00826] 12) После окончания инкубирования считывали значения HTRF на многопротоковом анализаторе: возбуждение: 320нм, испускание: 615нм, 665нм.

[00827] 4. Анализ полученных данных:

[00828] Использовали формулу **(Образец - Мин)/(Макс - Мин)*100%** для пересчета полученных данных в значение коэффициента ингибирования, и значение IC₅₀ можно получить построением кривой по четырем параметрам (режим "log(ингибитор) vs. ответ -- Переменный коэффициент наклона" в GraphPad Prism). В Таблице 8 приведены результаты исследования ингибирующего действия соединений по настоящему изобретению на p-ERK.

[00829] **Макс лунка:** Результат в лунке с положительным контролем – это результат в лунке с 1X лизатом.

[00830] **Мин лунка:** Результат в лунке с отрицательным контролем – это результат в лунке с клеточным лизатом в 0.5% растворе клеточных стенок в ДМСО.

[00831] 5 Результаты исследования

[00832] Полученные результаты приведены в Таблице 8.

[00833] Таблица 8. Значения IC₅₀ для соединения в ингибировании p-ERK в клетках AsPC-1

Соединение No.	AsPC-1 p-ERK IC ₅₀ (нМ)
Соединение 1В	12.3
Соединение 6	21.9
Соединение 7 гидрохлорид	3.2
Соединение 8 гидрохлорид	0.6
Соединение 9 гидрохлорид	35.9
Соединение 10 гидрохлорид	1.1
Соединение 11 формиат	0.9

[00834] Заключение по результатам тестирования: Соединение по настоящему изобретению оказывают значительное ингибирующее действие на p-ERK в KRAS^{G12D}

мутантных AsPC-1 клетках.

[00835] Пример теста 4. Тестирование ингибирования p-ERK в клетках AsPC-1

[00836] 1. Цель

[00837] Проводили скрининг методом внутриклеточного иммуноблоттинга с целью найти соединения, которые могут эффективно ингибировать p-ERK в KRAS^{G12D} мутантных AsPC-1 клетках.

[00838] 2. Материалы для проведения тестирования:

[00839] Клетки ASPC-1 покупали у ATCC; среду RPMI-1640 покупали у ATCC; эмбриональную телячью сыворотку покупали у Ausgenex; Phospho-p44/42 MAPK (Erk1/2) (Thr202/Tyr204) (D13.14.4E) XP® Rabbit mAb покупали у CST; GAPDH (D4C6R) Mouse mAb покупали у CST; IRDye 680RD Goat anti-Mouse IgG (H+L) покупали у LI-COR, и IRDye 800CW Goat anti-Rabbit IgG (H+L) покупали у LI-COR.

[00840] 3. Методика тестирования:

[00841] 13) Клетки ASPC-1 инокулировали в прозрачный 384-луночный планшет для культур клеток с черным дном, и в каждой лунке содержалось 40мкл суспензии клеток и 6000 клеток. Планшет для культур клеток инкубировали в инкубаторе с содержанием диоксида углерода при 37°C в течение ночи;

[00842] 14) Тестируемое соединение разводили до 10 мМ как первой концентрации в 100% ДМСО, и затем проводили серийные 3-кратные разведения до 9 концентраций с помощью пипетки, т.е. от 10 мМ до 1.52 мкМ. 40 нл раствора соединения переносили в планшет с помощью прибора ЕСНО и центрифугировали при низкой скорости. Планшет снова помещали в инкубатор с содержанием диоксида углерода и инкубировали еще 1 час; в этот момент концентрация соединения составляла от 10 мкМ до 1.52 нМ, и концентрация ДМСО составляла 0.1%;

[00843] 15) После окончания инкубирования добавляли в каждую лунку 40 мкл 8%-ного фиксирующего раствора параформальдегида и оставляли перемешиваться при комнатной температуре на 20 минут;

[00844] 16) Лунки промывали два раза PBS буфером; в каждую лунку добавляли 40 мкл предварительно охлажденного метанольного раствора; лунки промывали два раза PBS буфером; в каждую лунку добавляли 20 мкл блокирующего раствора и оставляли

перемешиваться при комнатной температуре на 60 минут;

[00845] 17) Отделяли блокирующий раствор и добавляли в каждую лунку 20 мкл смеси первичных антител (Phospho-p44/42 MAPK (Erk1/2) (Thr202/Tyr204) (D13.14.4E) XP® Rabbit mAb разбавленный в 1000 раз, GAPDH (D4C6R) Mouse mAb разбавленный в 2000 раз), и инкубировали при 4°C в течение ночи;

[00846] 18) Отделяли смесь первичных антител, и клетки промывали PBS буфером три раза; добавляли в каждую лунку 20 мкл смеси вторичных антител (IRDye 800CW Goat anti-Rabbit IgG (H+L) разбавленный в 2000 раз, IRDye 680RD Goat anti Mouse IgG (H+L) разбавленный в 2000 раз) и инкубировали при комнатной температуре в темноте 60 минут;

[00847] 19) Отделяли смесь первичных антител, и клетки промывали PBS буфером три раза; планшет центрифугировали вверх ногами при 1000 об/мин в течение 1 минуты, и затем сканировали на приборе Odyssey CLx.

[00848] 4. Анализ полученных данных:

[00849] Относительный коэффициент экспрессирования вычисляли по уравнению (**общая флуоресценция канала 800 /общая флуоресценция канала 700**), и полученные значения переводили в коэффициент ингибирования по уравнению (**Макс-Образец**)/(**Макс-Мин**)*100%. Значение IC₅₀ получали построением кривой по четырем параметрам (режим "log(ингибитор) vs. ответ -- Переменный коэффициент наклона" в plug-in XLfit в программе Excel).

[00850] **Макс лунка:** Результат в лунке с положительным контролем – это результат в лунке с наивысшей концентрацией лекарственного средства, используемого как положительный контроль.

[00851] **Мин лунка:** Результат в лунке с отрицательным контролем – это результат в лунке с 0.1% растворе клеточных стенок в ДМСО.

[00852] 5 Результаты исследования

[00853] Полученные результаты приведены в Таблице 9.

[00854] Таблица 9. Значения IC₅₀ для соединений в ингибировании p-ERK в клетках AsPC-1

Соединение	AsPC-1 p-ERK IC ₅₀ (нМ)
Соединение 12А трифторацетат	15.0

Соединение 13А трифторацетат	4.2
Соединение 15 трифторацетат	5.6
Соединение 18 гидрохлорид	10.1
Соединение 19 гидрохлорид	2.5
Соединение 20 гидрохлорид	1.3

[00855] Заключение по результатам тестирования: Соединения по настоящему изобретению оказывают значительное ингибирующее действие на p-ERK в KRAS^{G12D} мутантных AsPC-1 клетках.

[00856] Пример тестирования 5. Подавление пролиферации клеток в линии опухолевых клеток AsPC-1 соединениями по настоящему изобретению

[00857] Цель исследования

[00858] В данном тесте исследовали ингибирующее действие соединений на пролиферацию клеток, оценивая влияние соединений на активность клеток *in vitro* в линии KRAS^{G12D} мутантных опухолевых клеток AsPC-1.

[00859] Материалы для проведения исследования

[00860] Линия клеток: AsPC-1; Тип опухоли: рак поджелудочной железы; характеристики роста: прикрепленный рост; метод выращивания: RPMI 1640 + 10% FBS

[00861] Ultra Low Cluster-96-луночный планшет (Corning-7007)

[00862] Greiner CELLSTAR 96-луночный планшет (# 655090)

[00863] Набор для определения жизнеспособности клеток Promega CellTiter-Glo 3D Luminescence Cell Viability Assay Kit (Promega-G9683)

[00864] Планшет-ридер 2104-10 En Vision Plate Reader, PerkinElmer

[00865] RPMI 1640, DMEM, PBS (фосфатно-солевой буфер), FBS (телячья эмбриональная сыворотка), антибиотик-противогрибковый агент, L-глутамин, ДМСО (диметилсульфоксид)

[00866] Метод и этапы исследования

[00867] Культура клеток

[00868] Линию опухолевых клеток выращивали в инкубаторе 37°C, 5% CO₂ согласно условиям выращивания, указанным в методике. Клетки регулярно пересеивали, и для переноса в планшет использовали клетки в логарифмической стадии роста.

[00869] Высевание клеток в планшет

[00870] Клетки окрашивали трипановым синим и проводили подсчет жизнеспособных клеток.

[00871] Концентрацию клеток доводили до необходимой.

[00872] **Линия клеток: AsPC-1; Плотность (на лунку): 7000 клеток.**

[00873] В каждую лунку планшета ULA добавляли 135 мкл суспензии клеток. В лунку пустого контроля добавляли такой же объем среды для выращивания, без клеток.

[00874] После высевания в планшет, планшет ULA сразу центрифугировали при комнатной температуре при 1000 об/мин в течение 10 минут. Примечание: После окончания центрифугирования последующие операции проводили аккуратно, чтобы избежать ненужного встряхивания.

[00875] Планшет с клетками инкубировали в течение ночи в инкубаторе 37°C, 5% CO₂, 100% относительная влажность.

[00876] **Приготовление 10X рабочего раствора соединения и обработка клеток соединением (день 1)**

[00877] Готовили 10X рабочий раствор соединения (10X рабочий раствор в ДМСО). В планшет ULA добавляли 15 мкл 10X рабочего раствора соединения, и в контроль с носителем и в пустой контроль добавляли 15 мкл смеси ДМСО и среды для выращивания клеток, соответственно.

[00878] 96-луночный планшет помещали обратно в инкубатор и инкубировали 120 часов.

[00879] Наблюдались сферические образования клеток каждый день вплоть до окончания теста.

[00880] **Люминисцентное детектирование жизнеспособности клеток с помощью CellTiter-Glo (День 5)**

[00881] Описанные далее этапы проводили согласно инструкциям к набору для определения жизнеспособности клеток Promega CellTiter-Glo 3D Luminescent Cell Viability Assay Kit (Promega # G9683).

[00882] 150 мкл (равно объему среды для выращивания клеток в каждой лунке) реагента CellTiter-Glo 3D добавляли в каждую лунку. Планшет с клетками оборачивали алюминиевой фольгой для защиты от света.

[00883] Планшет с клетками встряхивали на орбитальном шейкере 5 минут.

[00884] Перед переходом к следующему этапу смесь в лунках тщательно перемешивали пипеткой (снизу вверх) 10 раз, так чтобы сфероиды клеток отсоединились.

[00885] Раствор в планшете ULA затем переносили в планшет с черным дном (#655090) и оставляли отстаиваться при комнатной температуре на 25 минут для стабилизации люминисценции.

[00886] Интенсивность люминисценции измеряли на планшет-ридере 2104 EnVision plate reader.

[00887] Анализ полученных результатов

[00888] Использовали приведенную ниже формулу для вычисления степени ингибирования (IR) для тестируемого соединения: $IR (\%) = (1 - (RLU \text{ соединения} - RLU \text{ пустого контроля}) / (RLU \text{ контроля с носителем} - RLU \text{ пустого контроля})) * 100\%$. Степени ингибирования для разных концентраций соединений вычисляли в Excel, затем использовали программу GraphPad Prism для построения кривых ингибирования и вычисления соответствующих параметров, включая минимальную степень ингибирования, максимальную степень ингибирования и IC₅₀.

[00889] Результаты исследования

[00890] Полученные результаты приведены в Таблице 10.

[00891] Таблица 10. Значения IC₅₀ для соединений по настоящему изобретению в ингибировании KRAS^{G12D} мутантных AsPC-1 клеток

Соединение	KRAS ^{G12D} AsPC-1 IC ₅₀ (нМ)
Соединение 1В	74.6
Соединение 6	94.6
Соединение 7 гидрохлорид	37.7

[00892] Заключение по результатам тестирования: Соединения по настоящему изобретению оказывают прекрасное антипролиферативное действие на KRAS^{G12D} мутантные AsPC-1 клетки.

[00893] **Пример тестирования 6. Антипролиферативное действие соединений по настоящему изобретению в отношении линии опухолевых клеток AsPC-1**

[00894] 1. Цель исследования

[00895] Антипролиферативное действие соединений по настоящему изобретению в отношении KRAS^{G12D} мутантной клеточной линии AsPC-1 оценивали методом 3D-CTG.

[00896] 2. Материалы для проведения исследования:

[00897] Клетки ASPC-1 покупали у ATCC; культуральную среду RPMI-1640 покупали у ATCC; эмбриональную телячью сыворотку покупали у Augenix; набор CellTiter-Glo® 3D assay kit (3D-CTG) purch покупали у Promega; и CellCarrier-96 Spheroid ULA/CS покупали у PE.

[00898] 3. Методика исследования:

[00899] 20) Клетки ASPC-1 инокулировали в прозрачный 96-луночный планшет для выращивания клеток, каждая лунка содержала 195 мкл суспензии клеток и 2000 клеток;

[00900] 21) Тестируемое соединение разводили до 10 мМ как первой концентрации в 100% ДМСО, и затем проводили серийные 5-кратные разведения до 8 концентраций с помощью пипетки, т.е. от 10 мМ до 0.13 мкМ. Отбирали 2 мкл соединения и добавляли в 48 мкл клеточной среды для вторичного разведения. После тщательного перемешивания полученной смеси отбирали 5 мкл вторично разведенного соединения и добавляли в соответствующую 195 мкл лунку планшета для культур клеток. Планшет для культур клеток снова помещали в инкубатор с содержанием диоксида углерода и инкубировали 7 дней; в этот момент концентрация соединения составляла от 10 мкМ до 0.128 нМ, и концентрация ДМСО составляла 0.1%;

[00901] 22) После окончания инкубирования отбрасывали 100мкл клеточного супернатанта. Добавляли в каждую лунку 60 мкл 3D-CTG. инкубировали при встряхивании при 200 об/мин при комнатной температуре 20 минут; затем планшет инкубировали в инкубаторе при комнатной температуре 1 час;

[00902] 23) 100 мкл супернатанта из планшета переносили в 96-луночный прозрачный планшет с черным дном и считывали значение люминисценции в BMG.

[00903] 4. Анализ полученных данных:

[00904] Для перевода полученных значений в коэффициент ингибирования использовали уравнение $\text{Ингибирование}\% = (\text{Средн_Н-Образец}) / (\text{Средн_Н-Средн_L})$, и значение IC_{50} можно получить построением кривой по четырем параметрам (режим "log(ингибитор) vs. ответ -- Переменный коэффициент наклона" в GraphPad Prism).

[00905] **Н-образец:** значение для лунок с ДМСО.

[00906] **L-образец:** значение для лунок со средой.

[00907] 5. Результаты исследования

[00908] Полученные результаты приведены в Таблице 11.

[00909] Таблица 11. Значения IC₅₀ для соединений по настоящему изобретению в ингибировании KRAS^{G12D} мутантных AsPC-1 клеток

Соединение	KRAS ^{G12D} AsPC-1 IC ₅₀ (нМ)
Соединение 8 гидрохлорид	9.0
Соединение 16 трифторацетат	18.6
Соединение 20 гидрохлорид	9.6

[00910] Заключение по результатам тестирования: Соединения по настоящему изобретению оказывают прекрасное антипролиферативное действие на KRAS^{G12D} мутантные AsPC-1 клетки.

[00911] Пример тестирования 7. Исследование фармакокинетики при пероральном и внутривенном введении тестируемых соединений мышам CD-1

[00912] Цель исследования

[00913] Определить параметры фармакокинетики *in vivo* при пероральном и внутривенном введении соединений мышам CD-1.

[00914] Методика исследования

[00915] Тестируемое соединение смешивали с 5% ДМСО+95% (10%HP-β-CD) водным раствором. Смесь интенсивно перемешивали на вихревой мешалке и обрабатывали в ультразвуковой бане, получая прозрачный раствор с концентрацией 0.5 мг/мл (для внутривенного введения) или прозрачный раствор с концентрацией 3 мг/мл (для перорального введения). Полученный прозрачный раствор фильтровали через микропористую мембрану перед использованием. Отбирали самцов CD-1 мышей возрастом от 7 до 10 недель, вводили тестируемое соединение внутривенно, и вводили растворы соединения-кандидата перорально. В течение определенного периода времени собирали цельную кровь и обрабатывали, получая плазму крови. Концентрацию лекарственного средства определяли методом LC-MS/MS, и вычисляли фармакокинетические параметры с помощью программы Phoenix WinNonlin (Pharsight, USA).

[00916] Результаты исследования

[00917] Таблица 12. Параметры фармакокинетики при внутривенном (IV) введении

Тестируемый образец	Соединение 8 гидрохлорид
Доза (мг/кг)	2.22
C_0 (нМ)	1704
$T_{1/2}$ (ч)	12.6
V_d (л/кг)	52.9
Cl (мл/кг/мин)	76
$AUC_{0-посл}$ (нМ•ч)	598

[00918] Таблица 12. Параметры фармакокинетики при пероральном (PO) введении

Тестируемый образец	Соединение 8 гидрохлорид
Доза (мг/кг)	101
$C_{макс}$ (нМ)	4410
$T_{макс}$	1
$T_{1/2}$ (ч)	7.26
$AUC_{0-посл}$ (нМ•ч)	9977
F	36.7%

[00919] **Результаты исследования**

[00920] Соединение по настоящему изобретению демонстрирует длительное время полужизни, высокую экспозицию, хорошую пероральную биодоступность и хорошие фармакокинетические характеристики в тестах на мышах.

Пример тестирования 8. Исследование фармакодинамики *in vivo*

[00921] **Методика исследования:**

[00922] Создавали бестимусную мышиную модель Balb/c подкожного опухолевого трансплантата клеток GP2D рака толстой кишки человека. 0.2 мл (2×10^6) клеток GP2D (добавляли Matrigel, и соотношение по объемам составляло 1:1) инокулировали подкожно в правый бок каждой мыши. Когда средний объем опухоли достигал 140 мм^3 , животных делили на группы по 6 мышей в каждой группе и начинали введение. В день проведения исследования животным вводили лекарственное средство согласно разбиению на группы. Первая группа G1 служила отрицательным контролем, им вводили только 5% ДМСО+95%(10%HP- β -CD) через желудочный зонд. Группам от второй

G2 до четвертой G4 вводили соединение **8** гидрохлорид, дозировка и протокол введения показаны в Таблице 14.

[00923] Таблица 14. Исследование фармакодинамики тестируемого соединения на опухолевом трансплантате диффузной крупно-В-клеточной лимфомы человека TMD8 у мышей

Группа	Число животных	Тестируемое соединение	Доза (мг/кг)	Вводимый объем (мл/кг)	Путь и частота введения
G1	6	Отрицательный контроль	н.д.	н.д.	PO, BID *28
G2	6	Соединение 8 гидрохлорид	50	10	PO,QD*28
G3	6	Соединение 8 гидрохлорид	100	10	PO,QD*28
G4	6	Соединение 8 гидрохлорид	200	10	PO,QD*28

[00924] Примечание: PO означает пероральное введение, QD означает один раз в сутки, BID означает один раз в сутки.

