

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **201992076** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.03.19

(22) Дата подачи заявки
2018.03.06

(51) Int. Cl. **C07D 513/04** (2006.01)
C07D 498/04 (2006.01)
A61K 31/542 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)

(54) ИНГИБИТОРЫ БЕТА-СЕКРЕТАЗЫ

(31) **62/468,052; 17189762.2**

(32) **2017.03.07; 2017.09.07**

(33) **US; EP**

(86) **PCT/EP2018/055401**

(87) **WO 2018/162443 2018.09.13**

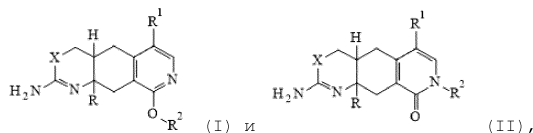
(71) Заявитель:
ЯНССЕН ФАРМАЦЕВТИКА НВ (BE)

(72) Изобретатель:

**Вос Анн Марлен, Оельрих Дэниел,
Гейсен Хенрикус Якобус Мария (BE),
Уоттс Карл Шон, Бхат Сатеш Пангала
(US), Ван Ден Кейбюс Франс Альфонс
Мария (BE)**

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к трициклическим ингибиторам бета-секретазы, имеющим структуру, показанную в виде формул (I) и (II)



и к их таутомерам и стереоизомерным формам, при этом радикалы определены в описании. Настоящее изобретение также относится к фармацевтическим композициям, содержащим такие соединения, к способам получения таких соединений и композиций и к применению таких соединений и композиций для предупреждения и лечения расстройств, в которые вовлечена бета-секретаза, таких как болезнь Альцгеймера (AD), умеренное когнитивное нарушение, угасание, деменция, деменция с тельцами Леви, синдром Дауна, деменция, ассоциированная с инсультом, деменция, ассоциированная с болезнью Паркинсона, деменция, ассоциированная с накоплением бета-амилоида, возрастная макулярная дегенерация, диабет 2 типа и другие нарушения обмена веществ.

201992076

A1

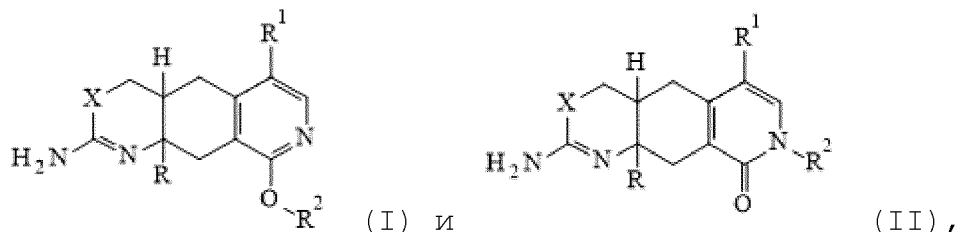
A1

201992076

ИНГИБИТОРЫ БЕТА-СЕКРЕТАЗЫ

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

Настоящее изобретение относится к трициклическим ингибиторам бета-секретазы, имеющим структуру, показанную в виде формул (I) и (II),



и к их таутомерам и стереоизомерным формам, при этом радикалы определены в описании. Настоящее изобретение также относится к фармацевтическим композициям, содержащим такие соединения, к способам получения таких соединений и композиций и к применению таких соединений и композиций для предупреждения и лечения расстройств, в которые вовлечена бета-секретаза, таких как болезнь Альцгеймера (AD), умеренное когнитивное нарушение, угасание, деменция, деменция с тельцами Леви, синдром Дауна, деменция, ассоциированная с инсультом, деменция, ассоциированная с болезнью Паркинсона, деменция, ассоциированная с накоплением бета-амилоида, возрастная макулярная дегенерация, диабет 2 типа и другие нарушения обмена веществ.

ПРЕДПОСЫЛКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Болезнь Альцгеймера (AD) представляет собой нейродегенеративное заболевание, связанное со старением. Пациенты с AD страдают от нарушений познавательной способности и потери памяти, а также от поведенческих проблем, таких как тревожность. У более чем 90% пораженных AD выявлена спорадическая форма расстройства, в то время как в менее 10% случаев наблюдается семейный или наследственный характер. В Соединенных Штатах приблизительно один из десяти людей в возрасте 65 лет имеет AD, а в возрасте 85 лет один из каждых двух индивидуумов поражен AD. Ожидаемая средняя продолжительность жизни с момента первоначального диагноза составляет 7-10 лет, и пациенты с AD нуждаются во всестороннем уходе, осуществляемом либо в доме престарелых, либо осуществляемом членами семьи. С ростом числа людей преклонного

возраста в популяции, AD становится все более серьезной медицинской проблемой. Имеющиеся в настоящее время терапевтические средства против AD направлены лишь на лечение симптомов заболевания и включают ингибиторы ацетилхолинэстеразы для улучшения когнитивных функций, а также анксиолитики и нейролептики для контроля поведенческих проблем, связанных с данным заболеванием.

Отличительными патологическими признаками в головном мозге пациентов с AD являются нейрофибриллярные клубки, которые возникают из-за гиперфосфорилирования тау-белка и амилоидных бляшек, которые образуются путем агрегации пептида бета-амилоида 1-42 (Abeta 1-42). Abeta 1-42 образует олигомеры, а затем – фибриллы, и наконец – амилоидные бляшки. Считается, что олигомеры и фибриллы являются особенно нейротоксичными и могут быть причиной большинства неврологических повреждений, связанных с AD. Средства, которые предотвращают образование Abeta 1-42, потенциально могут представлять собой средства, изменяющие течение болезни, при лечении AD. Abeta 1-42 образуется из белка-предшественника амилоида (APP), состоящего из 770 аминокислот. N-конец Abeta 1-42 расщепляется бета-секретазой (BACE1), а затем гамма-секретаза расщепляет C-конец. В дополнение к Abeta 1-42, гамма-секретаза также высвобождает Abeta 1-40, который является преобладающим продуктом расщепления наряду с Abeta 1-38 и Abeta 1-43. Данные формы Abeta также могут агрегировать с образованием олигомеров и фибрилл. Таким образом, ожидается, что ингибиторы BACE1 могут предотвращать образование Abeta 1-42, а также Abeta 1-40, Abeta 1-38 и Abeta 1-43 и могут использоваться в качестве потенциальных терапевтических средств при лечении AD.

Диабет 2 типа (T2D) обусловлен резистентностью к инсулину и недостаточной секрецией инсулина из бета-клеток поджелудочной железы, что приводит к плохому контролю уровня глюкозы в крови и гипергликемии. Для пациентов с T2D существует повышенный риск развития микрососудистых и макрососудистых заболеваний и ряда связанных с ними осложнений, включая диабетическую нефропатию, ретинопатию и сердечно-сосудистые заболевания. Увеличение распространенности T2D связано с растущим количеством людей по всему миру, ведущих малоподвижным образом жизни и потребляющих высококалорийную пищу.

Неправильное функционирование бета-клеток и последующее резкое снижение выработки инсулина, а также гипергликемия

означают начало развития T2D. Большинство современных методов лечения не предотвращают потерю массы бета-клеток, характеризующую выраженный T2D. Однако недавние разработки с аналогами GLP-1, гастрином и другими средствами демонстрируют, что можно достичь сохранения и пролиферации бета-клеток, что приводит к повышению толерантности к глюкозе и более медленному прогрессированию до состояния выраженного T2D.

Было показано, что Tmem27 выступает в роли белка, способствующего пролиферации бета-клеток и секреции инсулина. Tmem27 представляет собой мембранный гликопротеин с молекулярной массой 42 кДа, который конститутивно подвергается шеддингу с поверхности бета-клеток, что является результатом расщепления полноразмерного клеточного Tmem27. Сверхэкспрессия Tmem27 у трансгенных мышей повышает массу бета-клеток и улучшает толерантность к глюкозе в модели диабета с алиментарным ожирением (DIO-модели). Кроме того, siRNA нокаут в Tmem27 в исследовании пролиферации бета-клеток у грызунов (например, с использованием клеток INS1e) снижает скорость пролиферации, указывая на роль Tmem27 в регулировании массы бета-клеток.

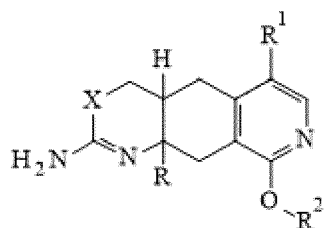
BACE2 представляет собой протеазу, ответственную за расщепление Tmem27. Она представляет собой мембраносвязанную аспартилпротеазу, которая локализована вместе с Tmem27 в бета-клетках поджелудочной железы человека. О ней также известно, что она способна расщеплять APP, IL-1R2 и ACE2. Способность расщеплять ACE2 указывает на возможную роль BACE2 в регулировании гипертонии.

Кроме того, ингибиторы BACE1 и/или BACE2 можно применять для терапевтического и/или профилактического лечения бокового амиотрофического склероза (ALS), артериального тромбоза, аутоиммунных/воспалительных заболеваний, рака, такого как рак молочной железы, заболеваний сердечно-сосудистой системы, таких как инфаркт миокарда и инсульт, дерматомиозита, синдрома Дауна, заболеваний желудочно-кишечного тракта, мультиформной глиобластомы, болезни Грейвса, болезни Хантингтона, миозита с включенными тельцами (IBM), воспалительных реакций, саркомы Капоши, болезни Костманна, красной волчанки, макрофагального миофасциита, ювенильного идиопатического артрита, гранулематозного артрита, злокачественной меланомы, множественной миеломы, ревматоидного артрита, синдрома Шегрена, спиноцеребеллярной атаксии 1 типа, спиноцеребеллярной атаксии 7

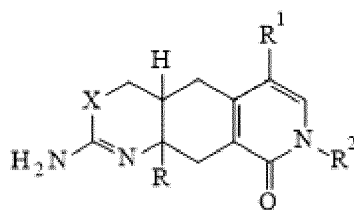
типа, болезни Уиппла и болезни Вильсона.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к соединениям формул (I) и (II),



(I) и



(II),

и к их таутомерам и стереоизомерным формам, где

X представляет собой S или O;

R представляет собой фенил, необязательно замещенный 1, 2 или 3 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена; гидроксила; C₁₋₃алкила; циано; нитро; Het; Ar; (C₁₋₃алкилокси)C₁₋₃алкил-NH-C₁₋₃алкил-; C₁₋₆алкилокси, необязательно замещенного циано или C₁₋₃алкилокси; C₂₋₆алкинилокси; тетрагидро-2Н-пиранилокси; Ar-окси-; Het-окси-; Ar-CH(OH)-; -NR^aR^b; двухвалентного заместителя в виде -NH-CH₂CH₂-O-, необязательно замещенного 1 или 2 заместителями, каждый из которых независимо выбран из галогена и оксо; C₁₋₄алкил(C=O)-; Ar(C=O)- и R³-C₁₋₆алкилокси-; где

Het выбран из пиридинила и пиримидинила, каждый из которых может быть необязательно замещен галогеном, циано, C₁₋₃алкилом, C₁₋₃алкилокси, -CF₃ и -OCF₃;

Ar представляет собой фенил, необязательно замещенный галогеном, циано, C₁₋₃алкилом, C₁₋₃алкилокси, -CF₃, -OCF₃;

R^a выбран из H или C₁₋₃алкила; и

R^b выбран из C₁₋₃алкила, (C₁₋₃алкилокси)C₁₋₃алкил(C=O)- или Het¹(C=O)-;

R³ выбран из группы, состоящей из C₃₋₆циклоалкила; Het¹; Ar¹; тетрагидро-2Н-пиранила; C₃₋₆циклоалкилокси; тетрагидро-2Н-пиранилокси; Het¹-окси- и Ar¹-окси-; где

Ar¹ представляет собой фенил, необязательно замещенный галогеном, циано, C₁₋₃алкилом, C₁₋₃алкилокси, циано- C₁₋₃алкилокси -CF₃ или -OCF₃;

Het¹ выбран из группы, состоящей из пиридила, пиримидинила, пиазинила, пиридазинила, тиенила, пиазолила, изоксазолила, 1Н-имидазолила, тиазолила, оксазолила, 1Н-индолила и 1Н-индазолила; каждый из которых необязательно замещен 1 или 2 заместителями,

каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена, циано,

C_{1-3} алкила, C_{1-3} алкилокси, $-CF_3$ и $-OCF_3$;

R^1 выбран из группы, состоящей из водорода; галогена; циано; C_{1-3} алкила, необязательно замещенного гидроксильной группой или C_{1-3} алкилокси; C_{3-6} циклоалкила; C_{3-6} циклоалкенила; (C_{3-6} циклоалкил) C_{1-3} алкила; C_{1-3} алкилокси; $-NR^xR^y$; C_{1-3} алкилокси- $(C=O)-$; C_{1-3} алкилокси- C_{2-3} алкенила; (галоген-фенил)- C_{2-3} алкенил-; гетероциклила; гомоарила; гетероарила; C_{3-6} циклоалкилокси; гомоарилокси; гетероарилокси; гомоарил- CH_2 -окси и гетероарил- CH_2 -окси; где

R^x представляет собой водород или C_{1-3} алкил;

R^y представляет собой C_{1-3} алкил или фенил, необязательно замещенный 1, 2 или 3 заместителями, каждый из которых независимо выбран из галогена, C_{1-3} алкила и C_{1-3} алкилокси;

гетероциклил выбран из группы, состоящей из пиперидинила, морфолинила,

3,4-дигидро-2Н-пиранила и тетрагидро-2Н-пиранила, каждый из которых необязательно замещен 1, 2 или 3 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из C_{1-3} алкила, C_{3-6} циклоалкила и оксо;

гомоарил представляет собой фенил, необязательно замещенный 1, 2 или 3 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена, гидроксильной группы, циано, C_{1-3} алкила, моно-галоген- C_{1-3} алкила, поли-галоген- C_{1-3} алкила, циано- C_{1-3} алкила, C_{1-3} алкилокси, моно-галоген- C_{1-3} алкилокси, поли-галоген- C_{1-3} алкилокси, C_{1-3} алкилокси- $(C=O)-$, фенилокси-, $NR^{1a}R^{1b}$, $-(C=O)NR^{1a}R^{1b}$, 1Н-пирозолила, необязательно замещенного 1 или 2 заместителями в виде метила; или представляет собой нафталенил, необязательно замещенный C_{1-3} алкилом или C_{1-3} алкилокси; где R^{1a} представляет собой водород или C_{1-3} алкил, и R^{1b} представляет собой C_{1-3} алкил, или $NR^{1a}R^{1b}$ образуют вместе 1-пирролидинил, 1-пиперидинил, 4-пиперазинил или 4-морфолинил;

гетероарил выбран из группы, состоящей из пиридила, 2-оксо-1,2-дигидропиридинила, 6-оксо-1,6-дигидропиридинила, пиримидинила, пиазинила, пиридазинила, пиазолила, изоксазолила, оксазолила, тиофенила, индолила, индазолила, 1-бензотиенила, 1-бензофуранила, изохинолинила, 5,6,7,8-тетрагидрохинолинила, 3,4-дигидро-2Н-хроменила и 3,4-дигидро-2Н-пиридо[3,2-*b*][1,4]оксазинила, каждый из которых необязательно замещен 1, 2 или 3 заместителями, каждый из которых независимо

выбран из группы, состоящей из галогена, циано, C_{1-3} алкила, моно-галоген- C_{1-3} алкила, поли-галоген- C_{1-3} алкила, C_{1-3} алкилокси, C_3 -6циклоалкила, тетрагидро-2H-пиранила, фенила, необязательно замещенного C_{1-3} алкилом, и $-NR^{1c}R^{1d}$; где

R^{1c} представляет собой водород или C_{1-3} алкил, R^{1d} представляет собой C_{1-3} алкил, или $NR^{1c}R^{1d}$ образуют вместе 1-пирролидинил, 1-пиперидинил, 4-пиперазинил, 4-морфолинил или 1H-имидазолил, каждый из которых необязательно замещен C_{1-3} алкилом; и

R^2 представляет собой водород или C_{1-3} алкил;

а также к их фармацевтически приемлемым солям присоединения и сольватам.