[00925] Во время исследования вес тела животных и размер опухоли измеряли два раза в неделю. Также оценивали клинические симптомы у животных один раз в день. Каждое введение рассчитывали по самому недавнему весу тела животных.

[00926] Длину (a) и ширину (b) опухоли измеряли цифровым штангенциркулем. Формула для вычисления объема опухоли (OO) следующая: $OO = a \times b^2 / 2$.

[00927] **Результаты исследования:**

[00928] Соединение **1** гидрохлорид оказывает существенное ингибирующее действие в мышинной ксенографической модели рака толстой кишки человека GP2D. После 20 дней введения во второй группе G2 (50 мг/кг, PO, QD) степень ингибирования объема опухоли TGI (%) составила 47.0% на 28-й день; в третьей группе G3 (100 мг/кг, PO, QD) и в четвертой группе G4 (200 мг/кг, PO, QD) степень ингибирования объема опухоли TGI (%) составила 75.9% и 94.7% на 28-й день, соответственно; подробные результаты приведены в Таблице 15.

[00929] Таблица 15. Влияние тестируемого соединения на размер опухоли у животного в мышинной ксенографической модели рака толстой кишки человека GP2D

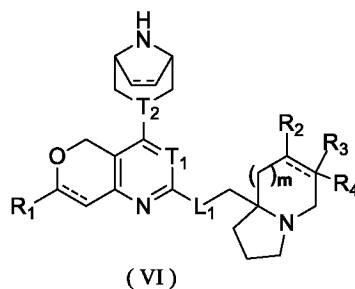
Группа	Число животных	Тестируемое соединение	Частота введения	Доза мг/кг	Степень ингибирования объема опухоли TGI (%)
G1	6	Отрицательный контроль	PO, BID *28	н.д.	н.д.
G2	6	Соединение 8 гидрохлорид	PO,QD*28	50	47.0
G3	6	Соединение 8 гидрохлорид	PO,QD*28	100	75.9
G4	6	Соединение 8 гидрохлорид	PO,QD*28	200	94.7

[00930] Примечание: н.д. означает «не детектировано».

[00931] **Заключение по результатам исследования:** В аспекте эффективности *in vivo*, соединение по настоящему изобретению демонстрирует хорошее ингибирующее действие на опухоль в линии клеток GP2D, и наблюдается выраженная зависимость эффекта от дозы.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы (VI) или его фармацевтически приемлемая соль



где

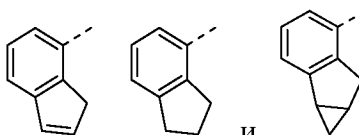
--- выбран из простой связи и двойной связи;

T_1 выбран из CR_a и N;

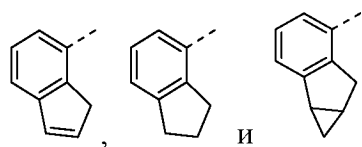
T_2 выбран из CH и N;

L_1 выбран из O и S;

R_1 выбран из фенила, нафтила,



и , где фенил, нафтил,



каждый независимо необязательно замещены 1, 2, 3, 4 или 5 заместителями R_b ;

R_2 представляет собой H;

R_3 выбран из H, F, CN, CH_3 и OCH_3 , где CH_3 и OCH_3 необязательно замещены 1, 2 или 3 галогенами;

альтернативно, R_2 и R_3 вместе с атомами, к которым они присоединены, формируют фенильную группу или 5-6-членную гетероарильную группу, где фенильная группа или 5-6-членная гетероарильная группа необязательно замещена 1, 2 или 3 галогенами;

R_4 отсутствует или выбран из H, CH_3 и $-CH=CH_2$, где CH_3 и $-CH=CH_2$ необязательно замещены 1, 2 или 3 галогенами;

альтернативно, R_3 и R_4 вместе с атомом, к которому они присоединены, формируют



альтернативно, R_3 и R_4 вместе с атомом, к которому они присоединены, формируют

циклопропильную группу, которая необязательно замещена 1, 2 или 3 галогенами;

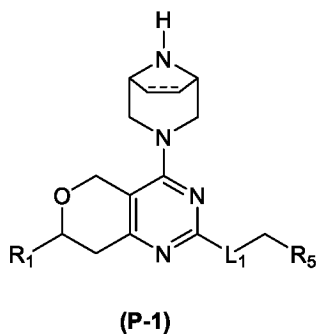
R_a выбран из H и CN;

каждый R_b независимо выбран из H, F, Cl, Br, I, OH, NH₂, CN, C₁₋₃ алкила, C₁₋₃ алкокси, C₂₋₄ алкинила, C₂₋₄ алкинил-циклопропила, C₂₋₃ алкенила, -C(=O)C₁₋₃ алкила и C₃₋₅ циклоалкила, где C₁₋₃ алкил, C₁₋₃ алкокси, C₂₋₄ алкинил, C₂₋₄ алкинил-циклопропил, C₂₋₃ алкенил, -C(=O)C₁₋₃ алкил и C₃₋₅ циклоалкил необязательно замещены 1, 2, 3, 4 или 5 галогенами;

каждый R_c независимо выбран из F, Cl, Br, I, CN, CH₃ и OCH₃;

m выбран из 0 и 1.

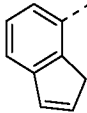
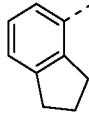
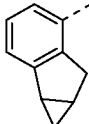
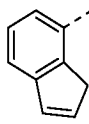
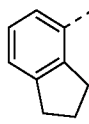
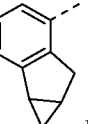
2. Соединение формулы (P-1) или его фармацевтически приемлемая соль



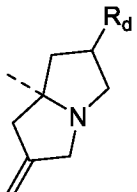
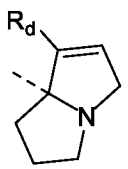
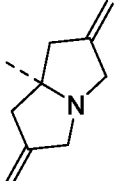
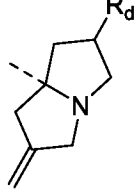
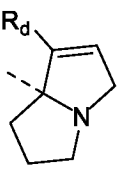
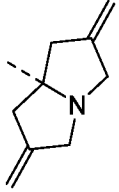
где

выбран из простой связи и двойной связи;

L_1 выбран из O и S;

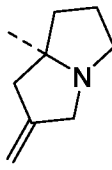
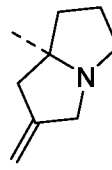
R_1 выбран из фенила, нафтила, 5-10-членного гетероарила, ,  и , где фенил, нафтил, 5-10-членный гетероарил, ,  и  каждый

независимо необязательно замещены 1, 2, 3, 4 или 5 заместителями R_b , и R_5 выбран из

,  и , где ,  и  каждый

независимо необязательно замещены 1, 2, 3, 4 или 5 заместителями R_d ;

альтернативно, R_1 представляет собой 5-10-членный гетероарил, где 5-10-членный гетероарил необязательно замещен 1, 2, 3, 4 или 5 заместителями R_b , и R_5 представляет

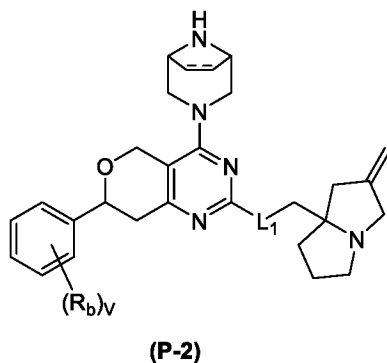
собой  , где  необязательно замещен 1, 2, 3, 4 или 5 заместителями R_d ;

каждый R_b независимо выбран из H, F, Cl, Br, I, OH, NH₂, CN, C₁₋₃ алкила, C₁₋₃ алкокси, C₂₋₄ алкинила, C₂₋₄ алкинил-циклопропила, C₂₋₃ алкенила, -C(=O)C₁₋₃ алкила и C₃₋₅ циклоалкила, где C₁₋₃ алкил, C₁₋₃ алкокси, C₂₋₄ алкинил, C₂₋₄ алкинил-циклопропил, C₂₋₃ алкенил, -C(=O)C₁₋₃ алкил и C₃₋₅ циклоалкил необязательно замещены 1, 2, 3, 4 или 5 заместителями R;


каждый R_d независимо выбран из F, Cl, Br, I, CN, CH₃ и OCH₃;

каждый R независимо выбран из галогена и D.

3. Соединение формулы (P-2) или его фармацевтически приемлемая соль:



где

 выбран из простой связи и двойной связи;

L_1 выбран из O и S;

каждый R_b независимо выбран из F, Cl, Br, I, OH, NH₂, CN, C₁₋₃ алкила, C₁₋₃ алкокси, C₂₋₄ алкинила, C₂₋₄ алкинил-циклопропила, C₂₋₃ алкенила, -C(=O)C₁₋₃ алкила и C₃₋₅ циклоалкила, где C₁₋₃ алкил, C₁₋₃ алкокси, C₂₋₄ алкинил, C₂₋₄ алкинил-циклопропил, C₂₋₃ алкенил, -C(=O)C₁₋₃ алкил и C₃₋₅ циклоалкил необязательно замещены 1, 2, 3, 4 или 5 заместителями R;

каждый R независимо выбран из галогена и D;

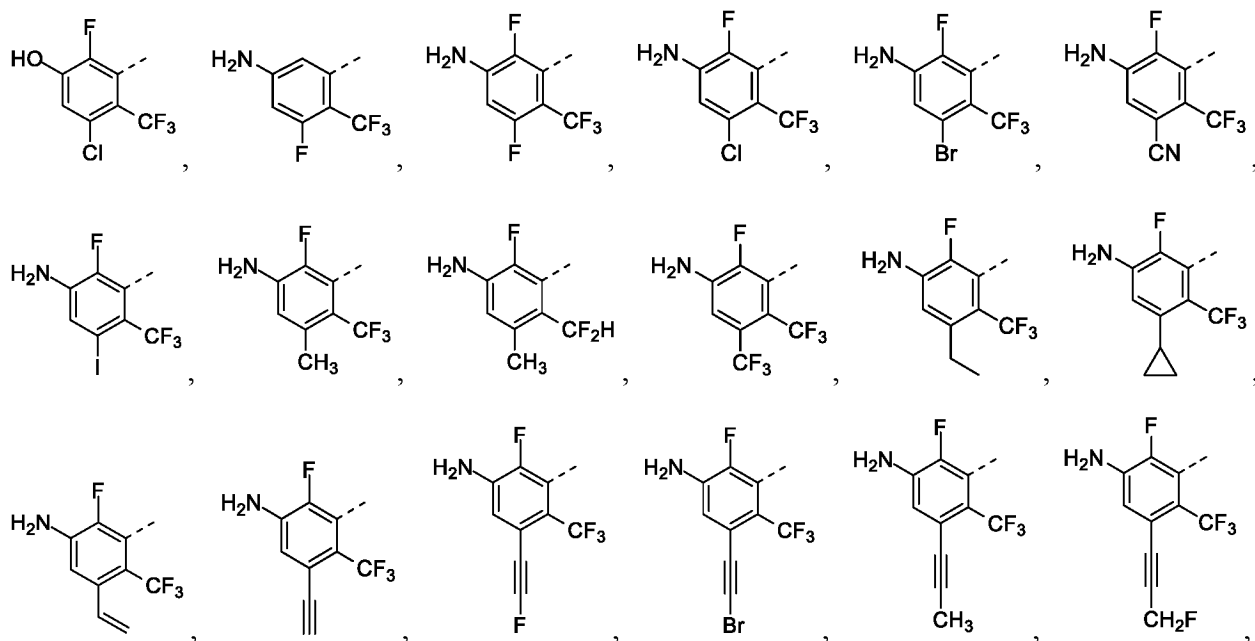
v выбран из 1, 2, 3, 4 и 5;

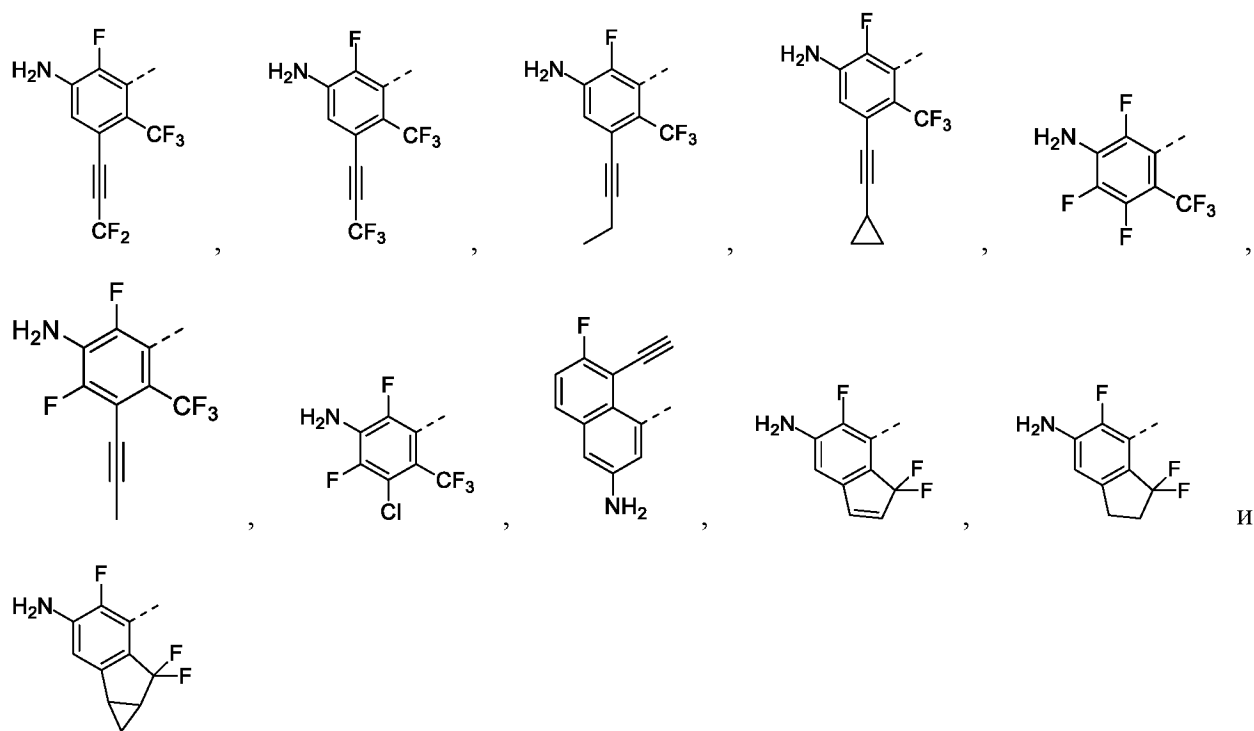
при условии, что по меньшей мере один R_b замещен 1, 2, 3, 4 или 5 D.

4. Соединение по п. 1 или его фармацевтически приемлемая соль, где каждый R_b независимо выбран из H, F, Cl, Br, I, OH, NH_2 , CN, CH_3 , CH_2CH_3 , OCH_3 , OCH_2CH_3 , $-CH=CH_2$, $-C\equiv CH$, $-C\equiv CCH_3$, $-C\equiv CCH_2CH_3$, $--\equiv$ и циклопропила, где CH_3 , CH_2CH_3 , OCH_3 , OCH_2CH_3 , $-CH=CH_2$, $-C\equiv CH$, $-C\equiv CCH_3$, $-C\equiv CCH_2CH_3$, $--\equiv$ и циклопропил необязательно замещены 1, 2, 3, 4 или 5 галогенами; альтернативно, каждый R_b независимо выбран из H, F, Cl, Br, I, OH, NH_2 , CN, CH_3 , CH_2F , CF_2H , CF_3 , CH_2CH_3 , CF_2CF_3 , $-CH=CH_2$, $-C\equiv CH$, $-C\equiv CF$, $-C\equiv CBr$, $-C\equiv CCH_3$, $-C\equiv CCF_3$, $-C\equiv CCH_2CH_3$, $--\equiv$ и циклопропила.

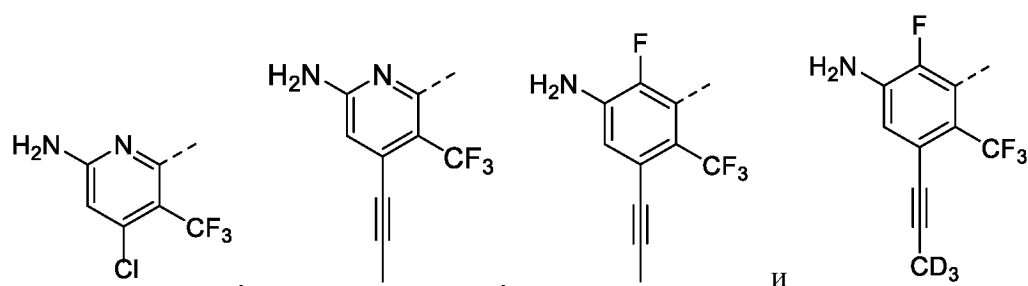
5. Соединение по п. 2 или 3 или его фармацевтически приемлемая соль, где каждый R_b независимо выбран из H, F, Cl, Br, I, OH, NH_2 , CN, CH_3 , CH_2CH_3 , OCH_3 , OCH_2CH_3 , $-CH=CH_2$, $-C\equiv CH$, $-C\equiv CCH_3$, $-C\equiv CCH_2CH_3$, $--\equiv$ и циклопропила, где CH_3 , CH_2CH_3 , OCH_3 , OCH_2CH_3 , $-CH=CH_2$, $-C\equiv CH$, $-C\equiv CCH_3$, $-C\equiv CCH_2CH_3$, $--\equiv$ и циклопропил необязательно замещены 1, 2, 3, 4 или 5 заместителями R; альтернативно, каждый R_b независимо выбран из H, F, Cl, Br, I, OH, NH_2 , CN, CH_3 , CD_3 , CH_2F , CF_2H , CF_3 , CH_2CH_3 , CF_2CF_3 , $-CH=CH_2$, $-C\equiv CH$, $-C\equiv CF$, $-C\equiv CBr$, $-C\equiv CCH_3$, $--\equiv-CD_3$, $-C\equiv CCF_3$, $-C\equiv CCH_2CH_3$, $--\equiv$ и циклопропила.

6. Соединение по п. 1 или его фармацевтически приемлемая соль, где R_1 выбран из:





7. Соединение по п. 2 или его фармацевтически приемлемая соль, где R_1 выбран из

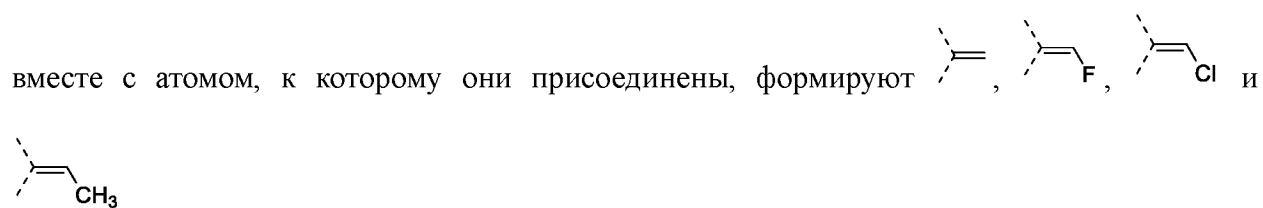


8. Соединение по п. 1 или его фармацевтически приемлемая соль, где R_3 выбран из H , F , CN , CH_3 и OCH_3 .

9. Соединение по п. 1 или его фармацевтически приемлемая соль, где R_2 и R_3 вместе с атомами, к которым они присоединены, формируют фенильную группу, фурильную группу и пиридинильную группу, где фенильная группа, фурильная группа и пиридинильная группа необязательно замещены одним F .

10. Соединение по п. 1 или его фармацевтически приемлемая соль, где R_4 отсутствует или выбран из H , CH_2F и $-\text{CH}=\text{CH}_2$.

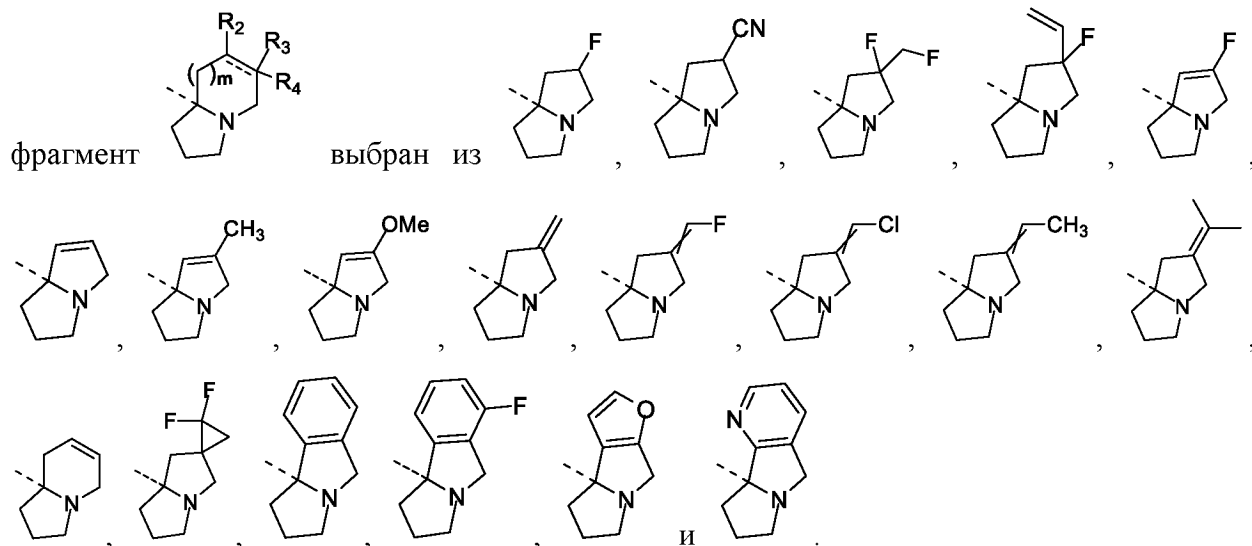
11. Соединение по п. 1 или его фармацевтически приемлемая соль, где R_3 и R_4



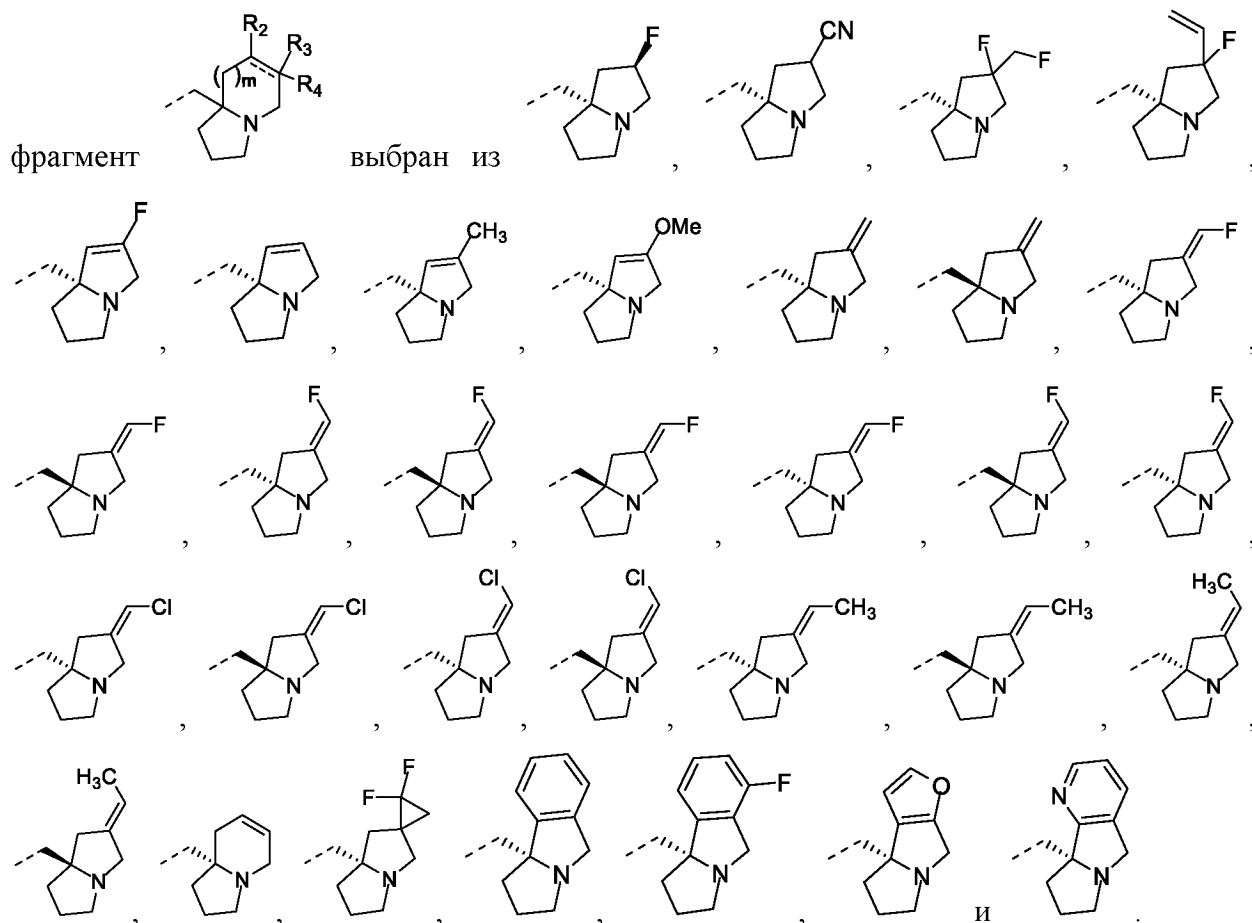
12. Соединение по п. 1 или его фармацевтически приемлемая соль, где R_3 и R_4

вместе с атомом, к которому они присоединены, формируют 

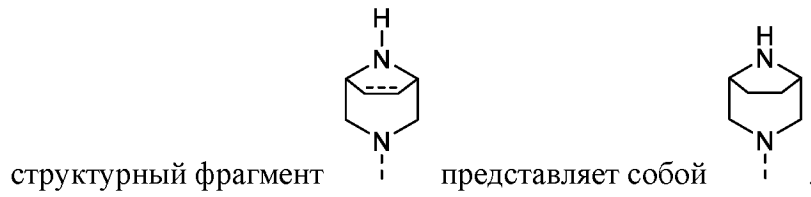
13. Соединение по п. 1 или его фармацевтически приемлемая соль, где структурный



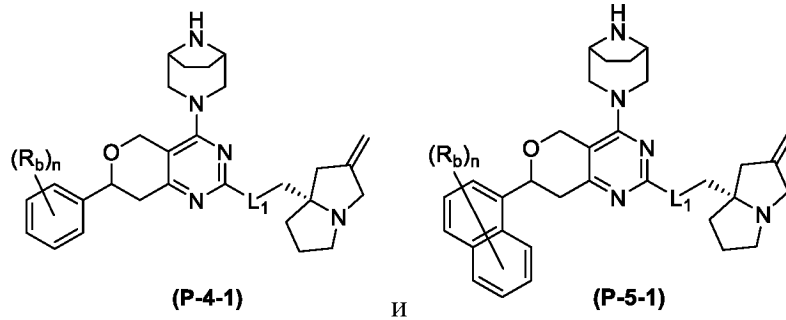
14. Соединение по п. 1 или его фармацевтически приемлемая соль, где структурный



15. Соединение по п. 1, 2 или 3 или его фармацевтически приемлемая соль, где



16. Соединение по п. 1 или его фармацевтически приемлемая соль,

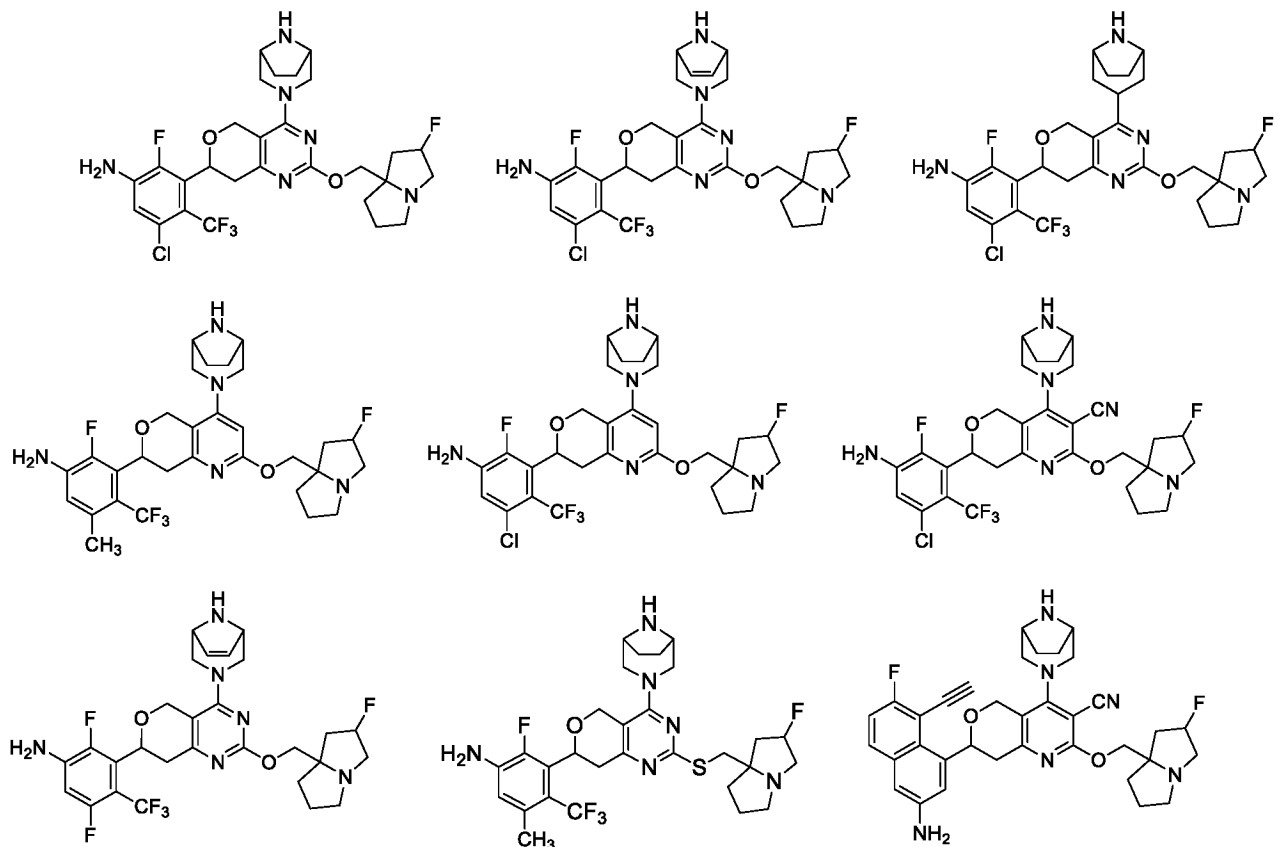


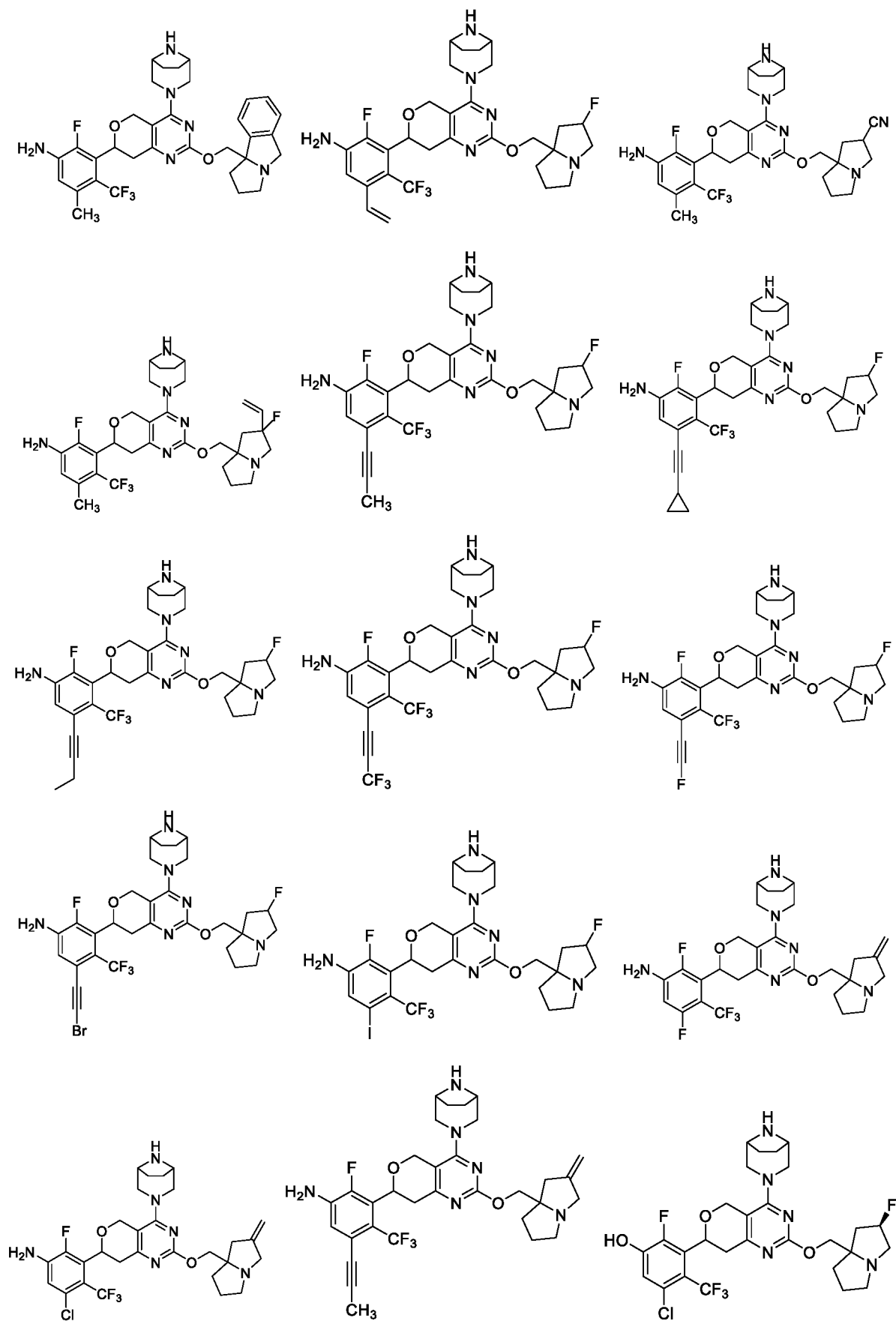
где

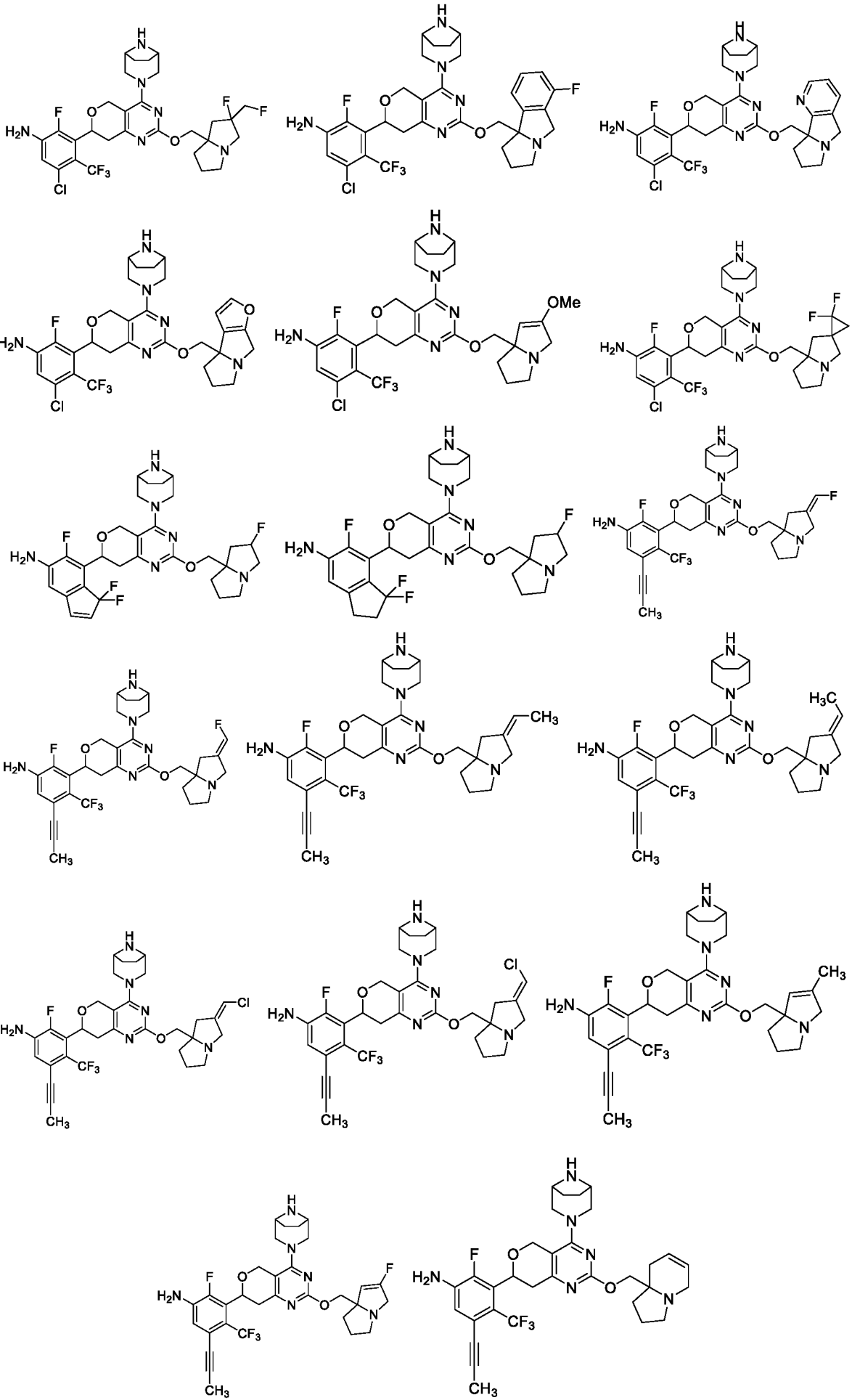
каждый из R_b и L_1 имеет значение, указанное в п. 1;