Иллюстрацией настоящего изобретения является фармацевтическая композиция, содержащая фармацевтически приемлемый носитель и любое из соединений, описанных выше. Иллюстрацией настоящего изобретения является фармацевтическая композиция, полученная путем смешивания любого из соединений, описанных выше, и фармацевтически приемлемого носителя. Иллюстрацией настоящего изобретения является способ получения фармацевтической композиции, предусматривающий смешивание любого из соединений, описанных выше, и фармацевтически приемлемого носителя.

Примером настоящего изобретения являются способы лечения расстройства, опосредованного ферментом бета-секретазой, предусматривающие введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества любого из соединений или фармацевтических композиций, описанных выше.

Дополнительным примером настоящего изобретения являются способы ингибирования фермента бета-секретазы, включающие введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества любого из соединений или фармацевтических композиций, описанных выше.

Примером настоящего изобретения является способ лечения расстройства, выбранного из группы, состоящей из болезни Альцгеймера, умеренного когнитивного нарушения, угасания, деменции, деменции с тельцами Леви, синдрома Дауна, деменции, ассоциированной с инсультом, деменции, ассоциированной с болезнью Паркинсона, деменции, ассоциированной с накоплением бета-амилоида, и возрастной макулярной дегенерации, предпочтительно болезни Альцгеймера, диабета 2 типа и других нарушений обмена веществ, включающий введение субъекту,

нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества любого из соединений или фармацевтических композиций, описанных выше.

Другим примером настоящего изобретения является любое из соединений, описанных выше, предназначенное для применения в лечении: (a) болезни Альцгеймера, (b) умеренного когнитивного нарушения, (c) угасания, (d) деменции, (e) деменции с тельцами Леви, (f) синдрома Дауна, (g) деменции, ассоциированной с инсультом, (h) деменции, ассоциированной с болезнью Паркинсона, (i) деменции, ассоциированной с накоплением бета-амилоида, или (j) возрастной макулярной дегенерации, (k) диабета 2 типа и (l) других нарушений обмена веществ у нуждающегося в этом лечении субъекта.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение направлено на соединения формулы (I), определенные в настоящем документе выше, и их фармацевтически приемлемые соли присоединения и сольваты. Соединения формулы (I) представляют собой ингибиторы фермента бета-секретазы (также известного как фермент, расщепляющий по бета-сайту, BACE, BACE1, Asp2 или мемапсин 2 или BACE2) и могут применяться в лечении болезни Альцгеймера, умеренного когнитивного нарушения, угасания, деменции, деменции, ассоциированной с инсультом, деменции с тельцами Леви, синдрома Дауна, деменции, ассоциированной с болезнью Паркинсона, деменции, ассоциированной с накоплением бета-амилоида, и возрастной макулярной дегенерации, предпочтительно болезни Альцгеймера, умеренного когнитивного нарушения или деменции, более предпочтительно болезни Альцгеймера, диабета 2 типа и других нарушений обмена веществ.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к соединениям формул (I) и (III), описанным в данном документе, где

X представляет собой S или O;

R представляет собой фенил, необязательно замещенный 1, 2 или 3 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена; гидроксила; C₁₋₃алкила; циано; нитро; Het; Ar; (C₁₋₃алкилокси)C₁₋₃алкил-NH-C₁₋₃алкил-; C₁₋₆алкилокси, необязательно замещенного циано или C₁₋₃алкилокси; C₂₋₆алкинилокси; тетрагидро-2H-пиранилокси; Ar-окси-; Het-окси; NR^aR^b; двухвалентного заместителя в виде -NH-CH₂CH₂-O-,

необязательно замещенного 1 или 2 заместителями, каждый из которых независимо выбран из галогена и оксо; и R^3 - C_{1-6} алкилокси-; где

Het выбран из пиридинила и пиримидинила, каждый из которых может быть optionally замещен циано;

Ar представляет собой фенил;

R^a выбран из H или C_{1-3} алкила; и

R^b выбран из C_{1-3} алкила и $(C_{1-3}$ алкилокси) C_{1-3} алкил(C=O)-;

R^3 выбран из группы, состоящей из C_{3-6} циклоалкила; Het¹; Ar¹; тетрагидро-2H-пиранила; C_{3-6} циклоалкилокси; тетрагидро-2H-пиранилокси; Het¹-окси- и Ar¹-окси-; где

Ar¹ представляет собой фенил, optionally замещенный галогеном, циано, C_{1-3} алкилом и C_{1-3} алкилокси;

Het¹ выбран из группы, состоящей из пиридила, пиримидинила, пиазинила, пиридазинила, тиенила, пиазолила, изоксазолила, 1H-имидазолила, тиазолила, оксазолила, 1H-индолила и 1H-индазолила, каждый из которых optionally замещен 1 или 2 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена, циано и C_{1-3} алкила;

R^1 выбран из группы, состоящей из водорода; галогена; циано; C_{1-3} алкила, optionally замещенного гидроксилом или C_{1-3} алкилокси; C_{3-6} циклоалкила; C_{1-3} алкилокси; C_{1-3} алкилокси-(C=O)-; C_{1-3} алкилокси- C_{2-3} алкенила; (галоген-фенил)- C_{2-3} алкенил-; гетероциклила; гомоарила; гетероарила; гомоарил-CH₂-окси и гетероарил-CH₂-окси; где

гетероциклил представляет собой 3,4-дигидро-2H-пиранил;

гомоарил представляет собой фенил, optionally замещенный 1, 2 или 3 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена, гидроксила, циано, C_{1-3} алкила, моно-галоген- C_{1-3} алкила, поли-галоген- C_{1-3} алкила, циано- C_{1-3} алкила, C_{1-3} алкилокси, моно-галоген- C_{1-3} алкилокси, поли-галоген- C_{1-3} алкилокси, C_{1-3} алкилокси-(C=O)-, фенилокси-, NR^{1a}R^{1b} и -(C=O)NR^{1a}R^{1b}; или представляет собой нафталенил, optionally замещенный C_{1-3} алкилом или C_{1-3} алкилокси; где R^{1a} представляет собой водород или C_{1-3} алкил, и R^{1b} представляет собой C_{1-3} алкил, или NR^{1a}R^{1b} образуют вместе 4-морфолинил;

гетероарил выбран из группы, состоящей из пиридила, 2-оксо-1,2-дигидропиридинила, 6-оксо-1,6-дигидропиридинила, пиримидинила, пиазинила, пиридазинила, пиазолила, изоксазолила, оксазолила, тиофенила, индолила, индазолила, 1-

бензотиенила, 1-бензофуранила, изохинолинила, 5,6,7,8-тетрагидрохинолинила, 3,4-дигидро-2Н-хроменила и 3,4-дигидро-2Н-пиридо[3,2-*b*][1,4]оксазинила, каждый из которых необязательно замещен 1, 2 или 3 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена, циано, C_{1-3} алкила, моногалоген- C_{1-3} алкила, полигалоген- C_{1-3} алкила, C_{1-3} алкилокси, тетрагидро-2Н-пиранила, фенила, необязательно замещенного C_{1-3} алкилом, и $-NR^{1c}R^{1d}$; где

R^{1c} представляет собой водород или C_{1-3} алкил, R^{1d} представляет собой C_{1-3} алкил, или $NR^{1c}R^{1d}$ образуют вместе 1-пирролидинил, 1-пиперидинил, 4-пиперазинил, 4-морфолинил или 1Н-имидазолил, каждый из которых необязательно замещен C_{1-3} алкилом; и

R^2 представляет собой водород или C_{1-3} алкил.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к соединениям формул (I) и (II), описанным в данном документе, где

X представляет собой S или O;

R представляет собой фенил, необязательно замещенный 1, 2 или 3 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена; гидроксила; нитро; Het; C_{1-6} алкилокси, необязательно замещенного циано или C_{1-3} алкилокси; C_{2-6} алкинилокси; тетрагидро-2Н-пиранилокси; Het-окси-; $-NR^aR^b$; двухвалентного заместителя в виде $-NH-CH_2CH_2-O-$, необязательно замещенного 1 или 2 заместителями, каждый из которых независимо выбран из галогена и оксо; и R^3-C_{1-6} алкилокси-; где

Het выбран из пиридинила и пиримидинила, каждый из которых может быть необязательно замещен циано;

Ar представляет собой фенил;

R^a представляет собой H; и

R^b представляет собой $(C_{1-3}$ алкилокси) C_{1-3} алкил(C=O)-;

R^3 выбран из группы, состоящей из C_{3-6} циклоалкила; Het¹; Ar¹; тетрагидро-2Н-пиранила; C_{3-6} циклоалкилокси; тетрагидро-2Н-пиранилокси; Het¹-окси- и Ar¹-окси-; где

Ar¹ представляет собой фенил, необязательно замещенный галогеном, циано, C_{1-3} алкилом и C_{1-3} алкилокси;

Het¹ выбран из группы, состоящей из пиридила, пиримидинила, изоксазолила, 1Н-имидазолила, тиазолила и 1Н-индазолила; каждый из которых необязательно замещен 1 или 2 заместителями, каждый из которых независимо выбран из C_{1-3} алкила;

R^1 выбран из группы, состоящей из водорода; галогена; циано;

C_{1-3} алкила, необязательно замещенного гидроксильной группой или C_{1-3} алкилокси; C_{3-6} циклоалкила; C_{1-3} алкилокси; C_{1-3} алкилокси- $(C=O)-$; C_{1-3} алкилокси- C_{2-3} алкенила; (галоген-фенил)- C_{2-3} алкенил-; гетероциклила; гомоарила; гетероарила; гомоарил- CH_2 -окси и гетероарил- CH_2 -окси; где

гетероциклил представляет собой 3,4-дигидро-2H-пиранил;

гомоарил представляет собой фенил, необязательно замещенный 1, 2 или 3 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена, гидроксильной группы, циано, C_{1-3} алкила, моно-галоген- C_{1-3} алкила, поли-галоген- C_{1-3} алкила, циано- C_{1-3} алкила, C_{1-3} алкилокси, моно-галоген- C_{1-3} алкилокси, поли-галоген- C_{1-3} алкилокси, C_{1-3} алкилокси- $(C=O)-$, фенилокси-, $NR^{1a}R^{1b}$ и $-(C=O)NR^{1a}R^{1b}$; или представляет собой нафталенил, необязательно замещенный C_{1-3} алкилом или

C_{1-3} алкилокси; где R^{1a} представляет собой водород или C_{1-3} алкил, и R^{1b} представляет собой C_{1-3} алкил, или $NR^{1a}R^{1b}$ образуют вместе 4-морфолинил;

гетероарил выбран из группы, состоящей из пиридила, 2-оксо-1,2-дигидропиридинила, 6-оксо-1,6-дигидропиридинила, пиримидинила, пиазинила, пиридазинила, пиазолила, изоксазолила, оксазолила, тиофенила, индолила, индазолила, 1-бензотиенила, 1-бензофуранила, изохинолинила, 5,6,7,8-тетрагидрохинолинила, 3,4-дигидро-2H-хроменила и 3,4-дигидро-2H-пиридо[3,2-b][1,4]оксазинила, каждый из которых необязательно замещен 1, 2 или 3 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена, циано, C_{1-3} алкила, моно-галоген- C_{1-3} алкила, поли-галоген- C_{1-3} алкила, C_{1-3} алкилокси, тетрагидро-2H-пиранила, фенила, необязательно замещенного C_{1-3} алкилом, и $-NR^{1c}R^{1d}$; где

R^{1c} представляет собой водород или C_{1-3} алкил, R^{1d} представляет собой C_{1-3} алкил, или $NR^{1c}R^{1d}$ образуют вместе 1-пирролидинил, 4-пиперазинил или 1H-имидазолил, каждый из которых необязательно замещен C_{1-3} алкилом; и

R^2 представляет собой водород или C_{1-3} алкил.