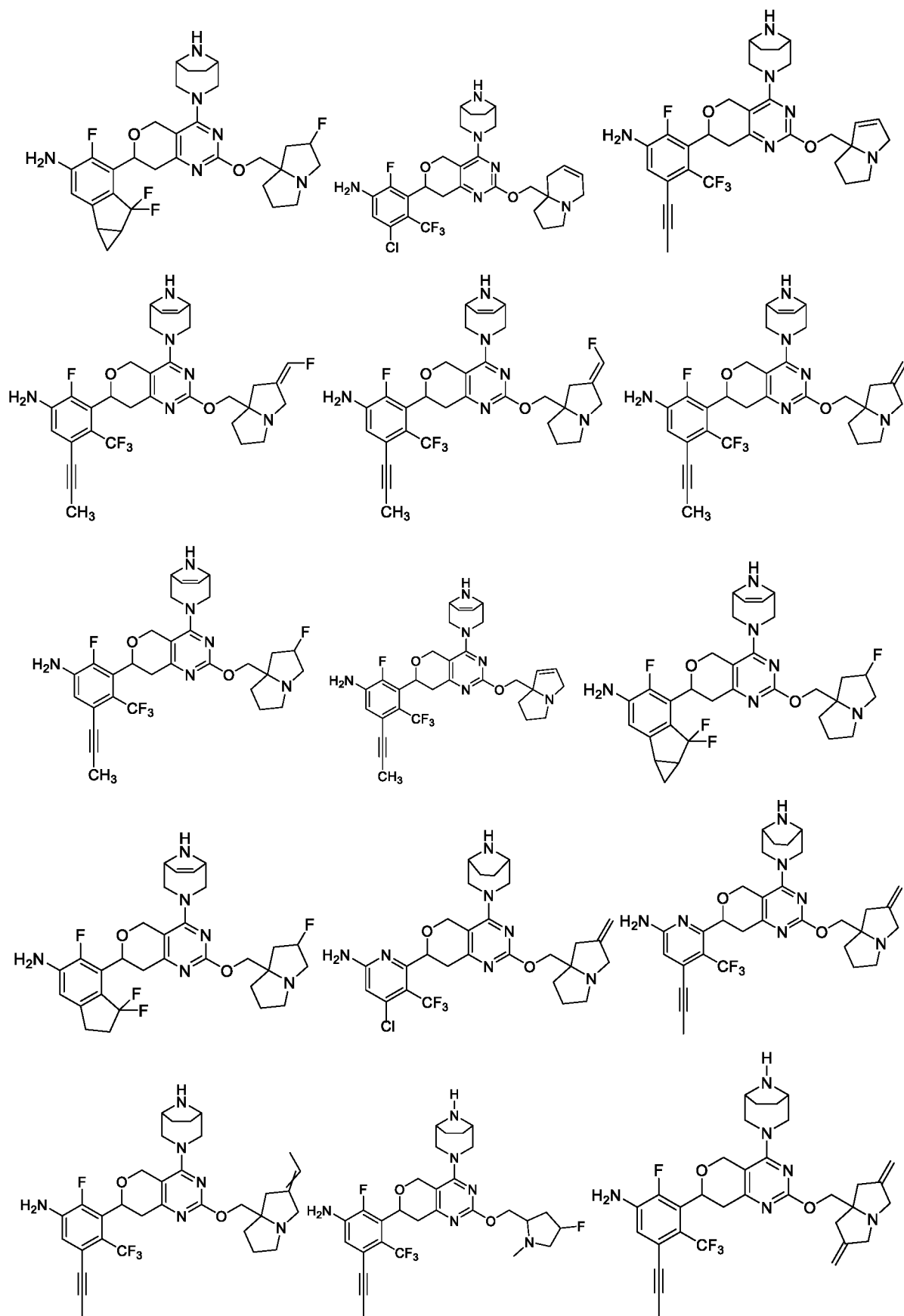
n выбран из 0, 1, 2, 3, 4 и 5.

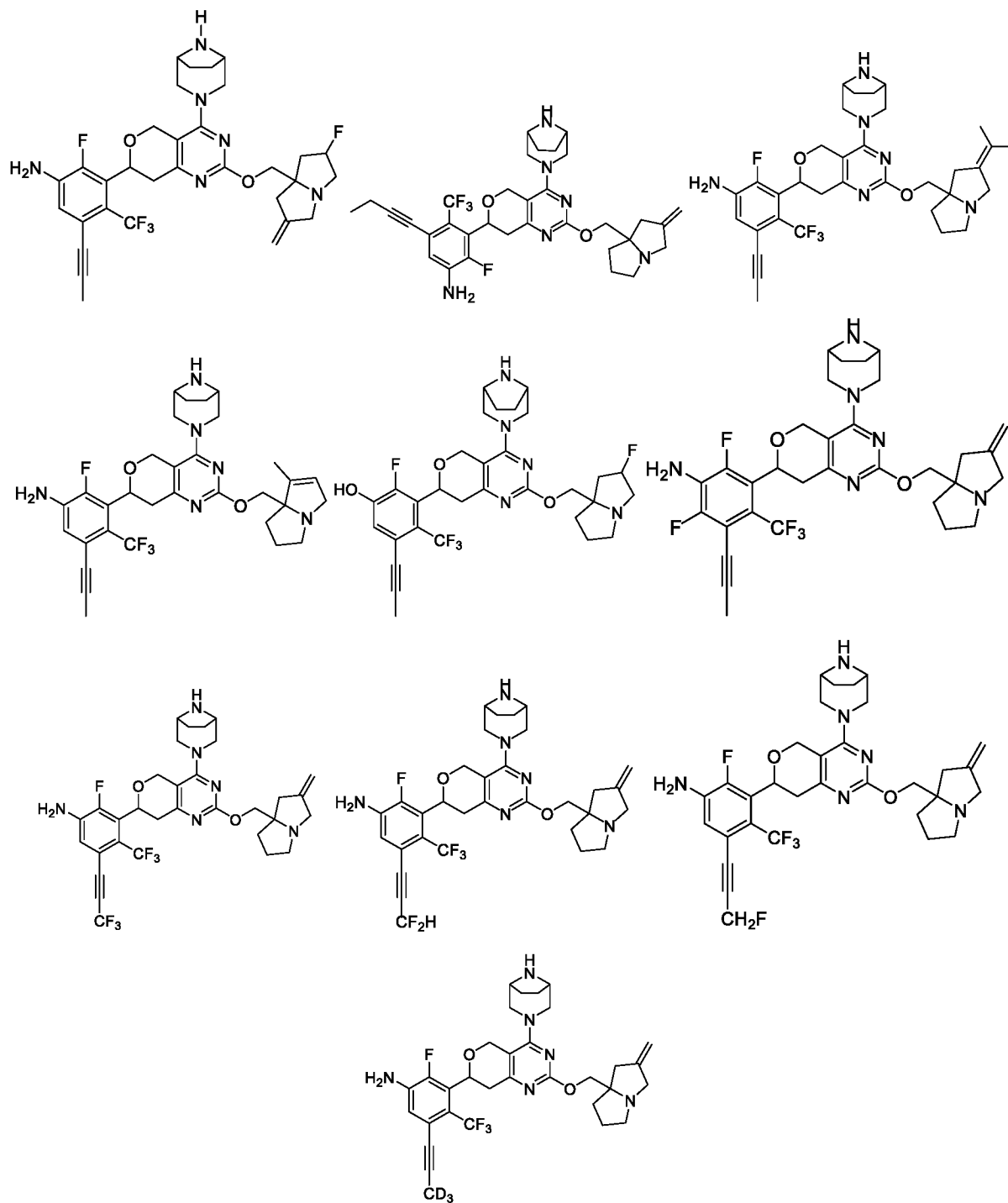
17. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение выбрано из