В дополнительном варианте осуществления настоящее изобретение относится к соединениям формул (I) и (II), описанным в данном документе, где

R представляет собой фенил, необязательно замещенный 1, 2 или 3 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена и Het; где

Het выбран из пиридинила и пиримидинила, каждый из которых может быть необязательно замещен циано.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к соединениям формул (I) и (II), описанным в данном документе, где

X представляет собой S или O;

R представляет собой фенил, необязательно замещенный 1, 2 или 3 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена; C₁₋₆алкилокси, необязательно замещенного циано или C₁₋₃алкилокси; C₂₋₆алкинилокси; тетрагидро-2Н-пиранилокси и R³-C₁₋₆алкилокси-; где

R³ выбран из группы, состоящей из C₃₋₆циклоалкила; Ar¹; тетрагидро-2Н-пиранила; C₃₋₆циклоалкилокси; тетрагидро-2Н-пиранилокси; Het¹-окси- и Ar¹-окси-; где

Ar¹ представляет собой фенил, необязательно замещенный галогеном, циано, C₁₋₃алкилом и C₁₋₃алкилокси;

Het¹ выбран из группы, состоящей из пиридила, пиримидинила, изоксазолила, 1Н-имидазолила, тиазолила и 1Н-индазолила; каждый из которых необязательно замещен 1 или 2 заместителями, каждый из которых независимо выбран из C₁₋₃алкила;

R¹ выбран из группы, состоящей из водорода; галогена; гомоарила и гетероарила; где

гомоарил представляет собой фенил, необязательно замещенный 1, или 2, или 3 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена, циано, C₁₋₃алкила и

C₁₋₃алкилокси;

гетероарил выбран из группы, состоящей из пиридила и изоксазолила, каждый из которых необязательно замещен 1 или 2 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена, C₁₋₃алкила и C₁₋₃алкилокси; и

R² представляет собой водород или C₁₋₃алкил.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к соединениям формул (I) и (II), описанным в данном документе, где

X представляет собой S или O;

R¹ представляет собой гомоарил или гетероарил; где

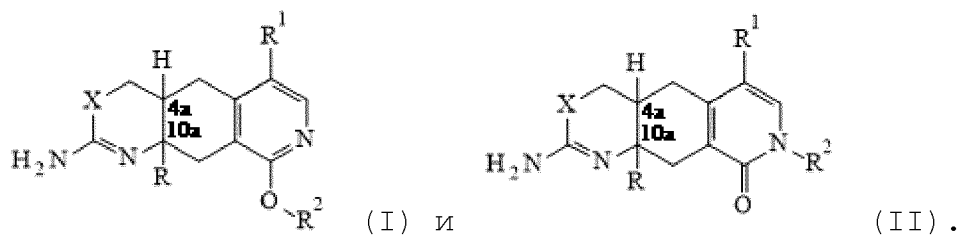
гомоарил представляет собой фенил, необязательно замещенный 1 или 2 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена, циано и C₁₋₃алкила;

гетероарил выбран из группы, состоящей из пиридила и

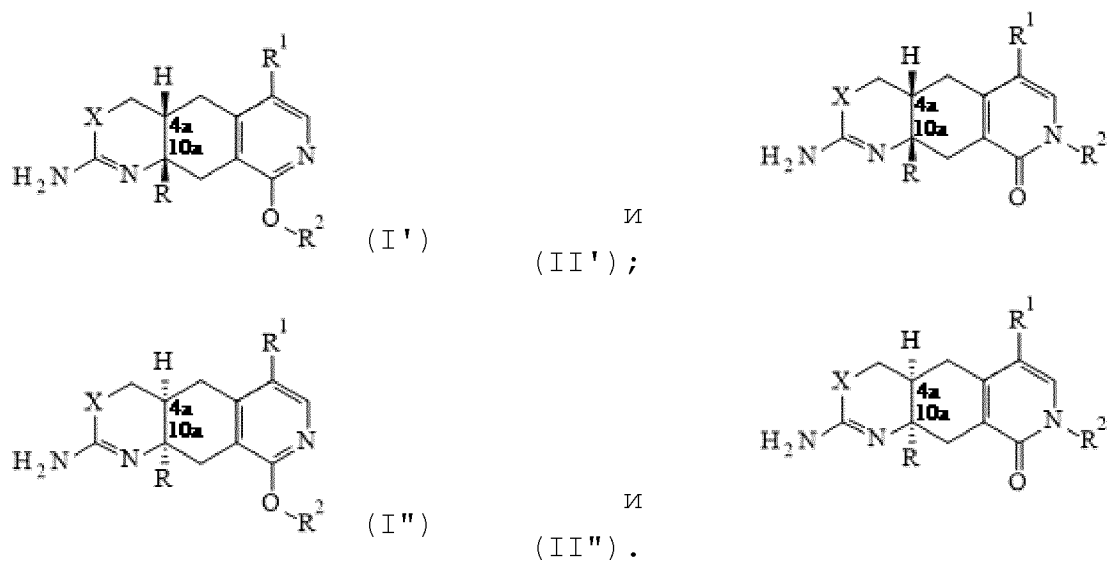
изоксазолила, каждый из которых необязательно замещен 1 или 2 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена, циано и C_{1-3} алкила; и

R^2 представляет собой водород или C_{1-3} алкил.

В частности, настоящее изобретение относится к соединениям, где углеродные центры C_{4a} и C_{10a} в трициклическом каркасе находятся в *цис*-конфигурации (т. е. H и R проецируются в направлении одной и той же стороны плоскости каркаса)



Таким образом, в частности, настоящее изобретение относится к соединениям формул (I') и (II'') и соединениям формул (I') и (II''), представленным ниже, где трициклическое ядро находится в плоскости графического отображения, и H и R проецируются над плоскостью графического отображения (при этом связь показана жирной клиновидной линией ) в структурах (I') и (II'), или где трициклическое ядро находится в плоскости графического отображения, и H и R проецируются под плоскостью графического отображения (при этом связь показана в виде клина из параллельных линий ) :



Определения

"Галоген" обозначает фтор, хлор и бром; " C_{1-3} алкил" и " C_{1-6} алкил" обозначают прямую или разветвленную насыщенную алкильную

группу, содержащую 1, 2 или 3 атома углерода или 1, 2, 3, 4, 5 или 6 атомов углерода, соответственно, например, метил, этил, 1-пропил, 2-пропил и т. д.; "C₁₋₃алкилокси" обозначает радикал в виде простого эфира, где C₁₋₃алкил определен ранее; "моно- и полигалоген-C₁₋₃алкил" обозначает C₁₋₃алкил, определенный ранее, замещенный 1, 2, 3 или, если возможно, большим числом атомов галогена, как определено ранее; "моно- и полигалоген-C₁₋₃алкилокси" обозначает радикал в виде простого эфира, при этом моно- и полигалоген-C₁₋₃алкил определены ранее; "C₃₋₆циклоалкил" обозначает циклопропил, циклобутил, циклопентил и циклогексил; "C₃₋₆циклоалкенил" обозначает C₃₋₆циклоалкильный радикал, несущий связь C=C; "C₂₋₆алкинил" обозначает прямую или разветвленную ациклическую группу, содержащую от 2 до 6 атомов углерода, при этом по меньшей мере одна углерод-углеродная связь представляет собой тройную связь; "C₂₋₃алкенил" обозначает прямую или разветвленную ациклическую группу, содержащую от 2 до 3 атомов углерода, при этом углерод-углеродная связь представляет собой двойную связь.

Термин "субъект", используемый в данном документе, относится к животному, предпочтительно к млекопитающему, наиболее предпочтительно к человеку, которое является или являлось объектом лечения, наблюдения или эксперимента.

Термин "терапевтически эффективное количество", используемый в данном документе, означает такое количество активного соединения или фармацевтического средства, которое вызывает биологический или медицинский ответ в системе тканей, у животного или человека, который стремится получить исследователь, ветеринар, врач или другой клиницист, который включает облегчение симптомов заболевания или расстройства, лечение которого осуществляют.

Подразумевается, что используемый в данном документе термин "композиция" охватывает продукт, содержащий определенные ингредиенты в определенных количествах, а также любой продукт, который получают прямо или опосредованно из комбинаций определенных ингредиентов в определенных количествах.

Ранее и далее в данном документе термин "соединение формулы (I)" следует понимать как охватывающий соли присоединения, сольваты и стереоизомеры соединения.

Термины "стереоизомеры" или "стереохимически изомерные формы" ранее и далее в настоящем документе используются

взаимозаменяемо.

Настоящее изобретение охватывает все стереоизомеры соединения формулы (I) либо в виде чистого стереоизомера, либо в виде смеси из двух или более стереоизомеров.

Энантиомеры представляют собой стереоизомеры, которые являются несовпадающими зеркальными отображениями друг друга. Смесь пары энантиомеров 1:1 представляет собой рацемат или рацемическую смесь. Диастереомеры (или диастереоизомеры) представляют собой стереоизомеры, которые не являются энантиомерами, т. е. они не соотносятся как зеркальные отображения. Если соединение содержит двойную связь, то заместители могут находиться в E- или Z-конфигурации. Если соединение содержит дизамещенную циклоалкильную группу, заместители могут находиться в цис- или транс-конфигурации. Таким образом, настоящее изобретение включает энантиомеры, диастереомеры, рацематы, E-изомеры, Z-изомеры, цис-изомеры, транс-изомеры и их смеси.

Абсолютную конфигурацию определяют согласно системе Кана-Ингольда-Прелога. Конфигурация при асимметричном атоме определяется как R или как S. Разделенные соединения, абсолютная конфигурация которых неизвестна, могут быть обозначены как (+) или (-) в зависимости от направления, в котором они вращают плоскополяризованный свет.

Если указан конкретный стереоизомер, это означает, что указанный стереоизомер практически не содержит других изомеров, т. е. связан с менее 50%, предпочтительно с менее 20%, более предпочтительно с менее 10%, еще более предпочтительно с менее 5%, в частности с менее 2% и наиболее предпочтительно с менее 1% других изомеров. Таким образом, если соединение формулы (I), например, указано как (R), то это означает, что соединение практически не содержит изомера (S); если соединение формулы (I), например, указано как E, то это означает, что соединение практически не содержит Z-изомера; если соединение формулы (I), например, указано как цис-, то это означает, что соединение практически не содержит транс-изомера.

Для применения в медицине соли присоединения соединений по настоящему изобретению относятся к нетоксичным "фармацевтически приемлемым солям присоединения". Однако при получении соединений в соответствии с настоящим изобретением или их фармацевтически приемлемых солей присоединения могут быть применимы другие соли.

Подходящие фармацевтически приемлемые соли присоединения соединений включают соли присоединения кислот, которые могут быть образованы, например, путем смешивания раствора соединения с раствором фармацевтически приемлемой кислоты, такой как хлористоводородная кислота, серная кислота, фумаровая кислота, малеиновая кислота, янтарная кислота, уксусная кислота, бензойная кислота, лимонная кислота, винная кислота, угольная кислота или фосфорная кислота. Кроме того, если соединения по настоящему изобретению имеют кислотный фрагмент, то их подходящие фармацевтически приемлемые соли присоединения могут включать соли щелочных металлов, например, соли натрия или калия; соли щелочноземельных металлов, например, соли кальция или магния; а также соли, образованные с помощью пригодных органических лигандов, например, соли четвертичного аммония.

Иллюстративные кислоты, которые можно применять в получении фармацевтически приемлемых солей присоединения, включают без ограничения следующие: уксусную кислоту, 2,2-дихлоруксусную кислоту, ацилированные аминокислоты, адипиновую кислоту, альгиновую кислоту, аскорбиновую кислоту, L-аспарагиновую кислоту, бензолсульфоновую кислоту, бензойную кислоту, 4-ацетамидобензойную кислоту, (+)-камфорную кислоту, камфорсульфоновую кислоту, каприновую кислоту, капроновую кислоту, каприловую кислоту, коричную кислоту, лимонную кислоту, цикламовую кислоту, этан-1,2-дисульфоновую кислоту, этансульфоновую кислоту, 2-гидроксиэтансульфоновую кислоту, муравьиную кислоту, фумаровую кислоту, галактаровую кислоту, гентизиновую кислоту, глюкогоптоновую кислоту, D-глюконовую кислоту, D-глюкуроновую кислоту, L-глутаминовую кислоту, бета-оксиглутаровую кислоту, гликолевую кислоту, гиппуровую кислоту, бромистоводородную кислоту, хлористоводородную кислоту, (+)-L-молочную кислоту, ($\pm$)-DL-молочную кислоту, лактобионовую кислоту, малеиновую кислоту, (-)-L-яблочную кислоту, малоновую кислоту, ($\pm$)-DL-миндальную кислоту, метансульфоновую кислоту, нафталин-2-сульфоновую кислоту, нафталин-1,5-дисульфоновую кислоту, 1-гидрокси-2-нафтойную кислоту, никотиновую кислоту, азотную кислоту, олеиновую кислоту, оротовую кислоту, щавелевую кислоту, пальмитиновую кислоту, памовую кислоту, фосфорную кислоту, L-пироглутаминовую кислоту, салициловую кислоту, 4-аминосалициловую кислоту, себациновую кислоту, стеариновую кислоту, янтарную кислоту, серную кислоту, дубильную кислоту,

(+)-L-винную кислоту, тиоциановую кислоту, п-толуолсульфоновую кислоту, трифторметилсульфоновую кислоту и ундециленовую кислоту. Иллюстративные основания, которые можно применять в получении фармацевтически приемлемых солей присоединения, включают без ограничения следующие: аммиак, L-аргинин, бенетамин, бензатин, гидроксид кальция, холин, диметилэтаноламин, диэтаноламин, диэтиламин, 2-(диэтиламино)этанол, этаноламин, этилендиамин, N-метилглюкамин, гидрабамин, 1*H*-имидазол, L-лизин, гидроксид магния, 4-(2-гидроксиэтил)морфолин, пиперазин, гидроксид калия, 1-(2-гидроксиэтил)пирролидин, вторичный амин, гидроксид натрия, триэтаноламин, трометамин и гидроксид цинка. Конкретная соль представляет собой соль присоединения, образованную с помощью трифторуксусной кислоты.

Названия соединений были составлены в соответствии с правилами номенклатуры, принятыми Химической реферативной службой (CAS), или в соответствии с правилами номенклатуры, принятыми Международным союзом теоретической и прикладной химии (IUPAC). В случае таутомерных форм составляли название изображенной таутомерной формы структуры. Другая, не изображенная таутомерная форма также включена в объем настоящего изобретения.

ПОЛУЧЕНИЕ СОЕДИНЕНИЙ

Экспериментальная процедура 1

Конечные соединения в соответствии с формулами (I) и (II) могут быть получены путем удаления защитной группы из промежуточных соединений формул (III) и (IV), где Q представляет собой неустойчивую к воздействию оснований (например, ацильную) или неустойчивую к воздействию кислот (например, тритильную) защитную группу (схема реакции 1). Такие реакции можно проводить при известных из уровня техники условиях реакций.

Альтернативно конечные соединения в соответствии с формулой (I) могут быть получены с помощью взаимопревращения функциональных групп R^1 посредством известных из уровня техники способов, таких как, например, замена брома гетероциклом, с применением стандартных реакций кросс-сочетания, таких как, например, реакция Сузуки.