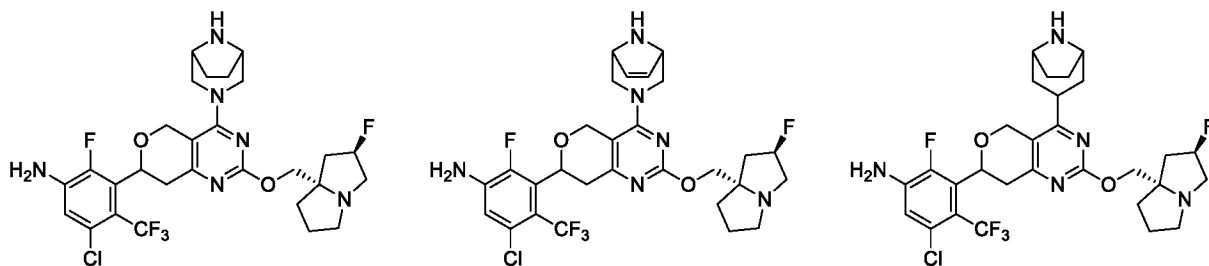


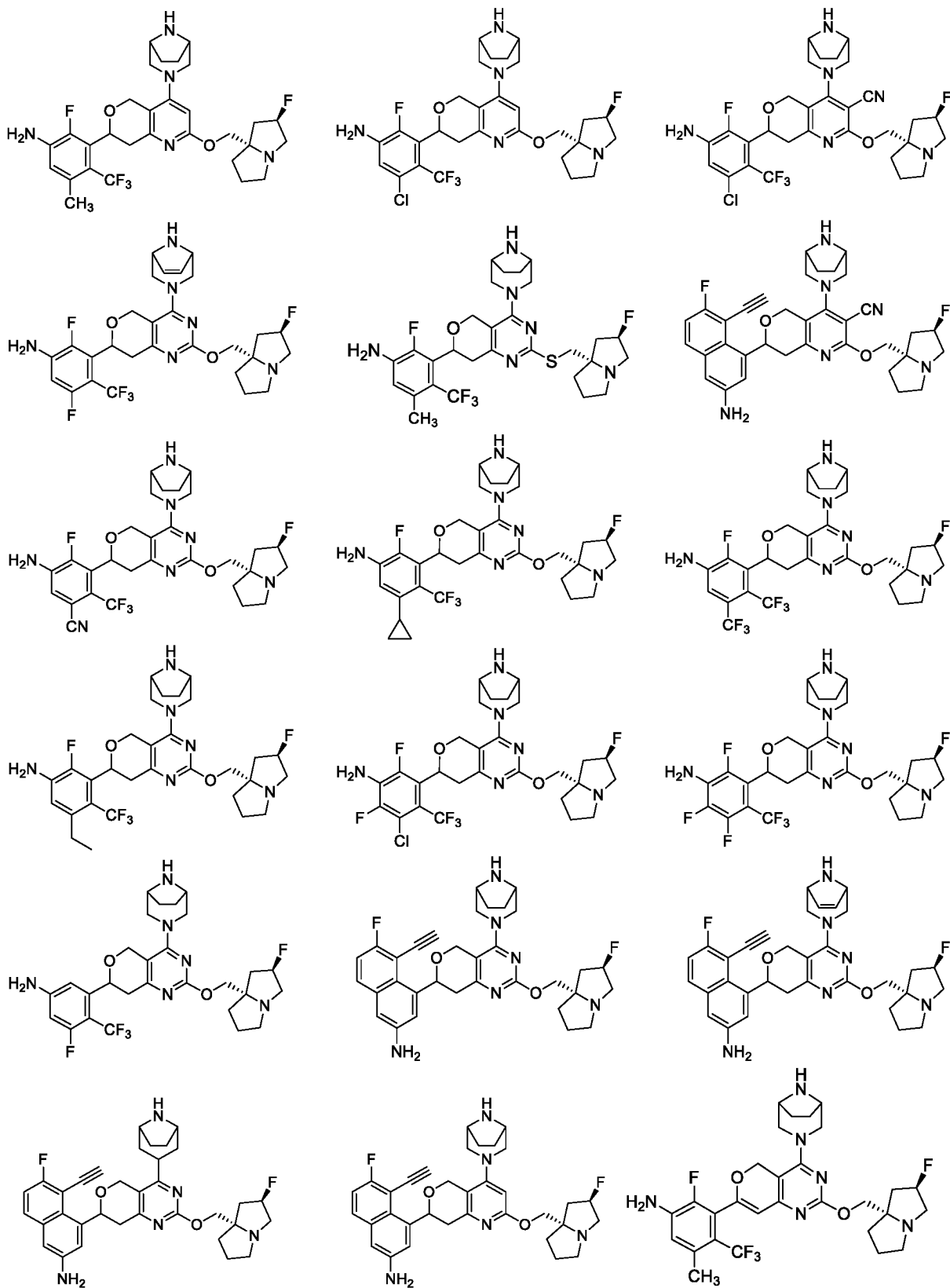


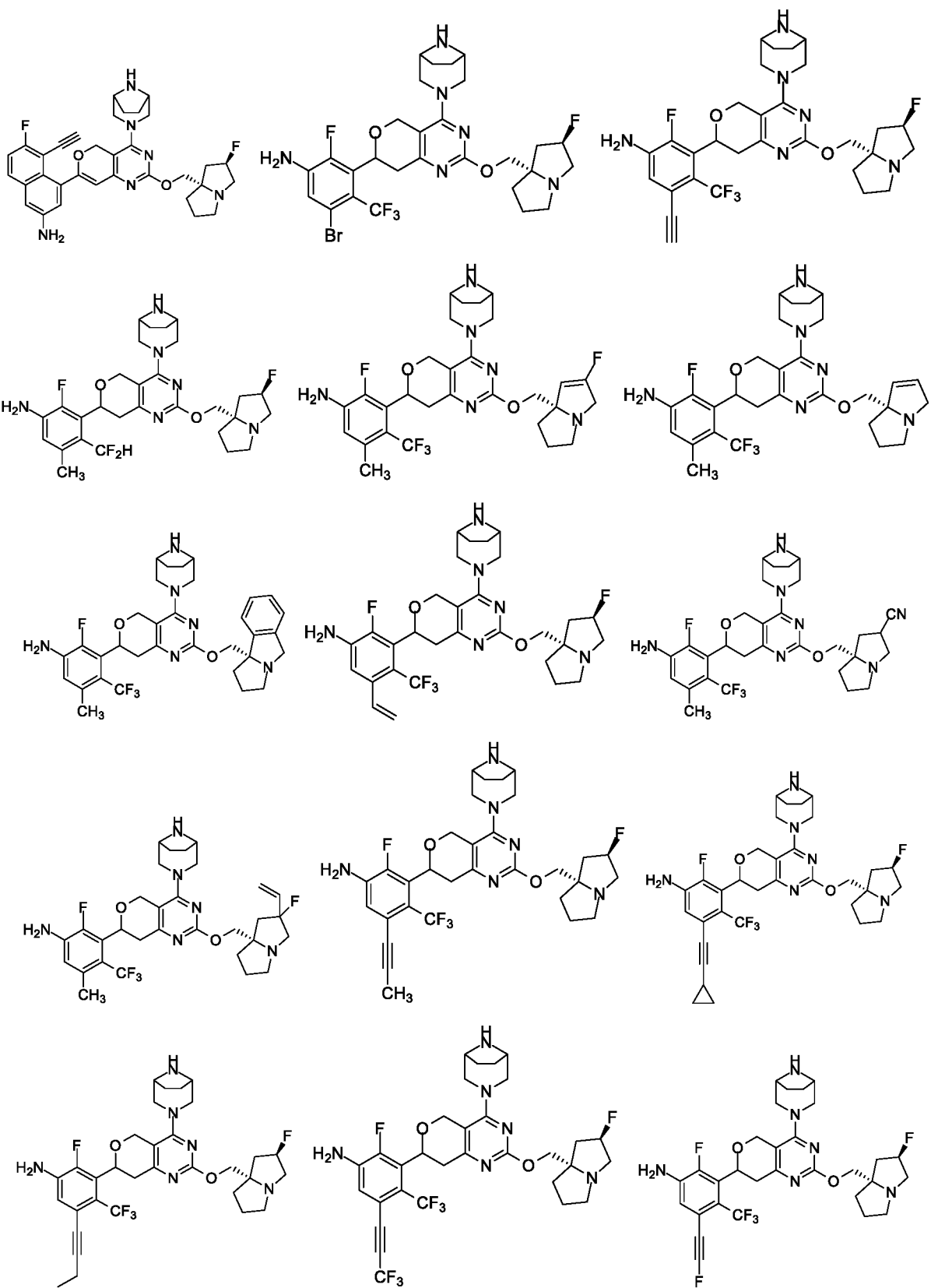


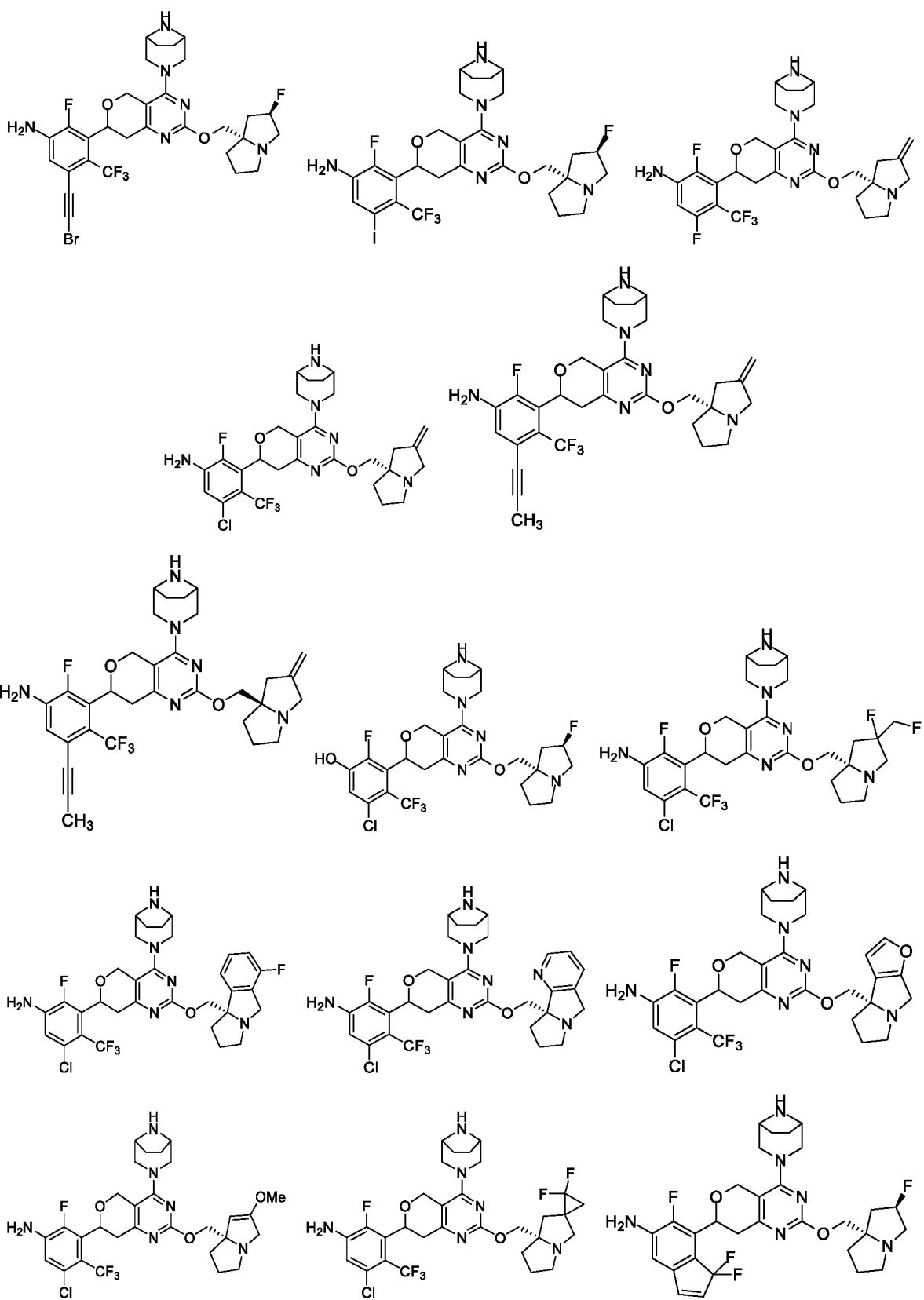


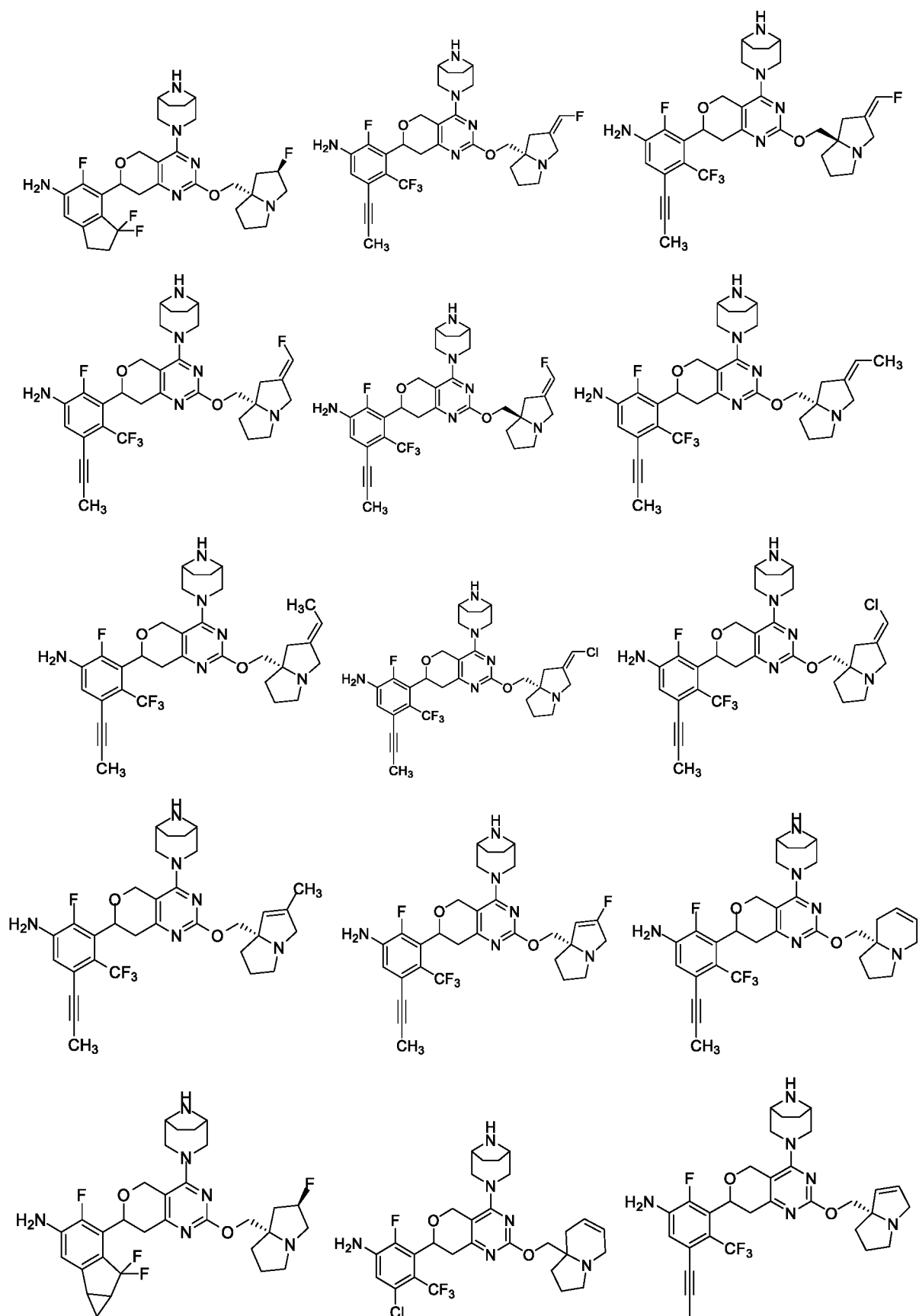
18. Соединение по п. 17 или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение выбрано из:

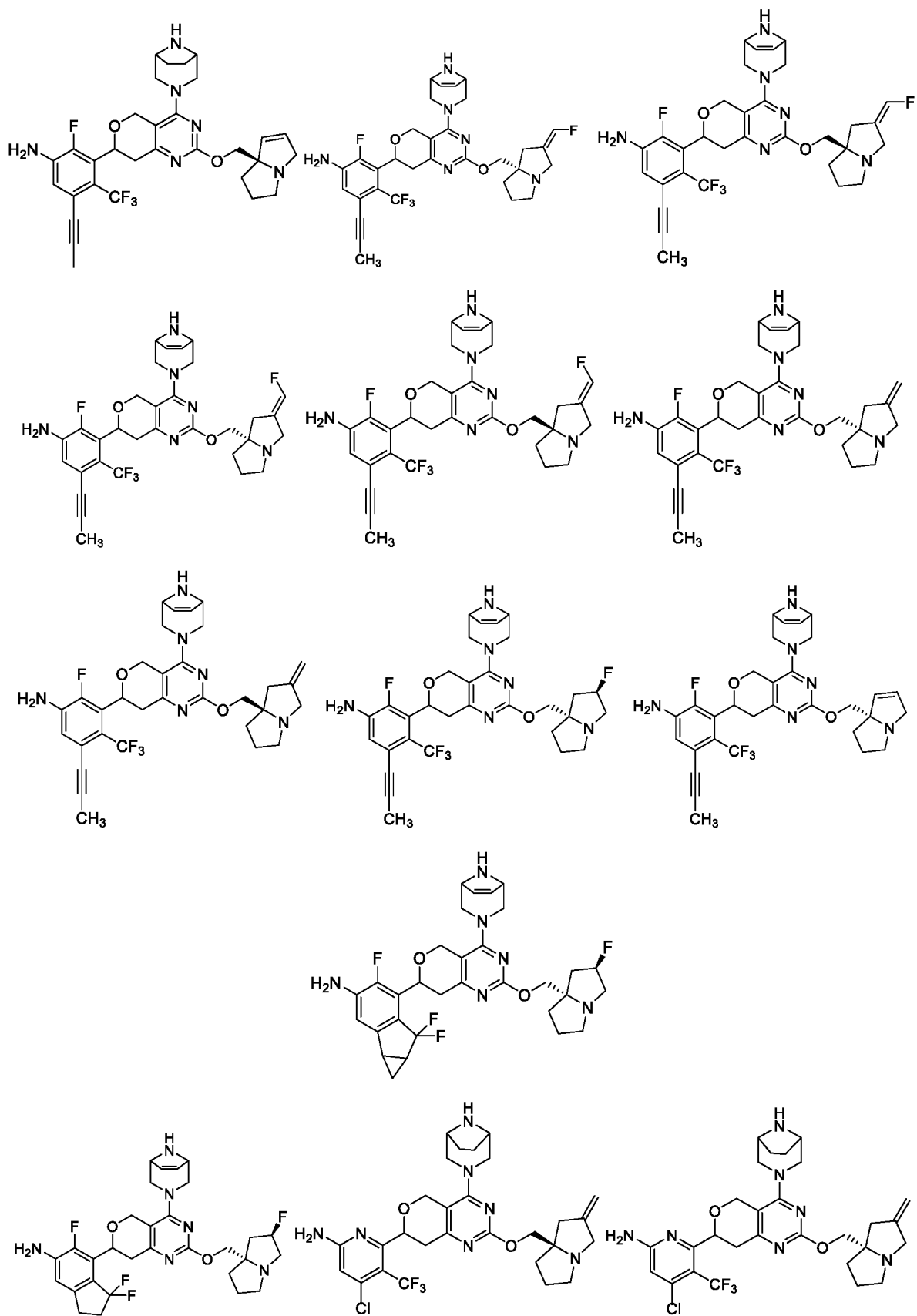


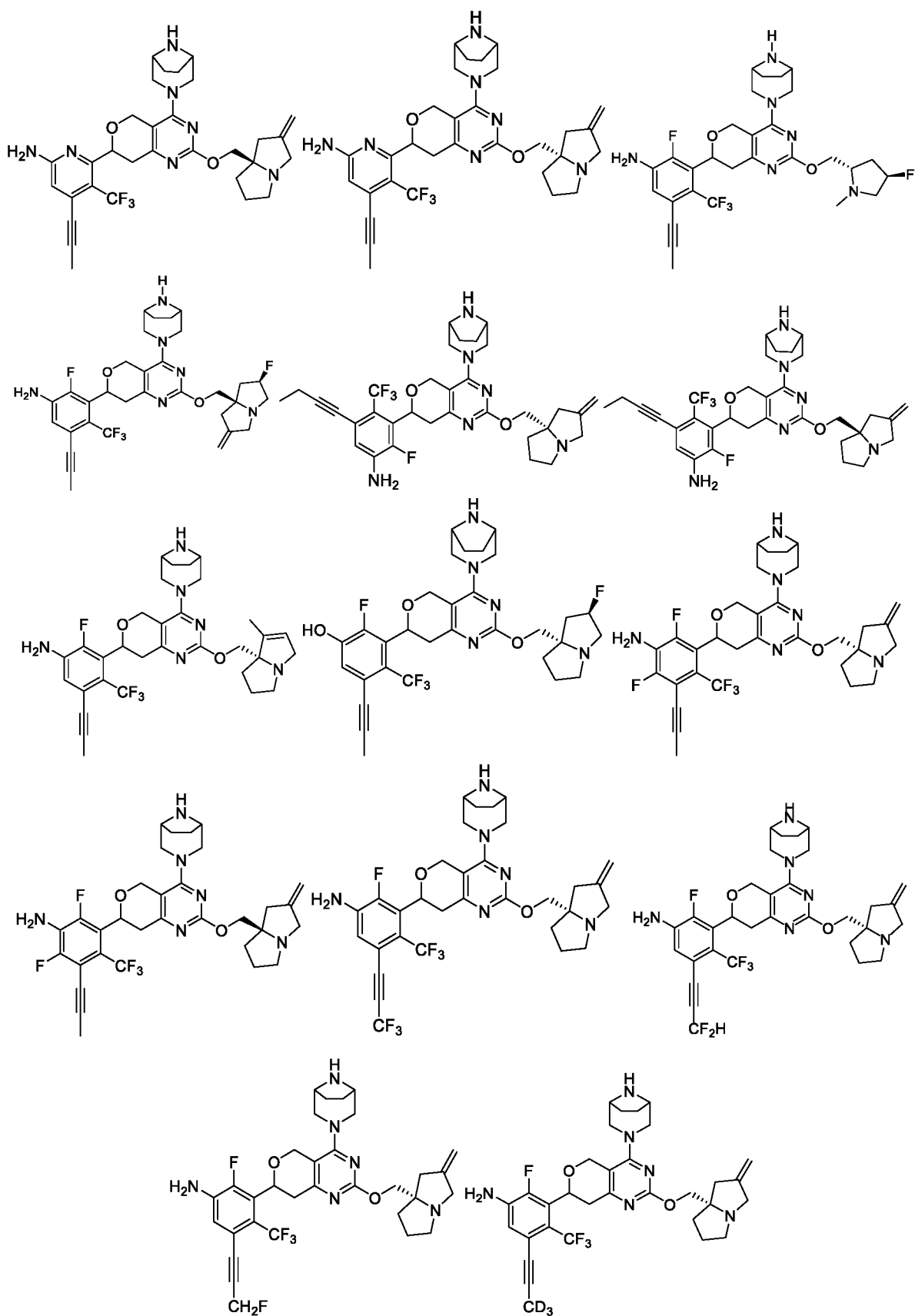


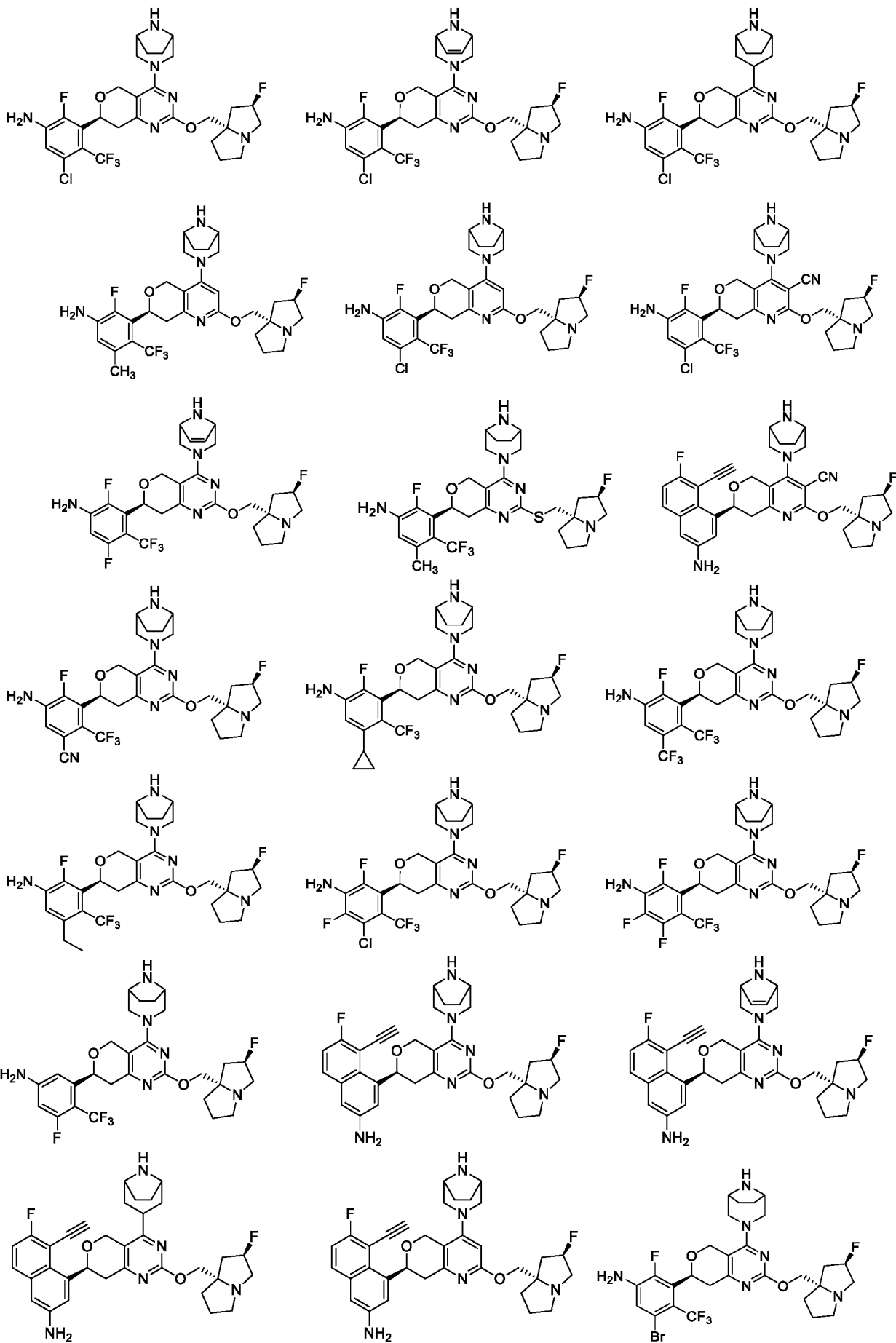


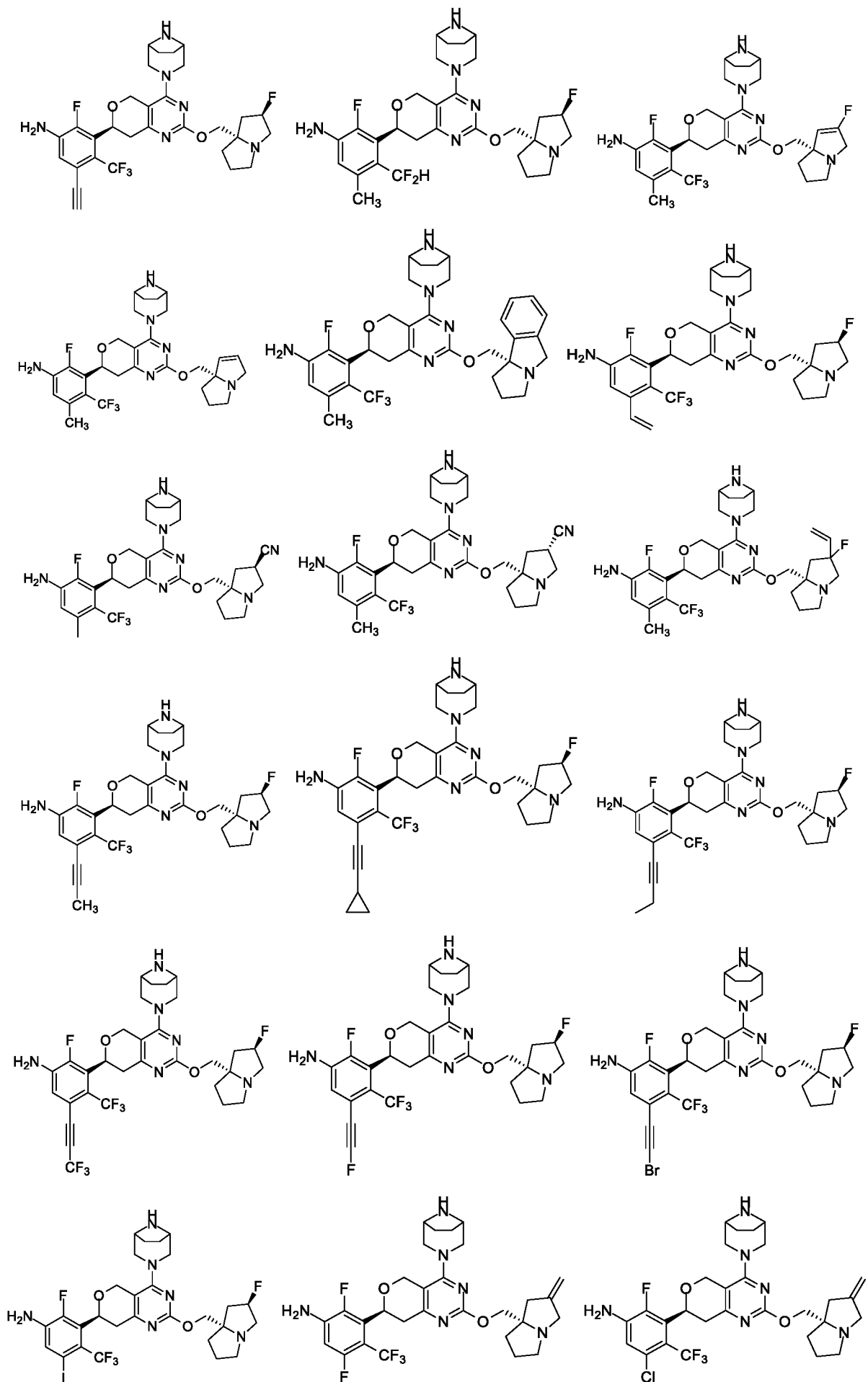


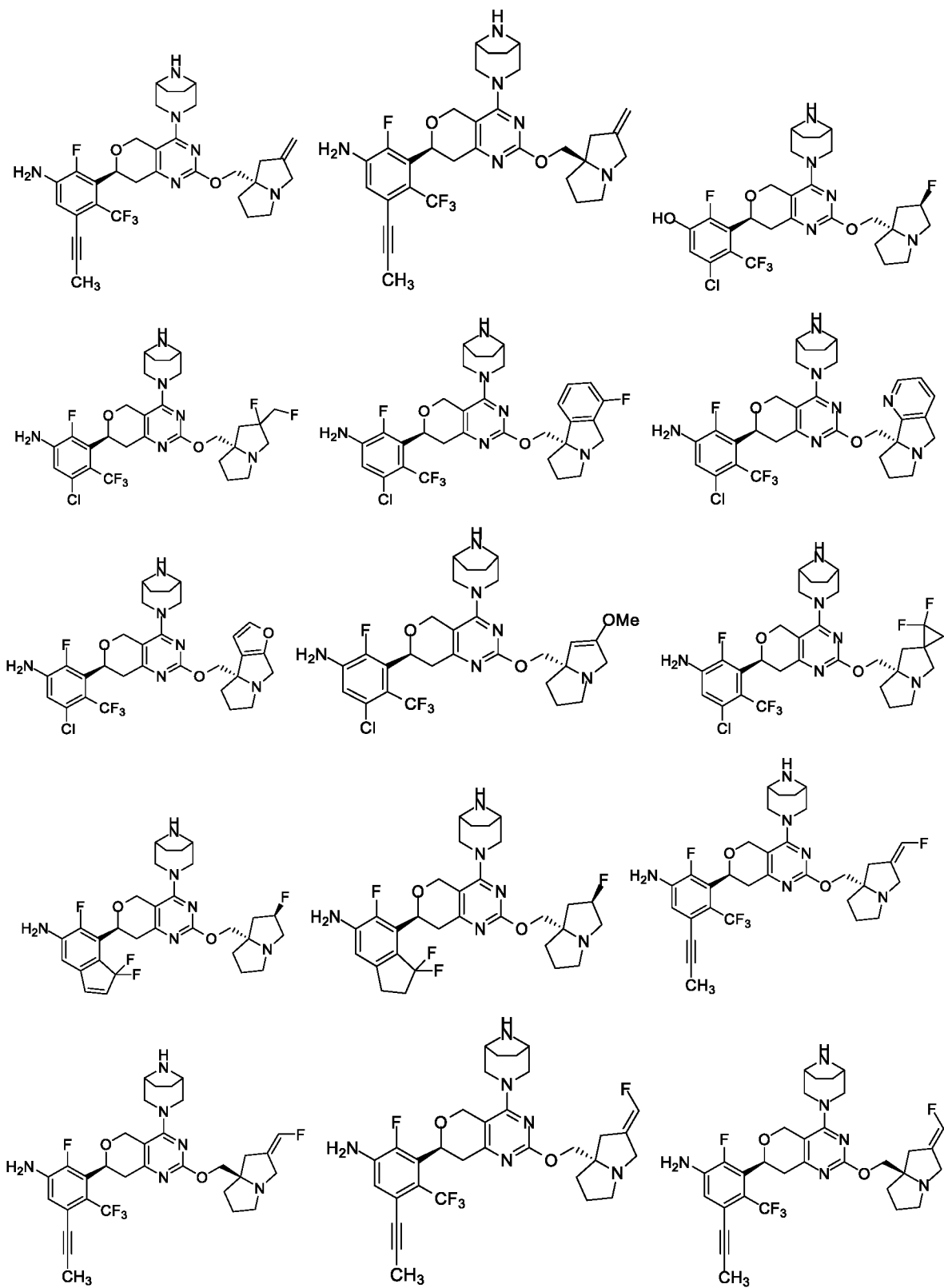


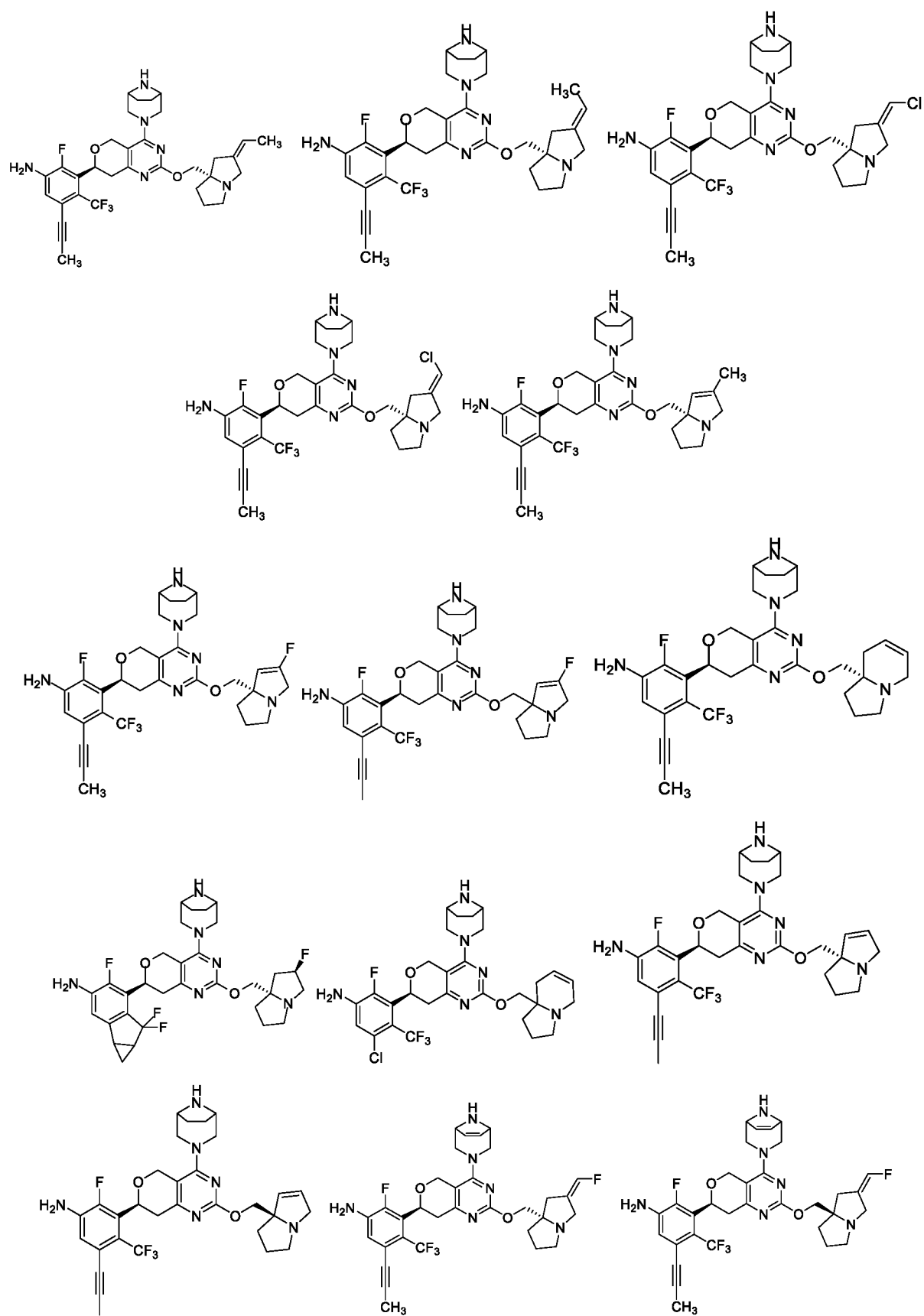


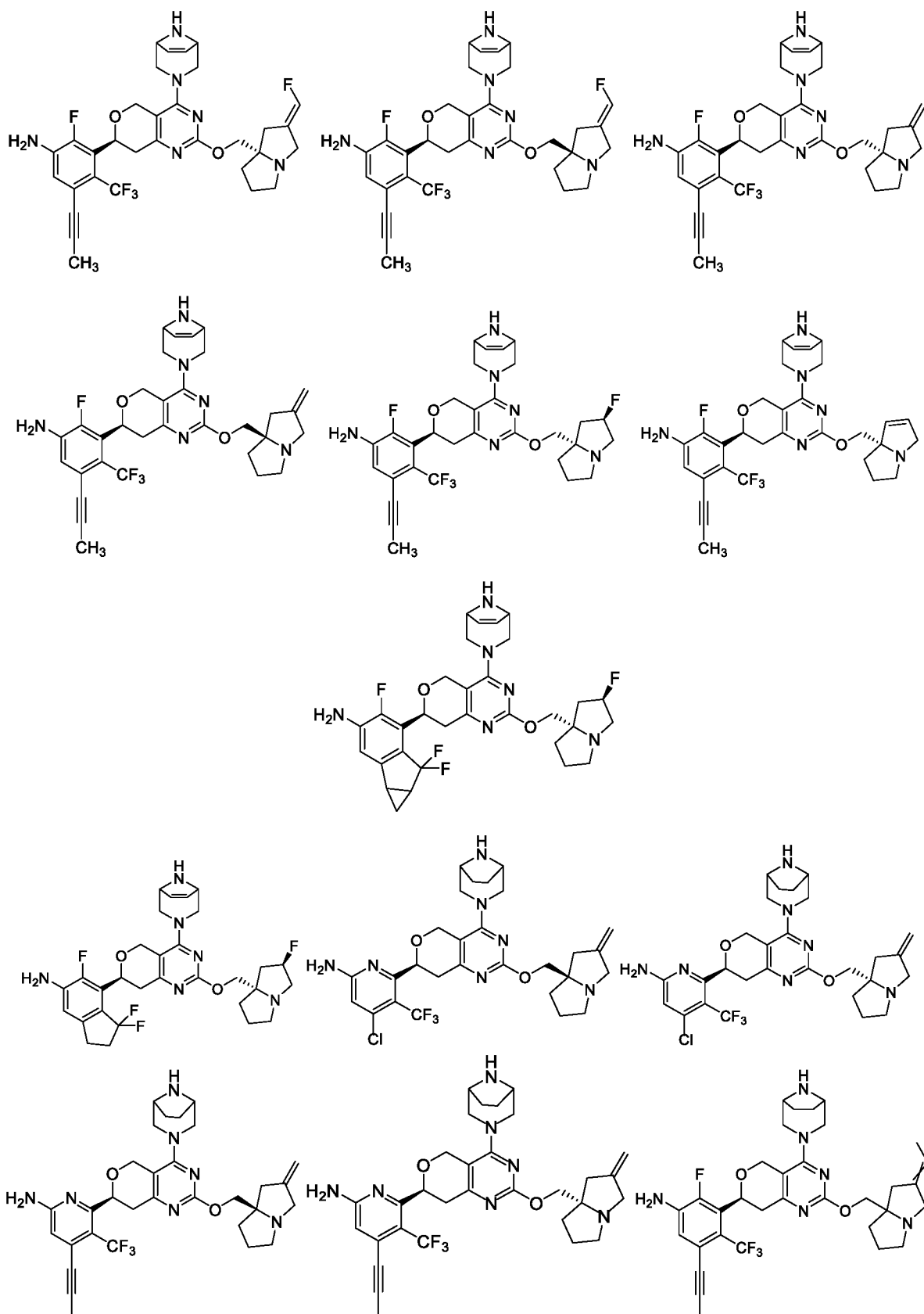


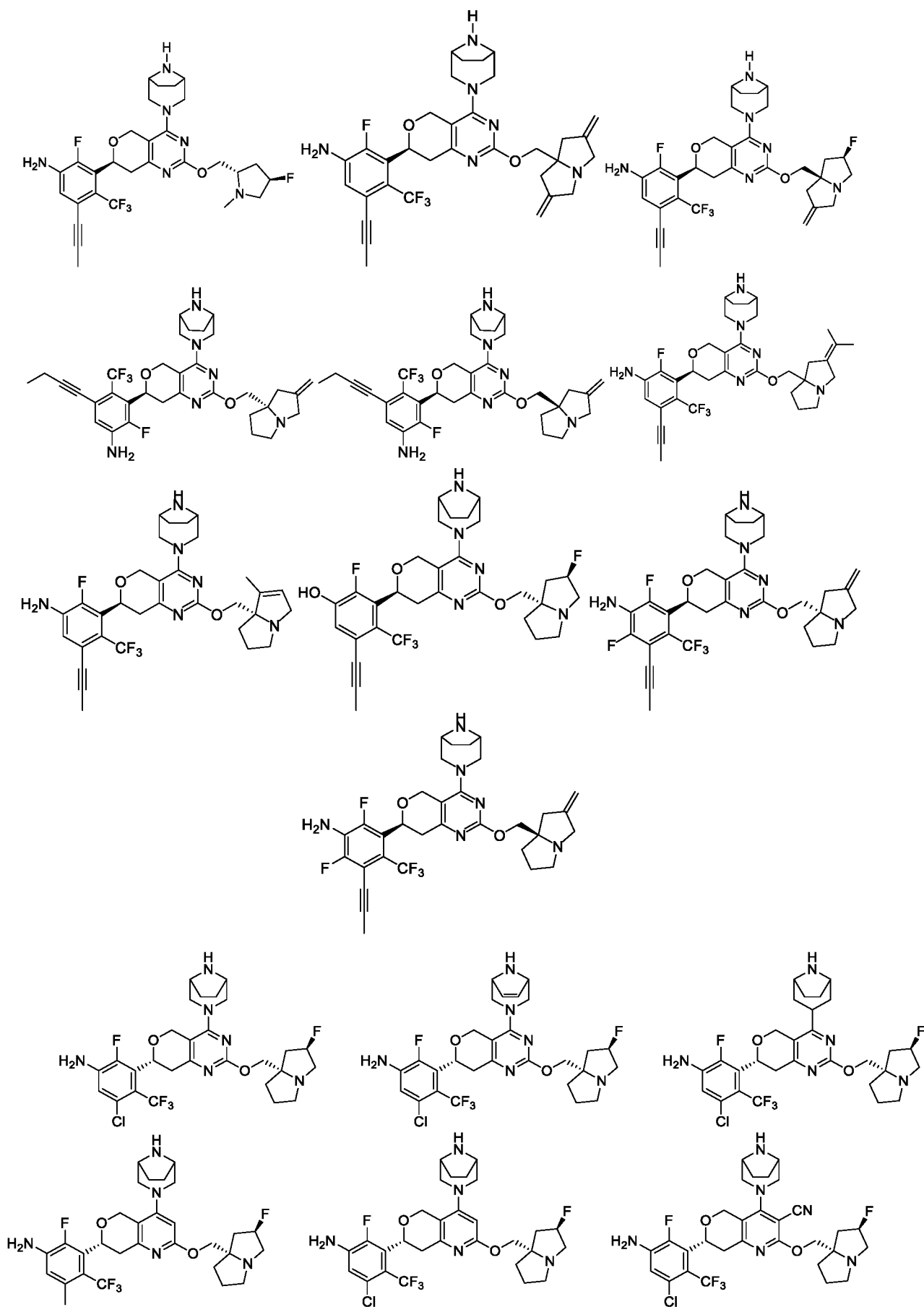


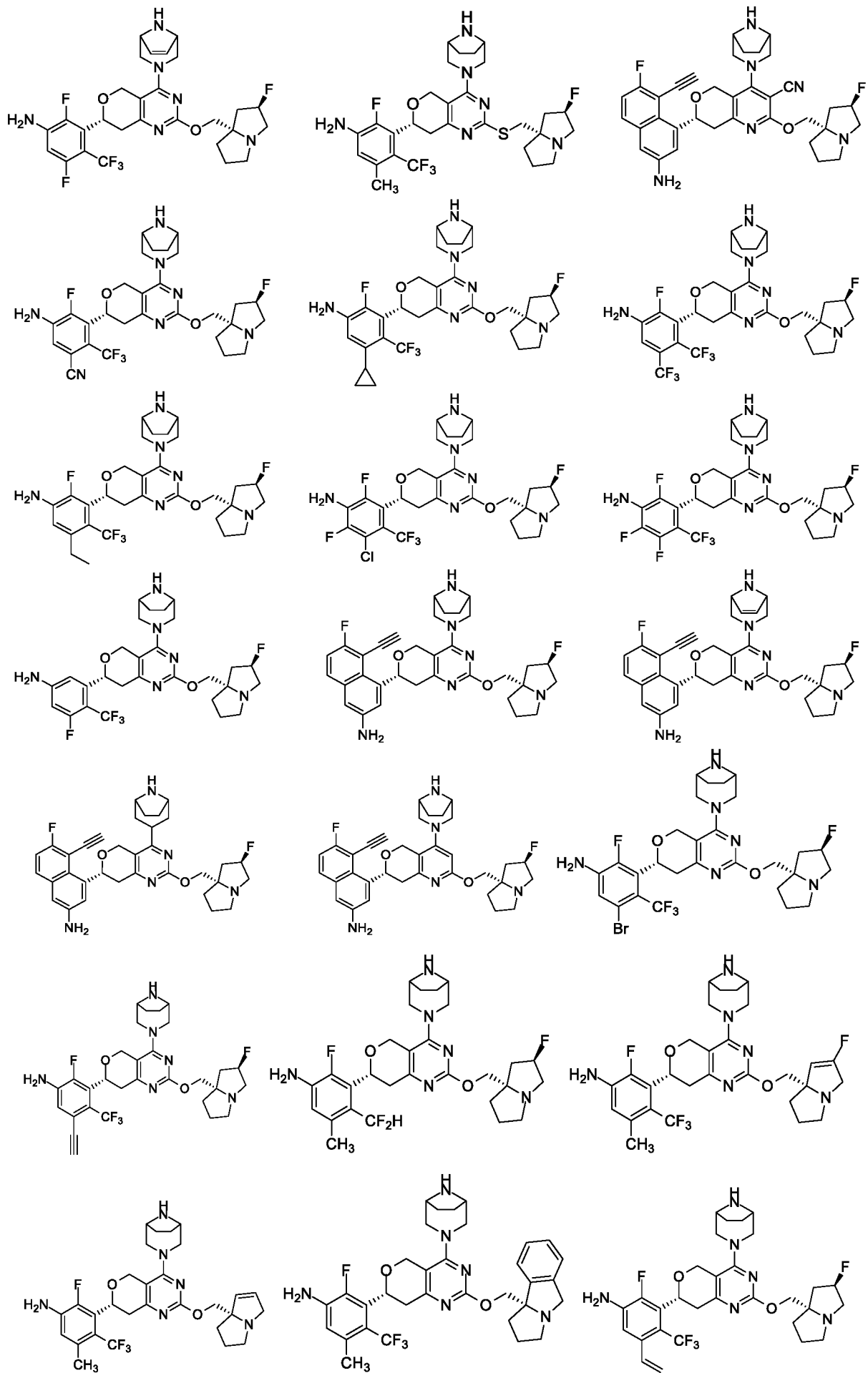


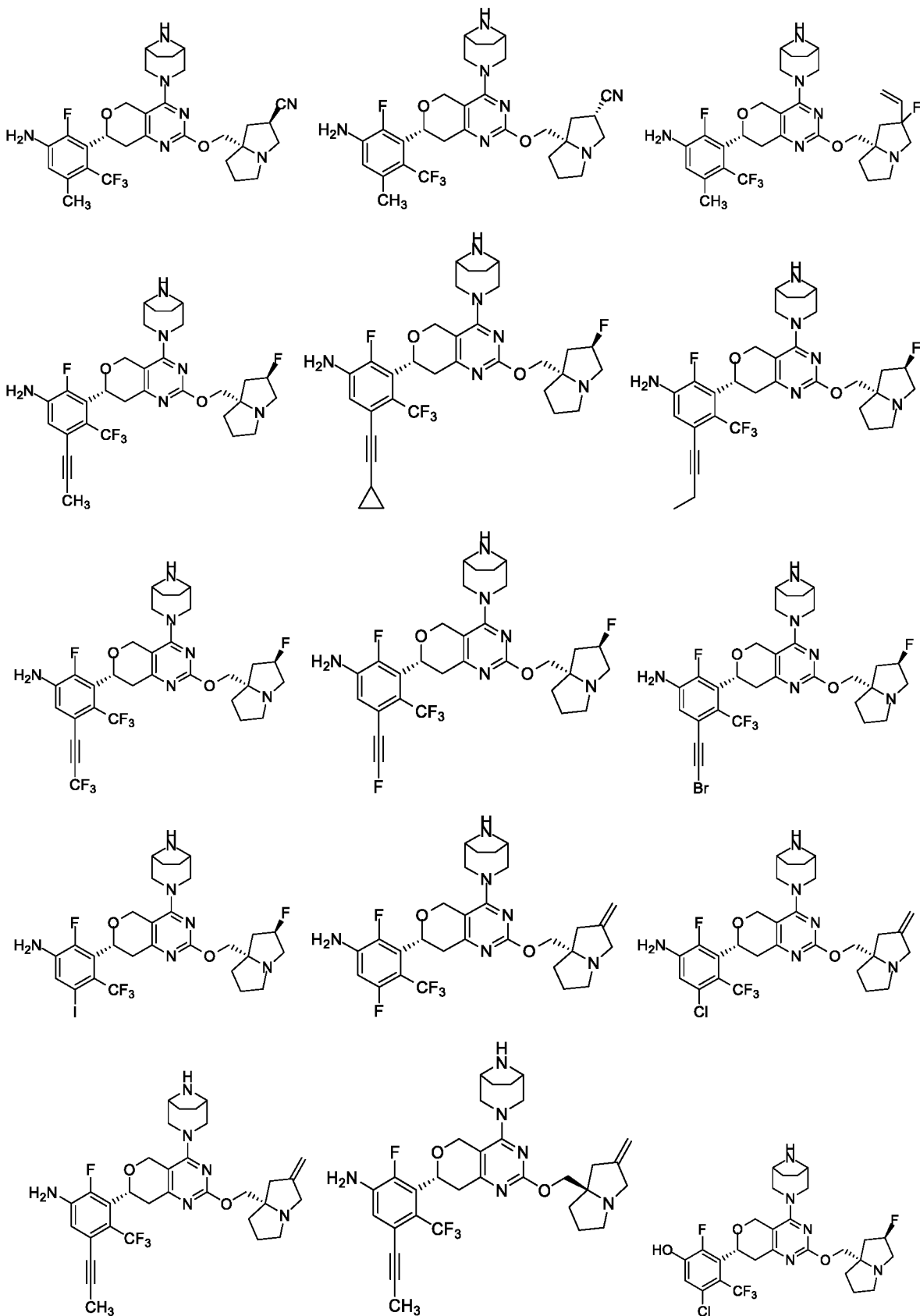