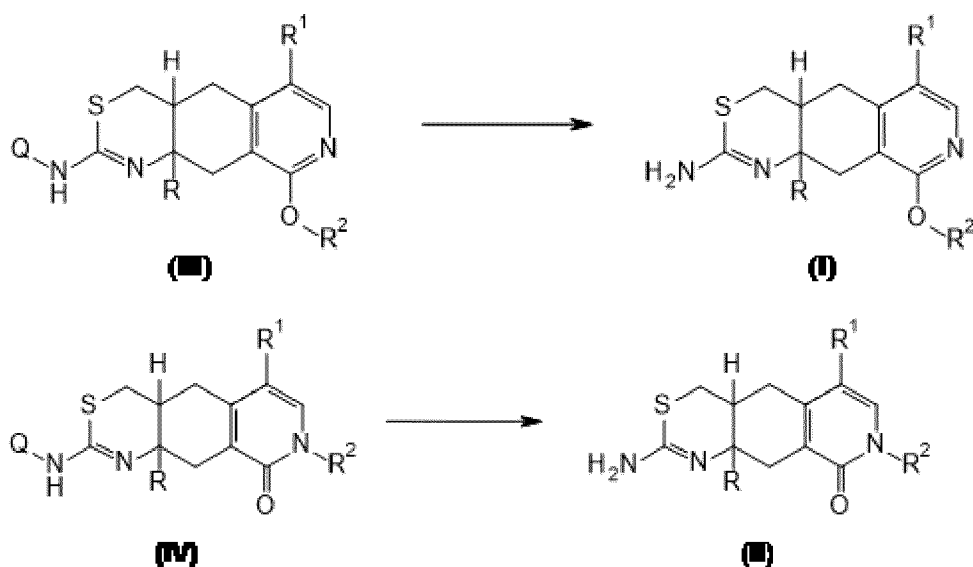


Схема реакции 1

ПОЛУЧЕНИЕ ПРОМЕЖУТОЧНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Экспериментальная процедура 2

Промежуточные соединения формулы (III) или (IV), где R^{1a} представляет собой C_{1-3} алкил, (C_{3-6} циклоалкил) C_{1-3} алкил, гомоарил, гетероарил или гетероциклил, в данном документе называемые промежуточными соединениями формул (III-a) и (IV-a) соответственно, могут быть получены путем осуществления реакции кросс-сочетания Сузуки-Мияуры соответствующего промежуточного соединения формулы (III-b) или (IV-b), где R^{1b} представляет собой галоген, предпочтительно бром, с промежуточным соединением формулы (V), где R^{1a} определен в данном документе ранее, и R^a и R^b могут представлять собой водород или C_{1-4} алкил или могут быть взяты вместе с образованием двухвалентного радикала формулы CH_2CH_2 , $CH_2CH_2CH_2$ или $C(CH_3)_2C(CH_3)_2$ (схема реакции 2). Реакцию можно проводить в подходящем реакционном инертном растворителе, таком как толуол, или в смесях инертных растворителей, таких как, например, 1,4-диоксан/вода, в присутствии подходящего основания, такого как, например, трехосновный фосфат калия или карбонат калия, подходящего катализатора на основе комплекса с Pd, такого как, например, ацетат палладия(II), и подходящего лиганда, такого как, например, трициклогексилфосфин, при повышенной температуре в диапазоне от 60 до 120°C в течение периода времени, обеспечивающего завершение реакции. Промежуточные соединения формулы (V) могут быть получены коммерческим путем или синтезированы согласно описанным в литературе процедурам.

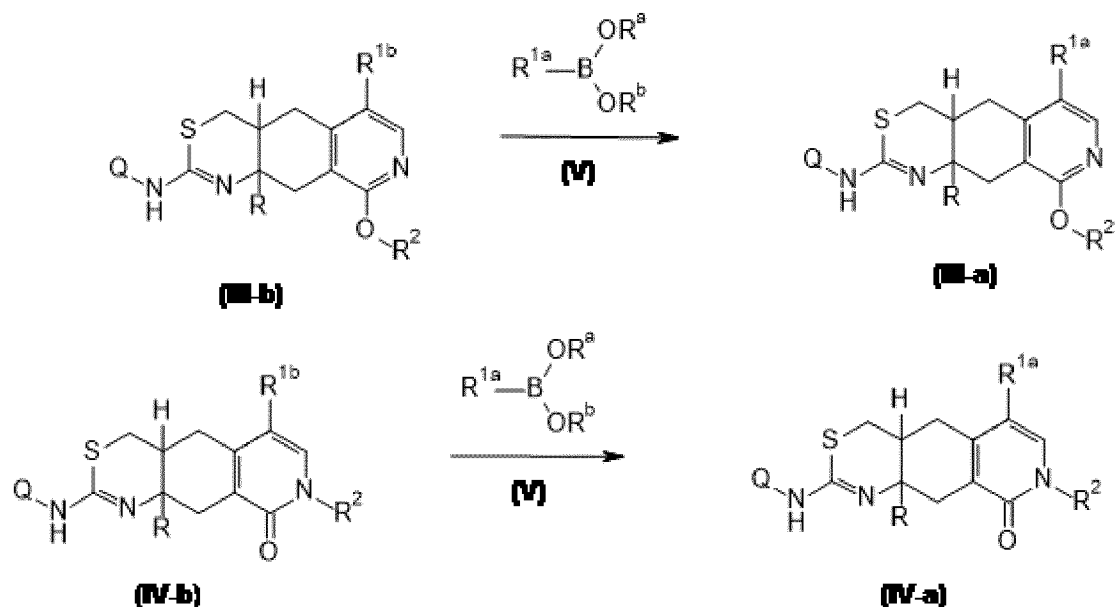


Схема реакции 2

Экспериментальная процедура 3

Промежуточные соединения формулы (IV), где R^2 представляет собой C_{1-3} алкил, в данном документе называемые промежуточными соединениями формулы (IV-с), могут быть получены путем осуществления реакции соответствующих промежуточных соединений формулы (III), где R^2 представляет собой метил, в данном документе называемых промежуточными соединениями формулы (III-с), с C_{1-3} алкилиодидом (схема реакции 3). Реакцию можно выполнять при температурных условиях, таких как, например, нагревание реакционной смеси при 100°C . На схеме реакции 3 все переменные определяются так же, как для формулы (I).

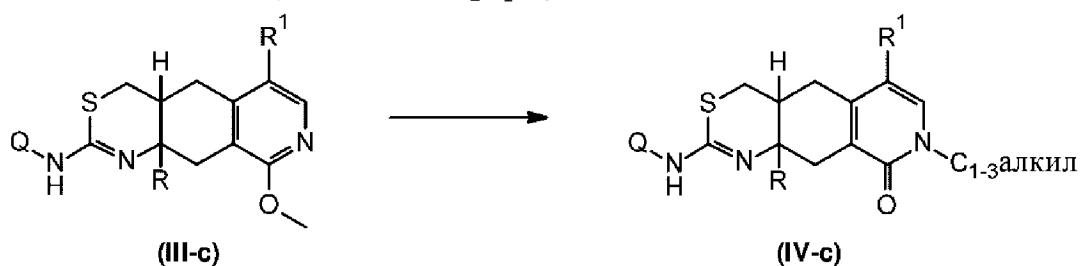


Схема реакции 3

Экспериментальная процедура 4

Промежуточные соединения формулы (IV), где R^2 представляет собой водород, в данном документе называемые (IV-d), могут быть получены из промежуточного соединения формулы (III-с) в результате осуществления известных из уровня техники процедур O -деметиляции. Указанное преобразование в целях удобства можно выполнять путем обработки промежуточного соединения (III-с) с помощью подходящего O -деметилирующего средства, такого как

триметилхлорсилан, в присутствии подходящей добавки, такой как иодид натрия, в подходящем инертном растворителе, таком как ацетонитрил, в подходящих условиях реакции, например, при подходящей температуре, как правило, составляющей 50°C , в течение периода времени, обеспечивающего завершение реакции. На схеме реакции 4 все переменные определяются так же, как для формулы (I).

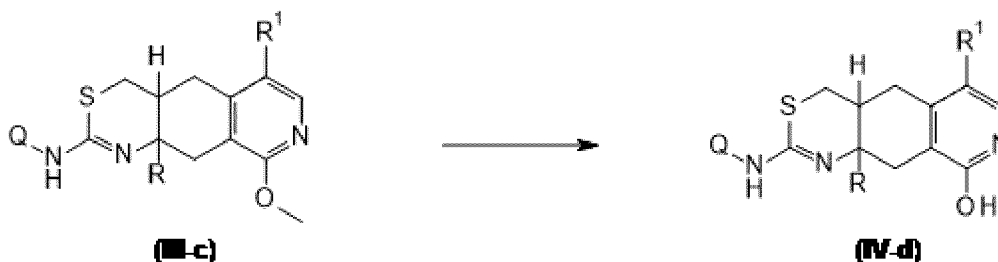


Схема реакции 4

Экспериментальная процедура 5

Промежуточные соединения формулы (III), где R^1 представляет собой циано, в данном документе называемые (III-d), могут быть получены из соответствующих промежуточных соединений формулы (III-b) путем осуществления известных из уровня техники процедур цианирования (схема реакции 9). Указанное цианирование в целях удобства может быть выполнено путем обработки соответствующих промежуточных соединений формулы (III-b) цианирующим средством, таким как, например, цианид цинка, в присутствии подходящего Pd-катализатора, такого как, например, бис(дибензилиденацетон)палладий(0), подходящего лиганда, такого как, например, 1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен, и цинковой пыли в подходящем инертном растворителе, таком как, например, DMA и т. п., при подходящей температуре, такой как, например, 120°C , до завершения реакции. На схеме реакции 5 все переменные определяются так же, как для формулы (I).

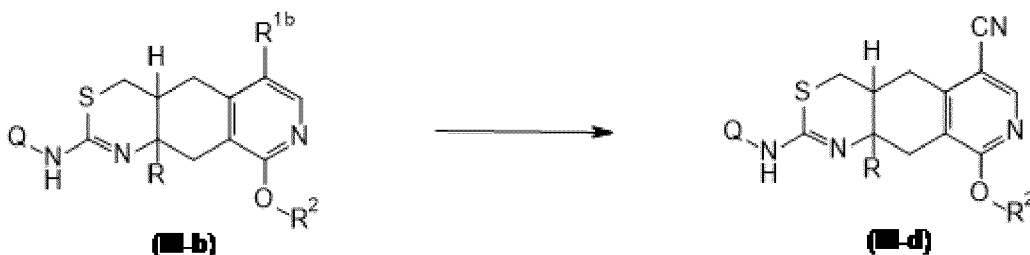


Схема реакции 5

Экспериментальная процедура 6

Промежуточные соединения формулы (III), где R^1 представляет собой C_{1-3} -алкилоксикарбонил или гидроксикарбонил, в данном

документе называемые (III-e), могут быть получены из соответствующих промежуточных соединений формулы (III-b) в результате осуществления известных из уровня техники катализируемых палладием процедур карбонилирования (схема реакции 6). Указанное карбонилирование в целях удобства может быть выполнено путем перемешивания промежуточного соединения формулы (III-b) в атмосфере монооксида углерода в присутствии подходящего палладиевого катализатора, такого как, например, ацетат палладия, подходящего лиганда, такого как 1,3-бис(дифенилфосфино)пропан, и подходящего основания, такого как ацетат калия, в подходящем реакционном растворителе или в смесях растворителей, таких как, например, THF/EtOH. Реакцию можно осуществлять в автоклаве при подходящем давлении, таком как, например, 30 бар, при подходящей температуре, как правило, составляющей 120°C, в течение периода времени, обеспечивающего завершение реакции. На схеме реакции 6 все переменные определяются так же, как для формулы (I).

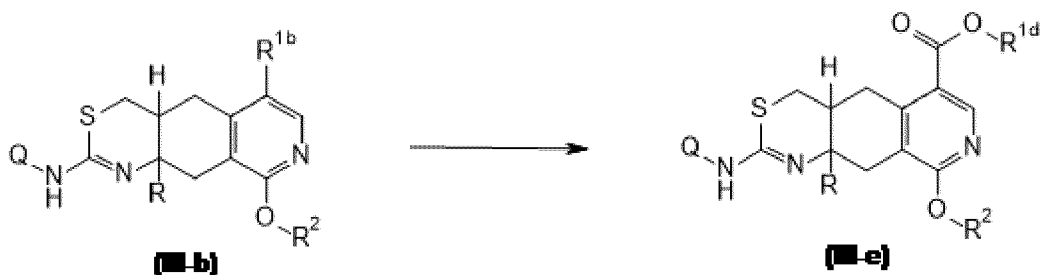


Схема реакции 6

Экспериментальная процедура 7

Промежуточные соединения формулы (III-b) могут быть получены из промежуточного соединения формулы (III-d), где R_1 представляет собой водород, путем известных из уровня техники процедур бромирования. Указанное бромирование в целях удобства может быть выполнено путем обработки соответствующих промежуточных соединений формулы (III-f) бромлирующим средством, таким как, например, *N*-бромсукцинимид, в подходящем инертном растворителе, таком как, например, ацетонитрил и т. п., при подходящей температуре, такой как, например, комнатная температура, до завершения реакции, например, через 16 часов.

Может быть необходимым обеспечение защиты промежуточных соединений формулы (III-f) с помощью защитной группы PG, такой как, например, трет-бутоксикарбонильная группа, согласно известным из уровня техники процедурам. Указанная реакция в целях удобства может быть выполнена путем обработки

промежуточного соединения (III-f) ди-*трет*-бутилдикарбонатом в присутствии подходящего катализатора, такого как 4-(диметиламино)пиридин (DMAP), в подходящем инертном растворителе, таком как THF, при подходящих условиях реакции, например, при подходящей температуре, как правило, представляющей собой к. т., в течение периода времени, обеспечивающего завершение реакции.

Защищенное промежуточное соединение (III-g) затем можно bromировать, как описано выше, с получением соединения (III-h), у которого затем можно удалить защитную группу путем обработки подходящей кислотой, такой как, например, трифторуксусная кислота или муравьиная кислота, в подходящем растворителе или без него при температуре окружающей среды с получением промежуточного соединения (III-b).

На схеме реакции 7 Q и PG представляют собой защитные группы, а все другие переменные определены в формуле (I).

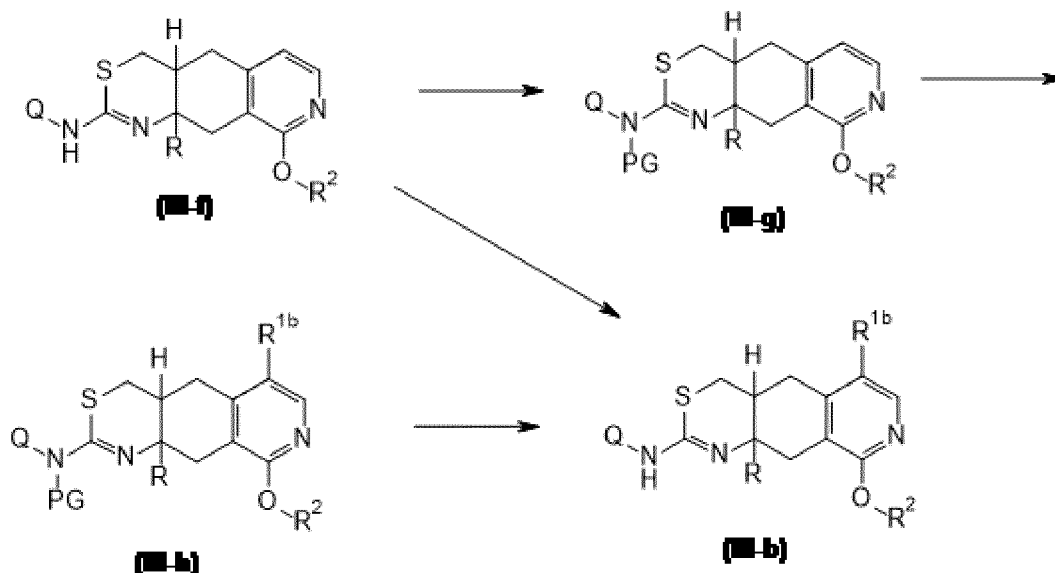


Схема реакции 7

Экспериментальная процедура 8

Промежуточные соединения формулы (III) могут быть получены из промежуточного соединения формулы (VI) согласно известным из уровня техники процедурам циклизации. Указанная циклизация в целях удобства может быть выполнена путем обработки промежуточного соединения формулы (VI) подходящим реагентом, таким как 1-хлор-N, N-2-триметилпропениламин, в подходящем реакционном растворителе, таком как, например, DCM, при подходящих условиях реакции, например, при подходящей температуре, как правило, представляющей собой к. т., в течение

периода времени, обеспечивающего завершение реакции.

Промежуточные соединения формулы (VII) могут быть получены путем осуществления реакции соответствующих промежуточных соединений формулы (VIII) с подходящим реагентом, таким как бензилизотиоцианат (с получением соединений (VI) и (III)), где Q представляет собой фенил(C=O)-, в подходящем инертном растворителе, таком как, например, DCM, при подходящей температуре, как правило, представляющей собой к. т., до завершения реакции, например, через 3 часа.

Промежуточные соединения формулы (VII) могут быть получены из соответствующих промежуточных соединений формулы (VIII) согласно известным из уровня техники процедурам раскрытия азиридинового кольца. Указанная реакция может быть осуществлена посредством перемешивания реагирующих веществ в атмосфере водорода в присутствии соответствующего катализатора, такого как, например, никель Ренея, в подходящем растворителе, таком как, например, алканола, например метанол, этанол и т. п., при подходящей температуре, как правило, представляющей собой к. т., до завершения реакции, например, через 6 часов.

Промежуточные соединения формулы (VIII) могут быть получены путем осуществления реакции соответствующих промежуточных соединений формулы (IX) с промежуточным соединением формулы (X). Реакция может быть проведена в подходящем реакционном инертном растворителе, таком как THF, при подходящих условиях реакции, например, при подходящей температуре, как правило, находящейся в диапазоне от -78°C и до комнатной температуры, в течение периода времени, обеспечивающего завершение реакции. Промежуточное соединение формулы (X) может быть получено коммерческим путем или синтезировано согласно описанным в литературе процедурам.

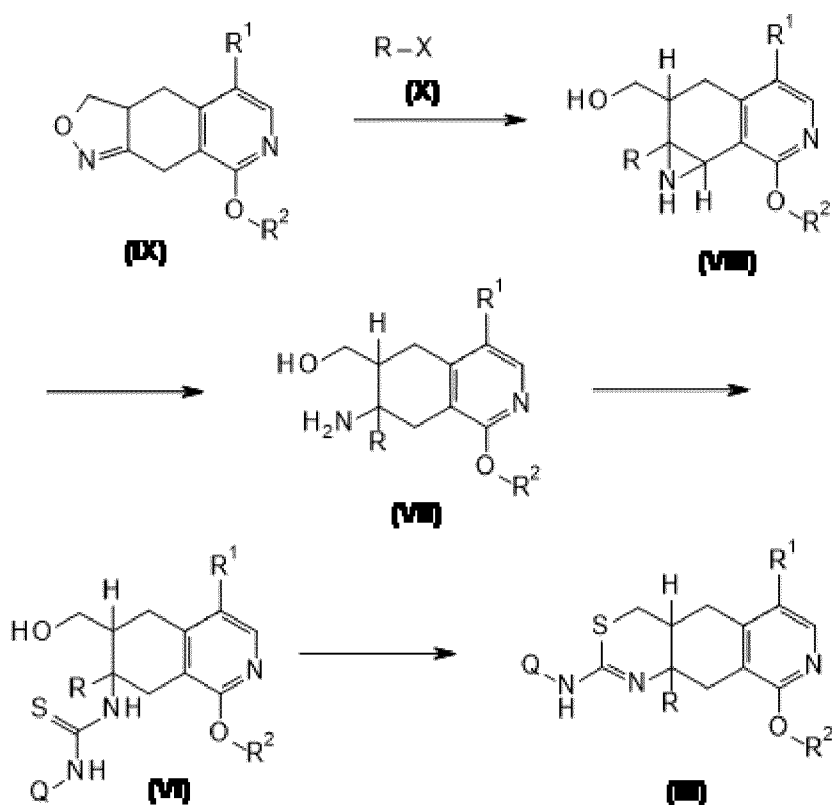


Схема реакции 8

Экспериментальная процедура 9

Промежуточные соединения формулы (IX) могут быть получены путем осуществления реакции соответствующих промежуточных соединений формулы (XI) согласно известным из уровня техники процедурам циклизации. Указанная циклизация в целях удобства может быть выполнена путем обработки промежуточного соединения формулы (XI) подходящей кислотой, такой как, например, хлористоводородная кислота, в подходящем реакционном инертном растворителе, таком как THF, при подходящих условиях реакции, например, при подходящей температуре, как правило, составляющей 50°C , в течение периода времени, обеспечивающего завершение реакции.

Промежуточные соединения формулы (XI) могут быть получены путем осуществления реакции промежуточных соединений формулы (XII) согласно известным из уровня техники процедурам реакции сочетания. Указанное преобразование в целях удобства может быть выполнено путем превращения промежуточного соединения формулы (XII) в соответствующий цианокупратный реагент в присутствии подходящего металлирующего реагента, такого как комплекс хлорида изопропилмагния и хлорида лития, и подходящего органокупратного предшественника, такого как, например, раствор комплекса цианида

меди (I) с ди(хлорид лития), с последующим добавлением подходящего галогенида, такого как аллилбромид. Реакция может быть проведена в подходящем инертном растворителе, таком как, например, THF и подобные растворители, при подходящей температуре, как правило, составляющей от -70°C до к. т., в течение периода времени, обеспечивающего завершение реакции.

Промежуточные соединения формулы (XII) могут быть получены путем осуществления реакции промежуточных соединений формулы (XIII) согласно известным из уровня техники процедурам реакции Виттига. Указанная реакция в целях удобства может быть выполнена путем обработки промежуточного соединения формулы (XIII) подходящей солью фосфония, такой как, например, хлорид метоксиметилтрифенилфосфония, в присутствии подходящего основания, такого как, например, бис(триметилсилил)амид калия, в подходящем инертном в отношении реакции растворителе, таком как, например, толуол, при подходящей температуре, как правило, составляющей от -10°C до к. т., в течение периода времени, обеспечивающего завершение реакции. Промежуточные соединения формулы (XIII), как правило, могут быть получены коммерческим путем или синтезированы согласно описанным в литературе процедурам. На схеме реакции 9 все переменные определяются так же, как для формулы (I).

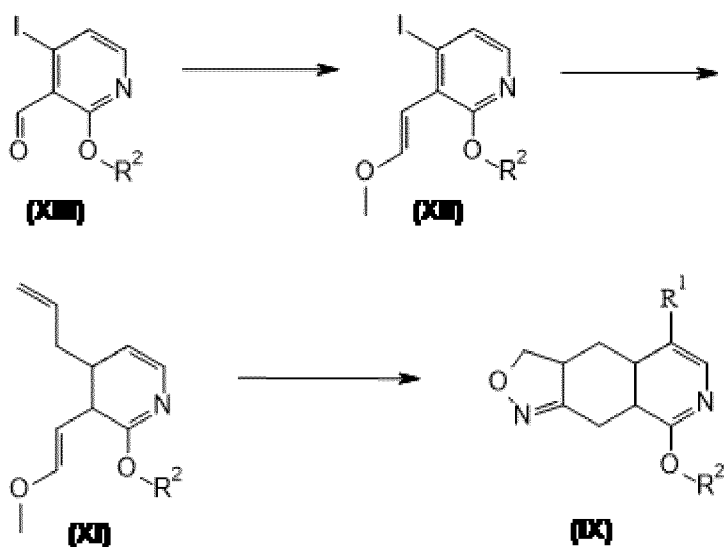


Схема реакции 9

Экспериментальная процедура 10

Альтернативно промежуточные соединения формулы (IX) могут подвергаться добавлению металлоорганических соединений формулы (XIV), где R' представляет собой любой радикал, который может быть превращен в R путем применения процедур, известных

специалисту в данной области техники, таких как, например, реакции кросс-сочетания, реакции алкилирования и реакции с удалением защитной группы. Промежуточные соединения (VIII-a) можно использовать далее в синтезе с применением такого же пути синтеза, который описан ранее в примерах. Специалист в данной области сможет оценить, в какой точке последовательности синтеза целесообразно осуществлять превращение R' в R.

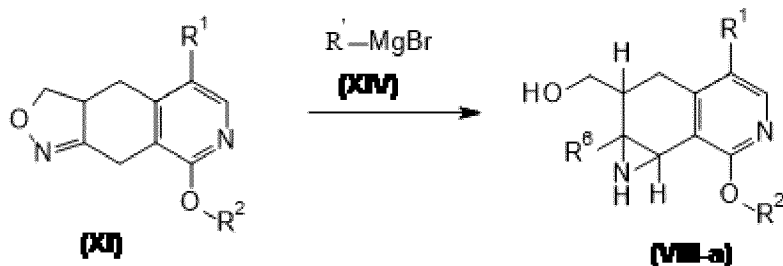


Схема реакции 10

ПОЛУЧЕНИЕ СОЕДИНЕНИЙ – ХИМИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ В ПОТОКЕ

Ряд соединений синтезировали и выделяли с применением платформы CyclOps™, как описано в данном документе, которая работает в высоком диапазоне эффективности (показатель эффективности 61–96%). В системе синтеза в потоке использовали реакторы Vapourtec® R4 и насосные модули R2 со встроенными клапанами и контурами реагентов, контролируемые с помощью программного обеспечения FlowCommander™. В зависимости от сложности химической реакции применяли не более четырех реакторов, насосов и клапанов. Выходной продукт из конечного реактора поступал в клапан впрыска HPLC, позволяя вводить аликвоту продукта в систему очистки. Потерю материала из-за рассредоточения в системе синтеза минимизировали несколькими способами. Во-первых, во всей системе использовали трубопроводы с небольшим внутренним диаметром, поскольку это сводило к минимуму рассредоточение. Во-вторых, выбирали размеры контуров реагентов для обеспечения равновесной концентрации реагирующих веществ и поступления продукта в реактор. Наконец, впрыск в систему HPLC был рассчитан так, чтобы гарантировать, что аликвота будет взята в точке максимальной концентрации продукта, т. е. в условиях равновесного состояния. Как правило, использование свежих бутылок с реагентами и/или получение реагентов *in situ* может улучшить результаты синтеза.

Реакции Сузуки

Соединения формулы (I), где R¹ представляет собой гетероарил, в данном документе называемые соединениями формулы

(I-a), могут быть получены путем преобразований, известных специалисту в данной области техники, таких как реакции Сузуки, как показано на схеме 11. Промежуточное соединение формулы (XIV) получали посредством отщепления защитной группы Q у промежуточного соединения формулы (III-b) аналогично реакции 1 и его нагревали с соответствующей бороновой кислотой или сложным эфиром формулы (V-a) в подходящем растворителе, таком как, например, IPA/NMP и THF, с применением соответствующего катализатора, такого как $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$, в присутствии подходящего основания, например карбоната калия или DBU, предпочтительно DBU. Также можно добавлять воду для способствования улучшению выхода реакции. Реакции, как правило, проводят при соответствующих условиях реакции, как правило, при 150°C , в течение двадцати минут с двукратным избытком средства для реакции сочетания относительно промежуточного соединения (XIV) и тремя эквивалентами основания. Реакционную смесь пропускали через картридж с диоксидом кремния для удаления палладиевого катализатора перед осуществлением автоматической очистки методом LCMS.

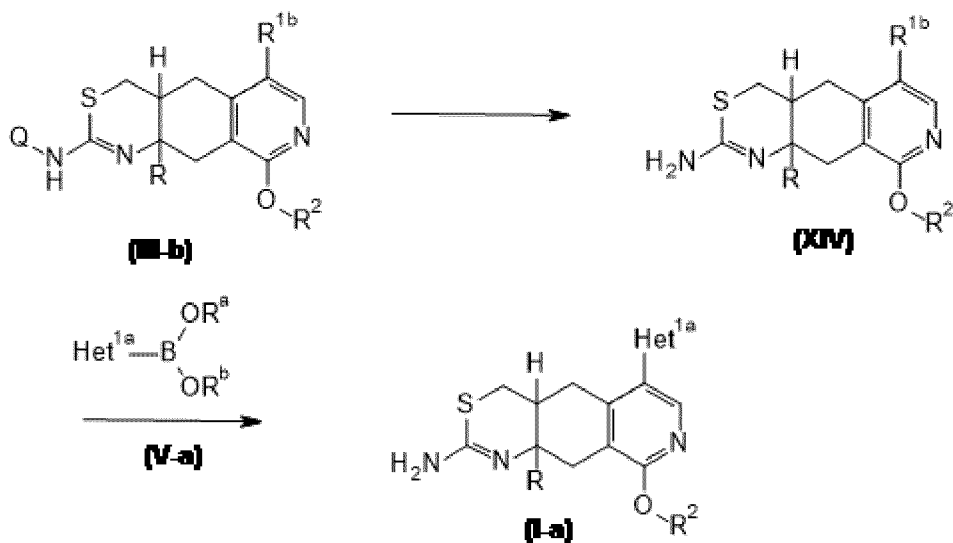


Схема реакции 11

Реакция алкилирования с последующей реакцией Сузуки

Двухстадийную химическую реакцию обеспечивали в периодическом режиме, при этом amino-защищенное промежуточное соединение (III-i), где PG представляет собой неустойчивую к воздействию оснований защитную группу, например Boc, и R представляет собой фенил, содержащий по меньшей мере заместитель, выбранный из гидроксила, сначала алкилируют по фенолу подходящим алкилирующим средством в присутствии

основания, предпочтительно DBU. Последующая реакция Сузуки с применением соответствующего основания, такого как карбонат калия, обеспечивала получение конечного соединения, поскольку карбонат можно применять для отщепления amino-защитной группы. Данная последовательность реакций еще не была опробована в потоке, но перенос, как ожидается, будет обычной практикой.