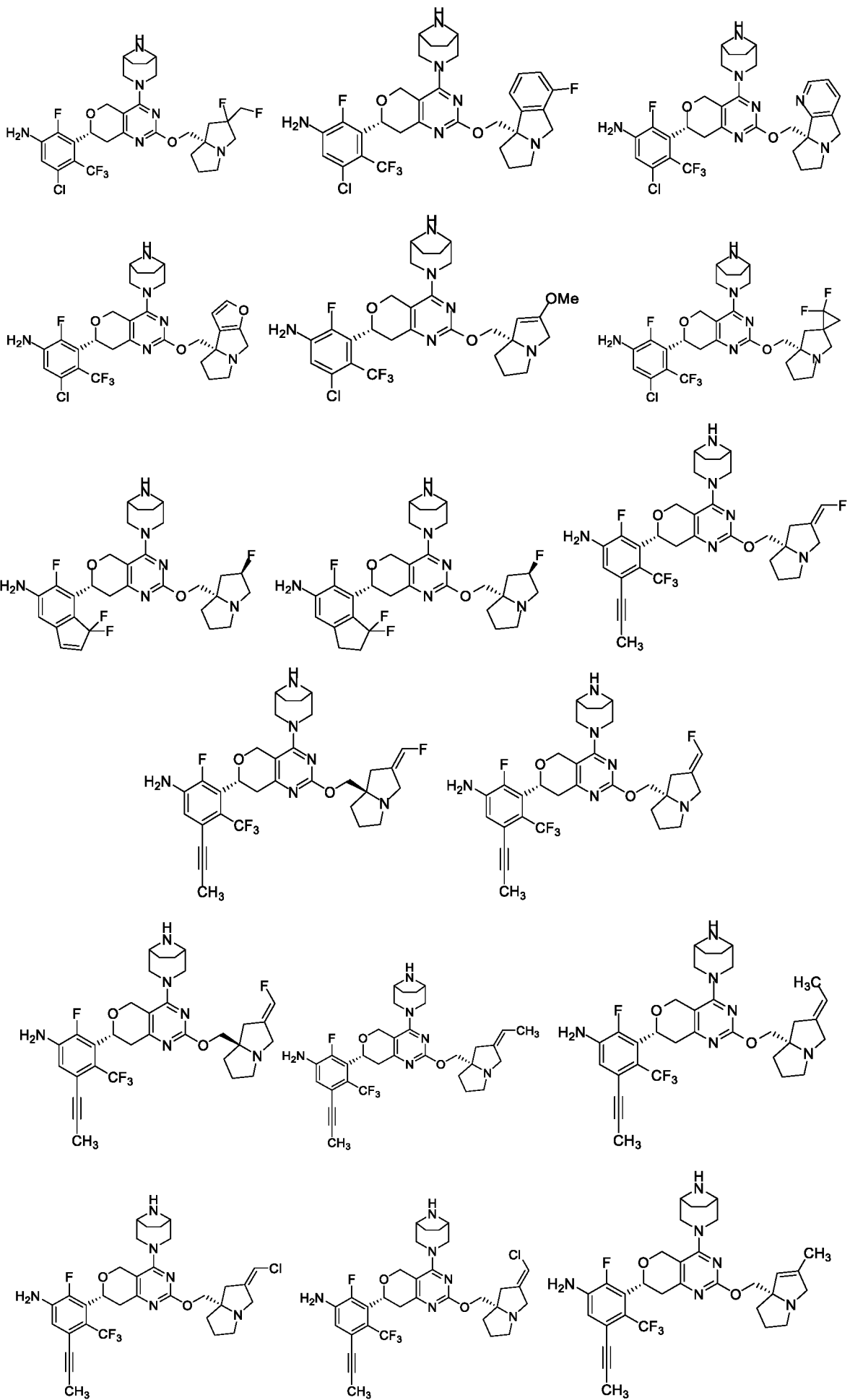


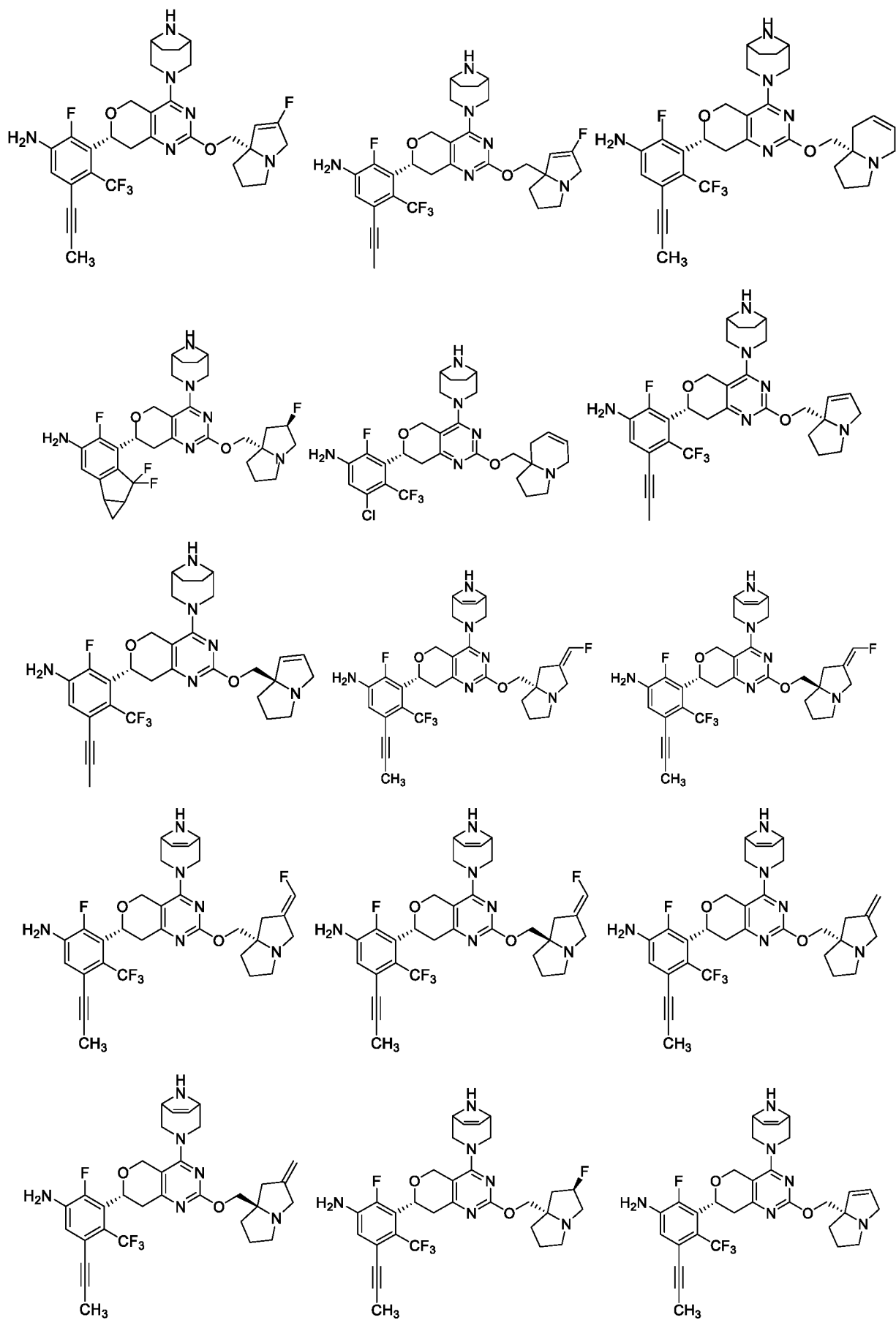


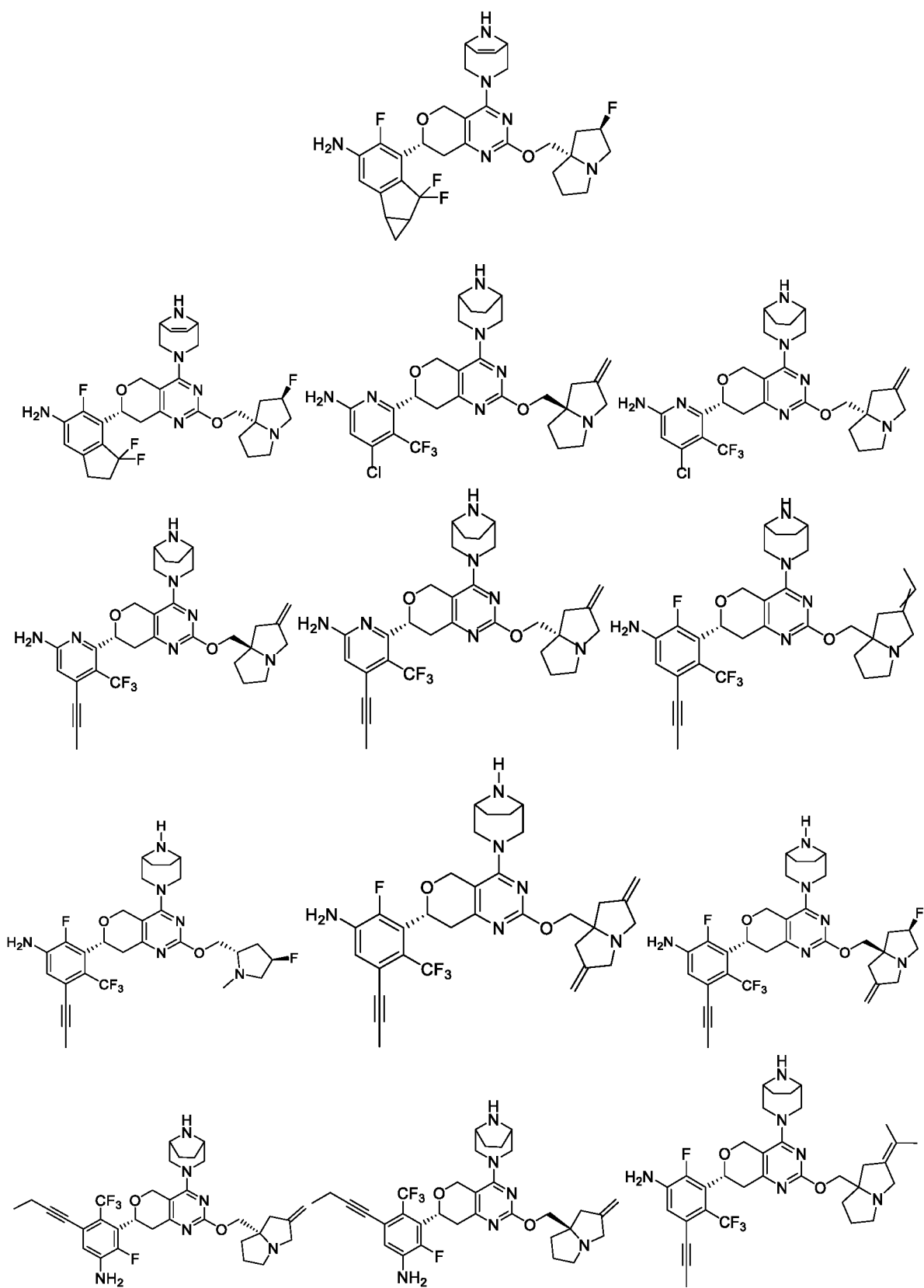


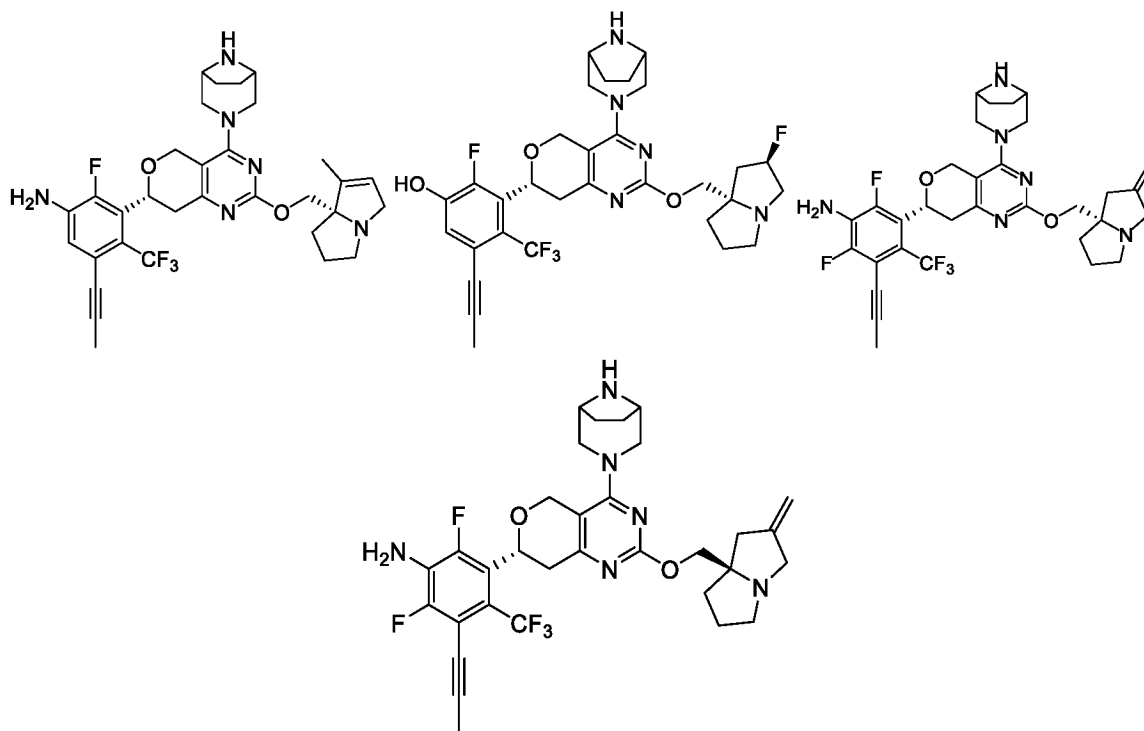












19. Применение соединения по любому из пп. 1-18 или его фармацевтически приемлемой соли в производстве лекарственного средства для лечения заболевания, ассоциированного с KRAS^{G12D} мутацией.