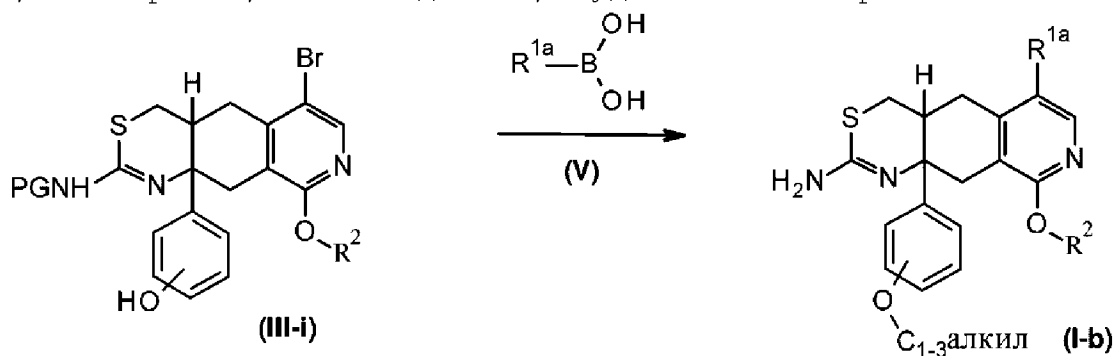
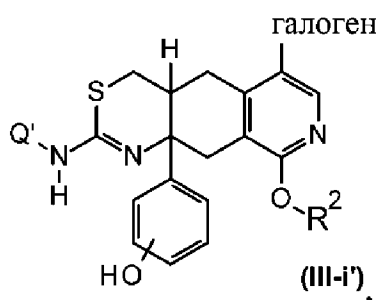


Схема реакции 12

Промежуточное соединение формулы (III-i) является применимым и универсальным промежуточным соединением в синтезе соединений по настоящему изобретению. Таким образом, в одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к соединению формулы (III-i'),



где Q' представляет собой H или защитную группу, галоген представляет собой бром или хлор, в частности бром, и R² является таковым, как определено для соединений формулы (I) в данном документе.

ФАРМАКОЛОГИЯ

Соединения по настоящему изобретению и их фармацевтически приемлемые композиции обеспечивают ингибирование BACE и, таким образом, могут быть применимы в лечении или предупреждении болезни Альцгеймера (AD), умеренного когнитивного нарушения (MCI), угасания, деменции, деменции с тельцами Леви, церебральной амилоидной ангиопатии, мультиинфарктной деменции, синдрома Дауна, деменции, ассоциированной с болезнью Паркинсона, деменции альцгеймеровского типа, сосудистой деменции, деменции,

обусловленной заболеванием, вызываемым HIV, деменции, обусловленной травмой головы, деменции, обусловленной болезнью Хантингтона, деменции, обусловленной болезнью Пика, деменции, обусловленной болезнью Крейтцфельда-Якоба, лобно-височной деменции, деменции боксеров, деменции, ассоциированной с накоплением бета-амилоида, и возрастной макулярной дегенерации, диабета 2 типа и других нарушений обмена веществ.

Подразумевается, что используемый в данном документе термин "лечение" относится ко всем способам, которые могут предусматривать замедление, нарушение, подавление или прекращение прогрессирования заболевания или облегчение симптомов, но не обязательно означает полное устранение всех симптомов.

Настоящее изобретение также относится к соединению в соответствии с общей формулой (I), его стереоизомерной форме или его фармацевтически приемлемой соли присоединения кислоты или основания для применения в лечении или предупреждении заболеваний или состояний, выбранных из группы, состоящей из AD, MCI, угасания, деменции, деменции с тельцами Леви, церебральной амилоидной ангиопатии, мультиинфарктной деменции, синдрома Дауна, деменции, ассоциированной с болезнью Паркинсона, деменции альцгеймеровского типа, деменции, ассоциированной с накоплением бета-амилоида, и возрастной макулярной дегенерации, диабета 2 типа и других нарушений обмена веществ.

Настоящее изобретение также относится к соединению в соответствии с общей формулой (I), его стереоизомерной форме или его фармацевтически приемлемой соли присоединения кислоты или основания для применения в лечении, предупреждении, уменьшении интенсивности, контроле или снижении риска развития заболеваний или болезненных состояний, выбранных из группы, состоящей из AD, MCI, угасания, деменции, деменции с тельцами Леви, церебральной амилоидной ангиопатии, мультиинфарктной деменции, синдрома Дауна, деменции, ассоциированной с болезнью Паркинсона, деменции альцгеймеровского типа, деменции, ассоциированной с накоплением бета-амилоида, и возрастной макулярной дегенерации, диабета 2 типа и других нарушений обмена веществ.

Как уже упоминалось выше в данном документе, термин "лечение" не обязательно означает полное устранение всех симптомов, а может также относиться к симптоматическому лечению любого из упомянутых выше расстройств. Ввиду применимости

соединения формулы (I) представлен способ лечения субъектов, таких как теплокровные животные, в том числе люди, страдающих любым из указанных выше в настоящем документе заболеваний, или способ предупреждения у субъектов, таких как теплокровные животные, в том числе люди, любого из указанных выше в настоящем документе заболеваний.

Указанные способы предусматривают введение, т. е. системное или местное введение, предпочтительно пероральное введение субъекту, такому как теплокровное животное, в том числе человек, терапевтически эффективного количества соединения формулы (I), его стереоизомерной формы, его фармацевтически приемлемой соли присоединения или сольвата.

Таким образом, настоящее изобретение также относится к способу предупреждения и/или лечения любого из упомянутых выше в настоящем документе заболеваний, включающему введение терапевтически эффективного количества соединения согласно настоящему изобретению субъекту, нуждающемуся в этом.

Настоящее изобретение также относится к способу модулирования активности фермента, расщепляющего амилоид по бета-сайту, включающему введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества соединения согласно настоящему изобретению, как определено в формуле изобретения, или фармацевтической композиции согласно настоящему изобретению, как определено в формуле изобретения.

Способ лечения может также включать введение активного ингредиента согласно схеме от одного до четырех введений в сутки. В данных способах лечения соединения в соответствии с настоящим изобретением предпочтительно составляют перед введением. Как описано в данном документе ниже, подходящие фармацевтические составы получают с помощью известных методик с применением хорошо известных и общедоступных ингредиентов.

Соединения по настоящему изобретению, которые могут быть подходящими для лечения или предупреждения болезни Альцгеймера или ее симптомов, можно вводить отдельно или в комбинации с одним или несколькими дополнительными терапевтическими средствами. Комбинированная терапия предусматривает введение единого дозированного фармацевтического состава, который содержит соединение формулы (I) и одно или несколько дополнительных терапевтических средств, а также введение соединения формулы (I) и каждого дополнительного

терапевтического средства в своем собственном отдельном дозированном фармацевтическом составе. Например, соединение формулы (I) и терапевтическое средство можно вводить пациенту вместе в единой дозированной композиции для перорального применения, такой как таблетка или капсула, или каждое средство можно вводить по отдельности в дозированных составах для перорального применения.

Специалисту в данной области хорошо известны альтернативные системы номенклатуры, нозологические подходы и системы классификации для заболеваний или состояний, упоминаемых в данном документе. Например, в пятом издании Diagnostic & Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-5™) Американской ассоциацией психиатров используются такие термины, как нейрокогнитивные расстройства (NCD) (как тяжелые, так и умеренные), в частности, нейрокогнитивные расстройства, обусловленные болезнью Альцгеймера, обусловленные черепно-мозговой травмой (TBI), обусловленные болезнью телец Леви, обусловленные болезнью Паркинсона, или сосудистое NCD (как например, сосудистое NCD, характерное при множественных инфарктах). Такие термины могут применяться специалистом в данной области в качестве альтернативной номенклатуры для некоторых заболеваний или болезненных состояний, упоминаемых в настоящем документе.

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ

В настоящем изобретении также представлены композиции для предупреждения или лечения заболеваний, при которых благоприятным является ингибирование бета-секретазы, таких как болезнь Альцгеймера (AD), умеренное когнитивное нарушение, угасание, деменция, деменция с тельцами Леви, синдром Дауна, деменция, ассоциированная с инсультом, деменция, ассоциированная с болезнью Паркинсона, деменция, ассоциированная с накоплением бета-амилоида, и возрастная макулярная дегенерация, диабет 2 типа и другие нарушения обмена веществ. Указанные композиции содержат терапевтически эффективное количество соединения согласно формуле (I) и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель.

Хотя активный ингредиент можно вводить отдельно, предпочтительно, чтобы он был представлен в виде фармацевтической композиции. Следовательно, в настоящем изобретении дополнительно предусмотрена фармацевтическая

композиция, содержащая соединение в соответствии с настоящим изобретением вместе с фармацевтически приемлемым носителем или разбавителем. Носитель или разбавитель должны быть "приемлемыми" с точки зрения совместимости с другими ингредиентами композиции и не являться вредными для получающих ее пациентов.

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению могут быть получены любыми способами, хорошо известными в области фармацевтики. Терапевтически эффективное количество конкретного соединения, в форме основания или в форме соли присоединения, в качестве активного ингредиента объединяют в однородную смесь с фармацевтически приемлемым носителем, который может принимать ряд форм в зависимости от формы препарата, необходимого для введения. Желательно, чтобы данные фармацевтические композиции находились в стандартной лекарственной форме, предпочтительно подходящей для системного введения, такого как пероральное, чрескожное или парентеральное введение; или для местного введения, как, например, с помощью ингаляции, назального спрея, глазных капель или с помощью крема, геля, шампуня и т. п. Например, при получении композиций в виде лекарственной формы для перорального введения можно использовать любые обычные фармацевтические среды, такие как, например, вода, гликоли, масла, спирты и т. п., в случае жидких препаратов для перорального введения, таких как суспензии, сиропы, эликсиры и растворы; или твердые носители, такие как крахмалы, сахара, каолин, смазывающие вещества, связующие вещества, разрыхлители и т. п., в случае порошков, пилюль, капсул и таблеток. Благодаря своей простоте введения таблетки и капсулы представляют собой наиболее преимущественные стандартные лекарственные формы для перорального введения, в случае которых, несомненно, используют твердые фармацевтические носители. В случае композиций для парентерального введения носитель, как правило, по меньшей мере в значительной степени будет содержать стерильную воду, хотя может включать и другие ингредиенты, например для улучшения растворимости. Например, можно получать растворы для инъекций, в которых носитель содержит физиологический раствор, раствор глюкозы или смесь физиологического раствора и раствора глюкозы. Также можно получать суспензии для инъекций, в случае которых можно использовать соответствующие жидкие носители, суспендирующие средства и т. п. В композициях, подходящих для чрескожного введения, носитель необязательно содержит средство,

улучшающее проникновение, и/или подходящее смачиваемое средство, необязательно в комбинации с подходящими добавками любой природы в минимальных пропорциях, при этом добавки не оказывают никаких существенных вредных воздействий на кожу. Указанные добавки могут облегчать введение через кожу и/или могут быть полезными при получении необходимых композиций. Данные композиции можно вводить различными путями, например, посредством трансдермального пластыря, путем точечного нанесения или в виде мази.

Особенно преимущественно для простоты введения и однородности дозирования составлять вышеупомянутые фармацевтические композиции в виде стандартной лекарственной формы. Стандартные лекарственные формы в контексте данного описания и формулы изобретения относятся к физически дискретным единицам, подходящим в качестве единиц дозирования, при этом каждая единица содержит заранее определенное количество активного ингредиента, рассчитанное для получения необходимого терапевтического эффекта, совместно с требуемым фармацевтическим носителем. Примерами таких стандартных лекарственных форм являются таблетки (в том числе делимые таблетки или таблетки, покрытые оболочкой), капсулы, пилюли, пакеты с порошкообразным продуктом, пластинки, растворы или суспензии для инъекций, чайные ложки с верхом, столовые ложки с верхом и т. п., а также их отдельные кратные количества.

Точная доза и частота введения зависят от конкретного применяемого соединения формулы (I), конкретного состояния, лечение которого осуществляют, тяжести состояния, лечение которого осуществляют, возраста, массы, пола, степени тяжести расстройства и общего физического состояния конкретного пациента, а также от другого медикаментозного лечения, которое индивидуум может получать, что хорошо известно специалистам в данной области. Более того, очевидно, что указанное эффективное суточное количество может быть снижено или увеличено в зависимости от реакции подвергаемого лечению субъекта и/или в зависимости от оценки врача, назначающего соединения согласно настоящему изобретению.

В зависимости от способа введения фармацевтическая композиция будет содержать от 0,05 до 99% по весу, предпочтительно от 0,1 до 70% по весу, более предпочтительно от 0,1 до 50% по весу активного ингредиента и от 1 до 99,95% по

весу, предпочтительно от 30 до 99,9% по весу, более предпочтительно от 50 до 99,9% по весу фармацевтически приемлемого носителя, при этом все процентные значения приводятся в пересчете на общий вес композиции.

Соединения по настоящему изобретению можно применять для системного введения, такого как пероральное, чрескожное или парентеральное введение; или для местного введения, как, например, с помощью ингаляции, назального спрея, глазных капель или с помощью крема, геля, шампуня или т. п. Соединения предпочтительно вводят перорально. Точная доза и частота введения зависят от конкретного применяемого соединения в соответствии с формулой (I), конкретного состояния, лечение которого осуществляют, тяжести состояния, лечение которого осуществляют, возраста, массы, пола, степени тяжести расстройства и общего физического состояния конкретного пациента, а также от другого медикаментозного лечения, которое индивидуум может получать, что хорошо известно специалистам в данной области. Более того, очевидно, что указанное эффективное суточное количество может быть снижено или увеличено в зависимости от реакции подвергнутого лечению субъекта и/или в зависимости от оценки врача, назначающего соединения согласно настоящему изобретению.