20. Применение соединения по любому из пп. 1-19 или его фармацевтически приемлемой соли в производстве лекарственного средства для лечения заболевания, ассоциированного с опухолью.

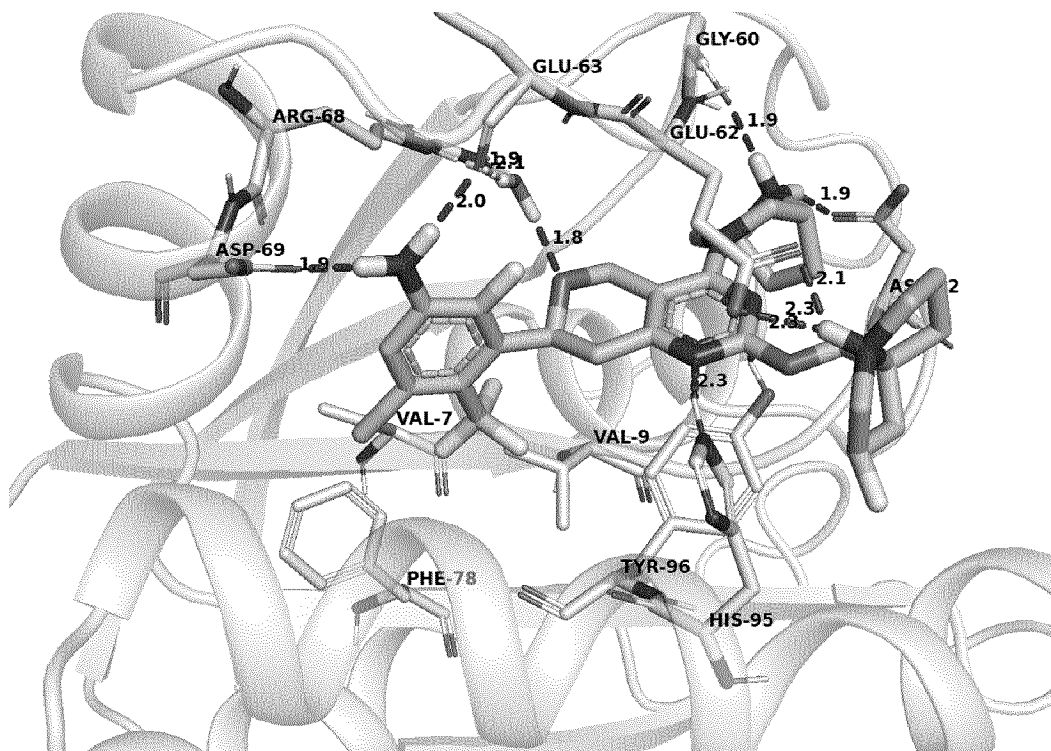


Fig. 1

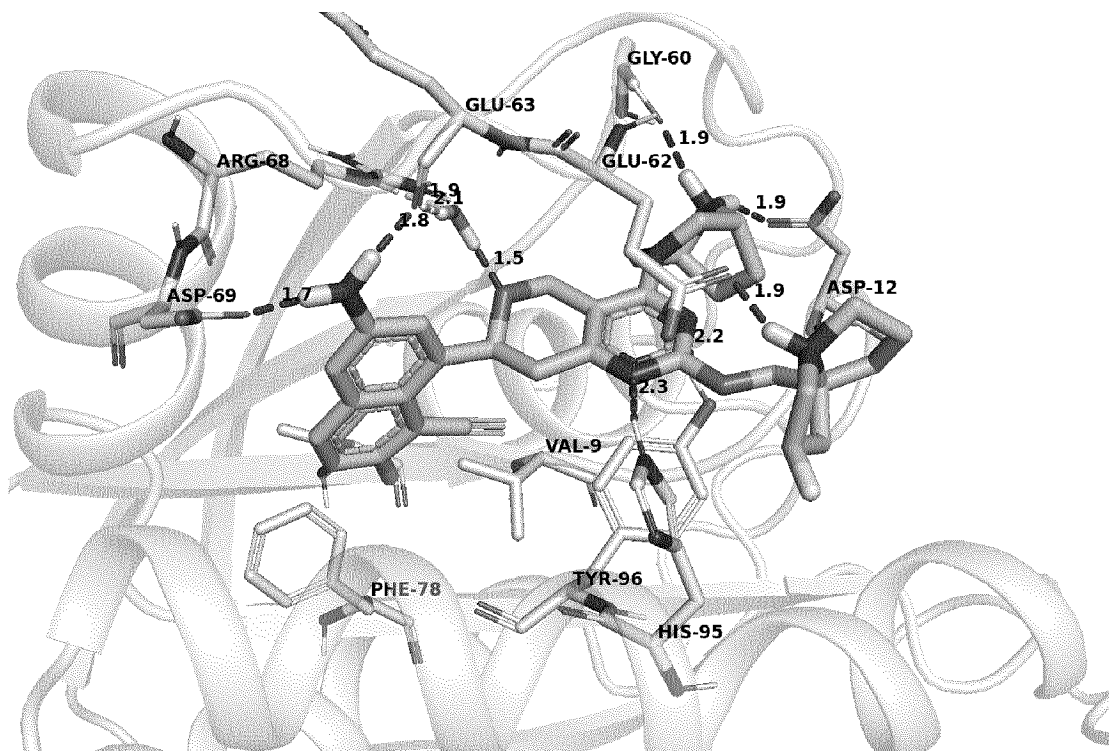


Fig. 2

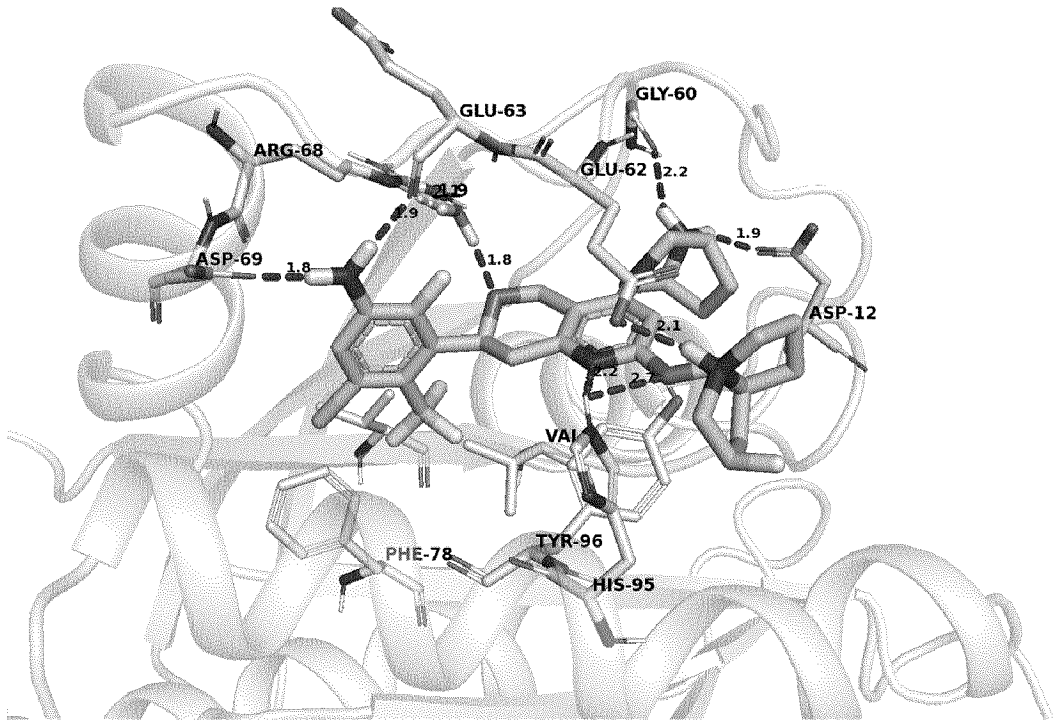


Fig. 3

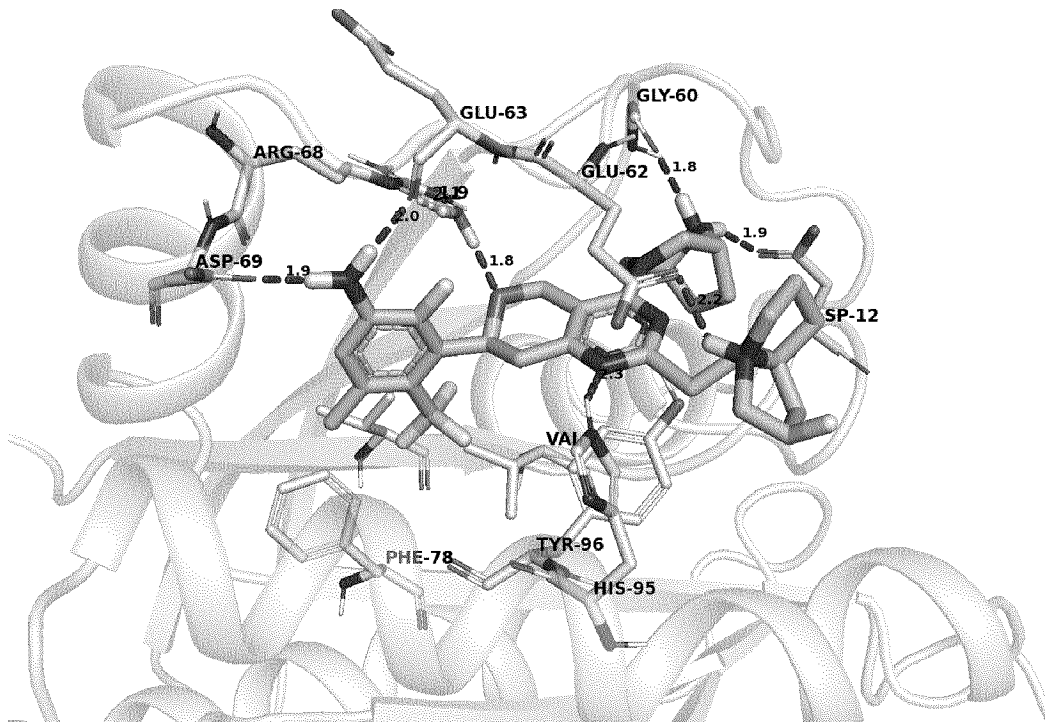


Fig. 4

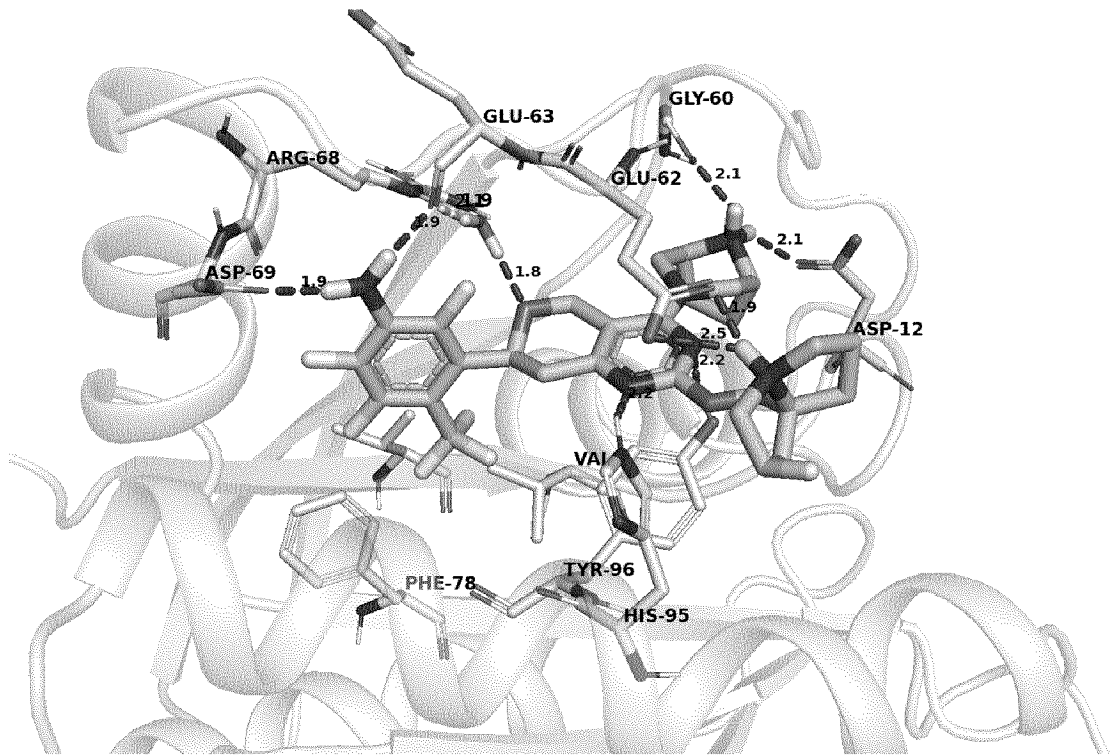


Fig. 5

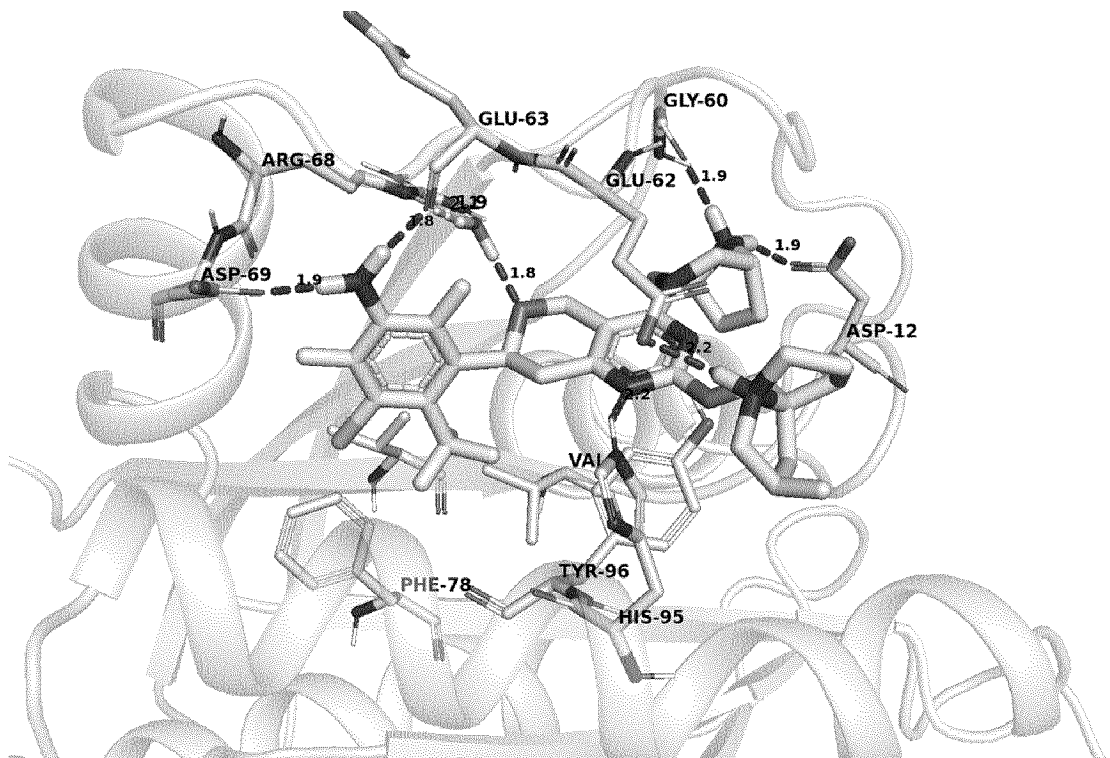


Fig. 6