Количество соединения формулы (I), которое можно объединять с материалом носителя для получения лекарственной формы с однократной дозировкой, будет варьироваться в зависимости от заболевания, подвергнутого лечению, вида млекопитающего и конкретного способа введения. Однако в качестве общего руководства, подходящие стандартные дозы соединений по настоящему изобретению могут, например, предпочтительно содержать от 0,1 мг до приблизительно 1000 мг активного соединения. Предпочтительная стандартная доза составляет от 1 мг до приблизительно 500 мг. Более предпочтительная стандартная доза составляет от 1 мг до приблизительно 300 мг. Еще более предпочтительная стандартная доза составляет от 1 мг до приблизительно 100 мг. Такие стандартные дозы можно вводить более одного раза в сутки, например, 2, 3, 4, 5 или 6 раз в сутки, но предпочтительно 1 или 2 раза в сутки, с тем, чтобы общая доза для взрослого человека массой 70 кг находилась в диапазоне от 0,001 до приблизительно 15 мг на кг массы субъекта в расчете на одно введение. Предпочтительная доза составляет от

0,01 до приблизительно 1,5 мг на кг массы субъекта в расчете на одно введение, и такая терапия может продолжаться в течение нескольких недель или месяцев, а в некоторых случаях в течение нескольких лет. Однако следует понимать, что определенный уровень дозы для любого конкретного пациента будет зависеть от ряда факторов, в том числе активности определенного используемого соединения; возраста, массы тела, общего состояния здоровья, пола и режима питания индивидуума, лечение которого осуществляют; времени и пути введения; скорости выведения; других лекарственных средств, которые были введены ранее; и тяжести конкретного заболевания, подвергаемого терапии, что хорошо понятно специалистам в данной области.

Типичной дозировкой может быть одна таблетка, содержащая от 1 мг до приблизительно 100 мг или от 1 мг до приблизительно 300 мг, принимаемая один раз в сутки или несколько раз в сутки, или одна капсула или таблетка с медленным высвобождением, принимаемая один раз в сутки и характеризующаяся пропорционально более высоким содержанием активного ингредиента. Эффекта медленного высвобождения можно достигать с помощью материалов капсулы, которые растворяются при различных значениях pH, с помощью капсул с медленным высвобождением при осмотическом давлении или с помощью любых других известных средств, обеспечивающих контролируемое высвобождение.

В некоторых случаях может понадобиться применение дозировок вне этих диапазонов, что будет очевидно специалистам в данной области. Кроме того, следует отметить, что клиницист или лечащий врач будут знать, как и когда начинать, прерывать, корректировать или завершать терапию в соответствии с реакцией отдельного пациента.

В отношении композиций, способов и наборов, приведенных выше, специалисту в данной области будет понятно, что предпочтительными соединениями для применения в каждом из них являются такие соединения, которые отмечены как предпочтительные выше. Еще более предпочтительными соединениями для композиций, способов и наборов являются такие соединения, которые приведены в неограничивающих примерах ниже.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

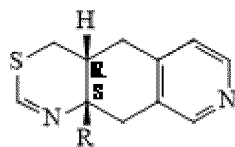
Далее в данном документе термин "водн." означает водный, "р. с." означает реакционную смесь, "к. т." означает комнатную температуру, "DIPEA" означает *N, N*-диизопропилэтиламин, "DIPE"

означает диизопропиловый эфир, "THF" означает тетрагидрофуран, "DMF" означает диметилформамид, "DCM" означает дихлорметан, "EtOH" означает этанол, "EtOAc" означает этилацетат, "AcOH" означает уксусную кислоту, "iPrOH" означает изопропанол, "iPrNH₂" означает изопропиламин, "MeCN" означает ацетонитрил, "MeOH" означает метанол, "Pd(OAc)₂" означает диацетат палладия(II), "рац." означает рацемический, "нас." означает насыщенный, "SFC" означает сверхкритическую флюидную хроматографию, "SFC-MS" означает сверхкритическую флюидную хроматографию/масс-спектрометрию, "LC-MS" означает жидкостную хроматографию/масс-спектрометрию, "GCMS" означает газовую хроматографию/масс-спектрометрию, "HPLC" означает высокоэффективную жидкостную хроматографию, "RP" означает обращенную фазу, "UPLC" означает сверхпроизводительную жидкостную хроматографию, "R_t" означает время удерживания (в минутах), "[M+H]⁺" означает протонированную массу свободного основания соединения, "DAST" означает трифторид диэтиламиносеры, "DMTMM" означает 4-(4,6-диметокси-1,3,5-триазин-2-ил)-4-метилморфолиния хлорид, "HATU" означает O-(7-азабензотриазол-1-ил)-N, N, N',N'-тетраметилурония гексафторфосфат, "HBTU" означает N, N, N',N'-тетраметил-O-(1H-бензотриазол-1-ил)урония гексафторфосфат, "Xantphos" означает (9,9-диметил-9H-ксантен-4,5-диил) бис [дифенилфосфин], "TFA" означает трифторуксусную кислоту, "Et₂O" означает диэтилэфир, "DMSO" означает диметилсульфоксид, "ЯМР" означает ядерный магнитный резонанс, "LDA" означает диизопропиламид лития, "DIPA" означает диизопропиламин, "n-BuLi" означает н-бутиллитий. "ч." означает часы. "Мин." означает минуты, "Na₂CO₃" означает карбонат натрия, "NaHCO₃" означает бикарбонат натрия, "раств." означает раствор, "MgSO₄" означает сульфат магния, "NH₄Cl" означает хлорид аммония, "BOC" означает трет-бутоксикарбонил, "DMAP" означает диметиламинопиридин, "NBS" означает N-бромсукцинимид, "Pd(PPh₃)₄" означает тетраakis (трифенилфосфин) палладий(0), "DBU" означает 1,8-диазабицикло[5.4.0]ундец-7-ен, "SQD" означает одиночный квадрупольный детектор, "MSD" означает масс-селективный детектор, "БЕН" означает мостиковый гибрид этилсилоксан/диоксид кремния, "DAD" означает детектор на диодной матрице, "HSS" означает диоксид кремния повышенной прочности, "Q-ToF" означает квадрупольные времяпролетные масс-спектрометры, "CLND" означает хемилюминесцентный азотный детектор, и "ELSD" означает испарительный детектор светорассеяния.

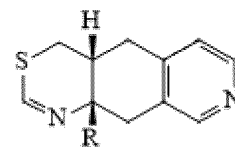
Определение и графическое представление стереохимической конфигурации

Стереоконфигурация центров C_{4a} и C_{10a} промежуточных соединений/соединений была представлена следующим образом:

а) если промежуточное соединение/соединение является энантимерно чистым, и абсолютная стереоконфигурация известна,



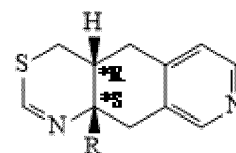
или



ядро было представлено в виде

если, например, стереоконфигурация соответствует $C_{4a}(R), C_{10a}(S)$, и соединение представляет собой отдельный диастереоизомер и является энантимерно чистым;

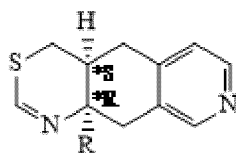
б) если промежуточное соединение/соединение является энантимерно чистым, но абсолютная стереоконфигурация не была



определена, то ядро было представлено в виде

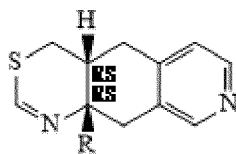
(где

клиновидные связи были присвоены случайным образом для обозначения *цис*-диастереоизомера); если был выделен другой чистый энантиомер с относительной *цис*-конфигурацией, то промежуточное соединение/соединение было представлено в виде



с целью дифференциации от другого выделенного энантимерно чистого промежуточного соединения/соединения;

с) если промежуточное соединение/соединение представляет собой рацемическую смесь из двух энантимеров с относительной *цис*-конфигурацией, то ядро было представлено в виде

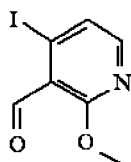


Абсолютная стереохимическая конфигурация промежуточных соединений/соединений была рационализована на основе способов

химического синтеза, ЯМР (определение относительной стереоконфигурации) и совместной кристаллизации соединений 2, 3, 16, 25, 87–89 и 200, а также других энантимерно чистых аналогов с ферментами ВАСЕ 1, что позволяло установить предпочтительную ориентацию R-группы в соединениях вместе с проявляемой *in vitro* активностью соединений.

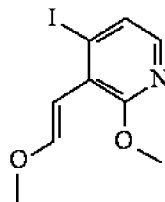
А. Получение промежуточных соединений

Промежуточное соединение 1



Смесь DIPА (3,5 мл, 25 ммоль) в THF (100 мл) охлаждали до -20°C и по каплям добавляли *n*-BuLi (2,7 М в гептане, 9,2 мл, 25 ммоль). После перемешивания в течение 10 мин. р. с. охлаждали до -75°C и по каплям добавляли 2-фтор-3-йодпиридин (5,55 г, 25 ммоль) в THF (50 мл). Перемешивание продолжали в течение 2 ч. при -65°C . Р. с. охлаждали до -75°C и по каплям добавляли этилформиат (2,3 мл, 28 ммоль) в THF (25 мл). Через 10 мин. по каплям добавляли метоксид натрия (5,8 мл, 0,95 г/мл, 25 ммоль, чистота 25%). Охлаждающую ванну убирали и обеспечивали доведение р. с. до к. т. и ее обрабатывали солевым раствором (50 мл), Et₂O (100 мл) и слои разделяли. Водн. слой экстрагировали с помощью Et₂O (100 мл) и объединенные органические слои обрабатывали солевым раствором (50 мл), высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали *in vacuo* с получением промежуточного соединения 1 (6,15 г, 94%), которое применяли в полученном виде на следующей стадии реакции.

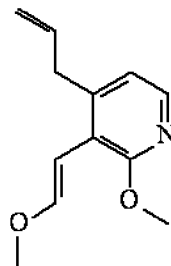
Промежуточное соединение 2



К перемешиваемой смеси хлорида метоксиметилтрифенилфосфония (8,4 г, 24 ммоль) в толуоле (150 мл) по каплям при -10°C добавляли бис(триметилсилил)амид калия (0,7 М в толуоле, 34 мл, 24 ммоль). Перемешивание продолжали в течение 30 мин. при данной температуре. Добавляли по каплям промежуточное соединение 1 (2,1 г, 8 ммоль) в толуоле (20 мл) и через 2 ч. р. с. гасили водой

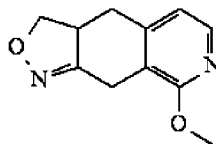
(50 мл) и слои разделяли. Органический слой высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали *in vacuo* с получением масла цвета дубленой кожи. Данное масло очищали посредством флэш-хроматографии (диоксид кремния, EtOAc /гептан от 0/100 до 10/90) с получением промежуточного соединения 2 в виде масла (1,86 г, 80%).

Промежуточное соединение 3



К перемешиваемой и охлажденной (-70°C) смеси промежуточного соединения 2 (30 г, 100 ммоль) в THF (500 мл) по каплям добавляли комплекс хлорид изопропилмагния-хлорид лития (105 мл, 1,3 М, 140 ммоль) при поддержании внутренней температуры на уровне ниже -65°C . Когда добавление завершали, перемешивание продолжали в течение 1,5 ч. Затем добавляли по каплям раств. комплекса цианида меди(I) с ди(литий хлорид) (105 мл, 1 М, 110 ммоль) при -70°C и через 15 мин. по каплям добавляли аллилбромид (28 мл, 31 ммоль). Обеспечивали доведение р. с. до к. т. и затем ее гасили с помощью солевого раствора (100 мл), разбавляли с помощью Et_2O (0,3 л) и воды (0,1 л) и слои разделяли. Органический слой промывали сначала порциями аммиака до исчезновения синего цвета ($5 \times 0,2$ л), а затем соевым раствором (0,1 л). Органический слой высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали *in vacuo* с получением остатка, который очищали посредством колоночной хроматографии (диоксид кремния, DCM/гептан от 98/2 до 100/0) с получением промежуточного соединения 3 (19,6 г, 93%).

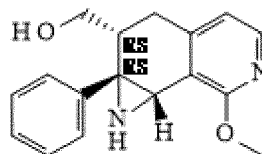
Промежуточное соединение 4



Перемешиваемый раств. промежуточного соединения 3 (19,6 г, 95 ммоль) в THF (200 мл) обрабатывали с помощью водн. 6 М HCl (70 мл, 420 ммоль) и р. с. нагревали при 50°C в течение 30 мин. Р. с. выливали в ледяную воду (0,2 л) и обрабатывали с помощью

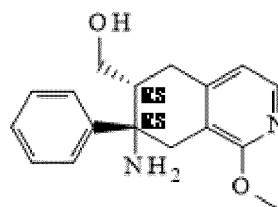
нас. раств. Na_2CO_3 до нейтрального pH. Р. с. экстрагировали с помощью DCM ($3 \times 0,1$ л) и объединенные органические слои высушивали над MgSO_4 . К полученному раств. добавляли триэтиламин (40 мл, 290 ммоль) и затем гидроксилamina гидрохлорид (8 г, 120 ммоль) и перемешивание продолжали в течение 1 ч. Р. с. разбавляли с помощью нас. раств. NaHCO_3 (0,1 л) и слои разделяли. Органический слой высушивали над MgSO_4 , фильтровали и переносили в 1-л 4-горлую колбу, оснащенную механической мешалкой, и охлаждали до 0°C (внутренняя температура). К данному охлажденному раств. по каплям добавляли гипохлорит натрия (210 мл, 470 ммоль). После завершения добавления обеспечивали доведение р. с. до к. т. и перемешивание продолжали при к. т. в течение ночи. Слои разделяли и водн. слой экстрагировали с помощью DCM (0,2 л). Объединенные органические слои высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали *in vacuo* с получением твердого вещества, которое перекристаллизовывали из DIPE (0,1 л) с получением промежуточного соединения 4 (8,64 г, 44%).

Промежуточное соединение 5



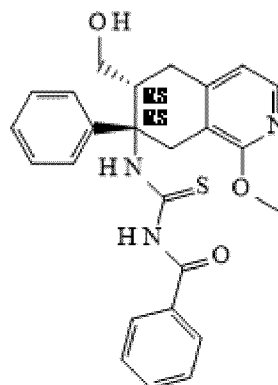
К перемешиваемому охлажденному (-70°C) раств. промежуточного соединения 4 (0,35 г, 1,71 ммоль) в THF (20 мл) по каплям добавляли бромид фенилмagnия в THF (8,6 мл, 1 М, 8,6 ммоль) и р. с. выдерживали при данной температуре в течение 1 ч., затем обеспечивали ее доведение до к. т. и перемешивание продолжали в течение ночи. Р. с. гасили с помощью водн. нас. раств. NH_4Cl (5 мл), EtOAc (10 мл) и слои разделяли. Водн. слой экстрагировали с помощью EtOAc (2×5 мл) и объединенные органические слои обрабатывали солевым раствором (10 мл), высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали *in vacuo*. Неочищенный продукт очищали посредством флэш-хроматографии (диоксид кремния, 7 М аммиак в MeOH/DCM от 0/100 до 5/100) с получением остатка (0,35 г), который дополнительно очищали посредством флэш-хроматографии (диоксид кремния, EtOAc/гептан от 20/80 до 90/100) с получением промежуточного соединения 5 в виде белого твердого вещества (0,14 г, 28%, цис/транс 85/15).

Промежуточное соединение 6



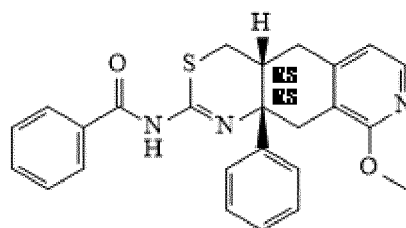
В колбу для гидрогенизации загружали никель Ренея (0,15 г, 2,6 ммоль), EtOH (35 мл) и промежуточное соединение 5 (0,15 г, 0,51 ммоль). Р. с. перемешивали в атмосфере водорода в течение 6 ч., затем фильтровали через небольшую пробку из диатомовой земли и концентрировали *in vacuo*. Неочищенный продукт очищали посредством флэш-хроматографии (диоксид кремния, 7 М аммиак в MeOH/DCM от 0/100 до 5/95) с получением промежуточного соединения 6 (0,15 г, 99%, цис/транс 96/4).

Промежуточное соединение 7



Перемешиваемый раств. промежуточного соединения 6 (0,15 г, 0,53 ммоль) в DCM (5,2 мл) обрабатывали бензоилизотиоцианатом (120 мг, 0,74 ммоль). Через 3 ч. при к. т. р. с. обрабатывали водой (1 мл) и слои разделяли. Органический слой высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали *in vacuo*. Неочищенный продукт очищали посредством флэш-хроматографии (диоксид кремния, MeOH/DCM от 0/100 до 5/95) с получением промежуточного соединения 7 (0,13 г, 53%, цис).

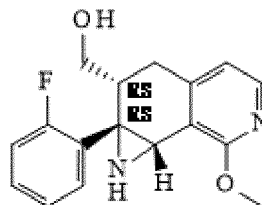
Промежуточное соединение 8



Перемешиваемый раств. промежуточного соединения 7 (0,13 г, 0,29 ммоль) в DCM (20 мл) обрабатывали 1-хлор-N, N-2-триметилпропениламином (58 мкл, 0,44 ммоль) и получаемую в результате р. с. перемешивали при к. т. в течение ночи.

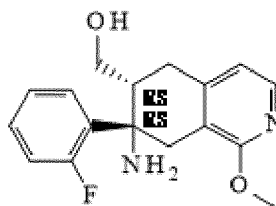
Добавляли нас. водн. раств. NaHCO_3 (6 мл) и слои разделяли. Органический слой высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали *in vacuo* с получением масла. Неочищенный продукт очищали посредством флэш-хроматографии (диоксид кремния, EtOAc/гептан от 0/100 до 40/60) с получением промежуточного соединения 8 в виде белого твердого вещества (0,1 г, 83%, цис).

Промежуточное соединение 9



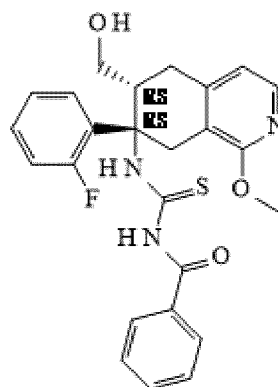
К перемешиваемой охлажденной (5°C) неоднородной смеси бромида 2-фторфенилмagnия (20 мл, 1 М, 20 ммоль) по каплям добавляли раств. промежуточного соединения 4 (2 г, 9,8 ммоль) в толуоле (40 мл). Когда добавление завершали, перемешивание продолжали в течение 30 мин., а затем р. с. гасили с помощью нас. водн. раств. NH_4Cl (50 мл), воды (0,1 л) и слои разделяли. Водн. фазу экстрагировали с помощью EtOAc ($3 \times 0,1$ л) и объединенные органические слои обрабатывали соевым раствором (0,1 л), высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали *in vacuo* с получением остатка, который очищали посредством колоночной хроматографии (диоксид кремния, EtOAc/DCM от 0/100 до 100/0) с получением промежуточного соединения 9 в виде грязно-белой пены (2,45 г, 83%, цис/транс 93/7).

Промежуточное соединение 10



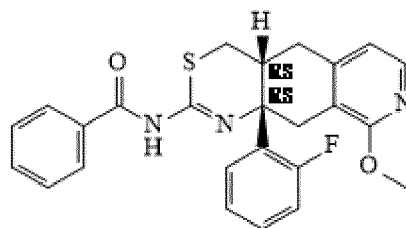
Промежуточное соединение 10 получали согласно процедуре синтеза, аналогичной процедуре, описанной для синтеза промежуточного соединения 6. Используя промежуточное соединение 9 (2,8 г, 9,32 ммоль), получали промежуточное соединение 10 и его применяли в полученном виде на следующей стадии (2,8 г, количественный, цис/транс 96/4).

Промежуточное соединение 11



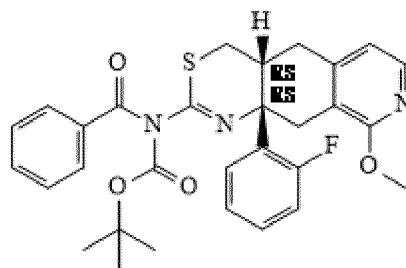
Промежуточное соединение 11 получали согласно процедуре синтеза, аналогичной процедуре, описанной для синтеза промежуточного соединения 7. Используя промежуточное соединение 10 (1,6 г, 5,29 ммоль), получали промежуточное соединение 11 в виде белой пены (2,22 г, 90%, чист).

Промежуточное соединение 12



Промежуточное соединение 12 получали согласно процедуре синтеза, аналогичной процедуре, описанной для синтеза промежуточного соединения 8. Используя промежуточное соединение 11 (2,22 г, 4,77 ммоль), получали промежуточное соединение 12 в виде белого твердого вещества (1,4 г, 66%, чист).

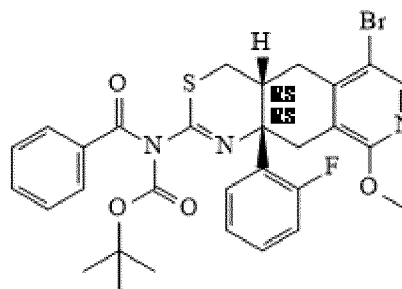
Промежуточное соединение 13



К перемешиваемой смеси промежуточного соединения 12 (1,5 г, 3,4 ммоль) в THF (20 мл) добавляли ВОС-ангидрид (0,9 г, 4,1 ммоль) и DMAP (0,01 г, 0,082 ммоль) и р. с. перемешивали при к. т. в течение 3 ч. Р. с. разбавляли с помощью нас. водн. раств. NaHCO_3 (5 мл), слои разделяли и органический слой высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали *in vacuo*. Остаток очищали посредством колоночной хроматографии (диоксид кремния, MeOH/DCM от 0/100 до 2/98) с получением промежуточного соединения 13 в

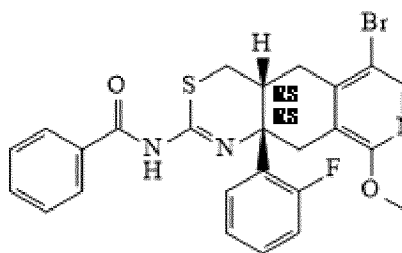
виде белого твердого вещества (1,1 г, 60%, цис).

Промежуточное соединение 14



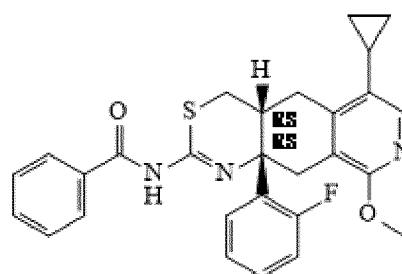
К перемешиваемой суспензии промежуточного соединения 13 (1,1 г, 2 ммоль) в MeCN (50 мл) небольшими порциями добавляли NBS (0,46 г, 2,6 ммоль). Через 16 ч. р. с. разбавляли с помощью DCM (0,1 л) и нас. водн. раств. NaHCO_3 и слои разделяли. Органический слой обрабатывали соевым раствором, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали *in vacuo* с получением твердого вещества. Данный неочищенный продукт очищали посредством колоночной хроматографии (диоксид кремния, EtOAc/гептан от 0/100 до 50/50) с получением промежуточного соединения 14 в виде белого твердого вещества (0,8 г, 64%, цис).

Промежуточное соединение 15



Перемешиваемую смесь промежуточного соединения 14 (0,8 г, 1,3 ммоль) в DCM (20 мл) обрабатывали с помощью TFA (1 мл, 13 ммоль). Через 1 ч. при к. т. смесь разбавляли с помощью нас. водн. раств. NaHCO_3 до достижения pH ~8 и слои разделяли. Органический слой высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали *in vacuo* с получением промежуточного соединения 15 в виде белого твердого вещества (0,67 г, 99%, цис).

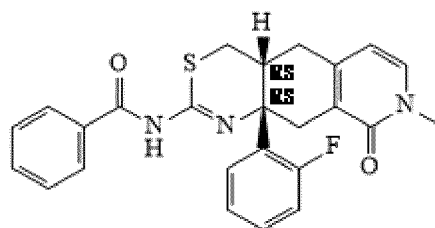
Промежуточное соединение 16



В пробирку, предназначенную для микроволновой обработки,

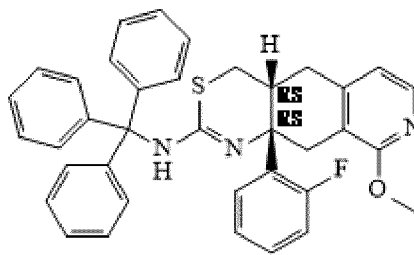
загружали промежуточное соединение 15 (150 мг, 0,29 ммоль), циклопропилбороновую кислоту (35 мг, 0,41 ммоль), трициклогексилфосфин (10 мг, 0,036 ммоль), трехосновный фосфат калия (200 мг, 0,94 ммоль), ацетат палладия(II) (5 мг, 0,022 ммоль), толуол (5 мл) и воду (0,1 мл). Р. с. продували азотом при энергичном перемешивании в течение 5 мин., затем пробирку закупоривали и нагревали в течение 3 ч. при 120°C в металлическом нагревательном блоке DrySyn. Обеспечивали охлаждение р. с., ее разбавляли водой (5 мл) и толуолом (20 мл). Слои разделяли и органический слой последовательно обрабатывали соевым раствором (10 мл), высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали *in vacuo*. Неочищенный продукт очищали посредством флэш-хроматографии (диоксид кремния, EtOAc/гептан от 0/100 до 40/60) с получением промежуточного соединения 16 в виде твердого вещества (72 мг, 52%, цис).

Промежуточное соединение 17



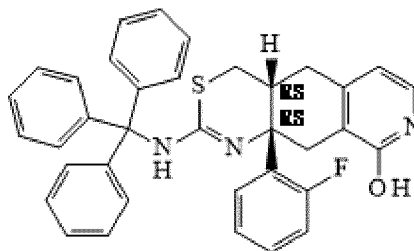
В пробирку, предназначенную для микроволновой обработки, загружали промежуточное соединение 12 (0,2 г, 0,45 ммоль) и метилиодид (2 мл, 32 ммоль). Пробирку закупоривали и нагревали при 100°C в металлическом нагревательном блоке DrySyn в течение 16 ч., затем р. с. концентрировали *in vacuo*. Неочищенный продукт разбавляли с помощью DCM (10 мл) и воды (1 мл). Слои разделяли и органический слой высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали *in vacuo* с получением твердого вещества цвета дубленой кожи. Данное твердое вещество очищали посредством препаративной HPLC (неподвижная фаза: RP XBridge Prep C18 OBD-10 мкм, 30×150 мм, подвижная фаза: 0,25% раств. NH₄HCO₃ в воде, MeOH) с получением промежуточного соединения 17 в виде белого твердого вещества (0,08 г, 40%, цис).

Промежуточное соединение 18



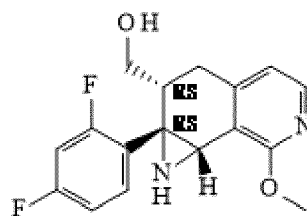
К перемешиваемому раств. соединения 2 (104 мг, 0,3 ммоль) и трифенилметилхлорида (115 мг, 0,4 ммоль) в DMF (2 мл) добавляли триэтиламин (65 мкл, 0,47 ммоль). Смесь нагревали при 80°C в течение 4 ч. Охлажденную смесь выливали в ледяную воду (~10 мл) и затем фильтровали. Оставшееся твердое вещество растворяли в DCM (20 мл), высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и концентрировали *in vacuo* с получением масла цвета дубленой кожи. Данный неочищенный продукт очищали посредством колоночной хроматографии (диоксид кремния, MeOH/DCM от 0/100 до 5/95) с получением промежуточного соединения 18 в виде белого твердого вещества (0,14 г, 80%, цис).

Промежуточное соединение 19



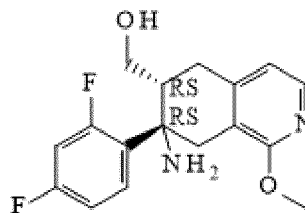
Пробирку, предназначенную для микроволновой обработки, загруженную смесью промежуточного соединения 18 (0,14 г, 0,24 ммоль) в MeCN (15 мл), обрабатывали триметилхлорсиланом (0,12 мл, 0,97 ммоль) и иодидом натрия (0,15 г, 0,98 ммоль). Пробирку закупоривали и нагревали при 50°C в течение 3 дней. Р. с. разбавляли с помощью DCM (50 мл) и воды (10 мл) и слои разделяли. Органический слой обрабатывали солевым раствором (10 мл), высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и концентрировали *in vacuo* с получением темно-коричневого масла. Данный неочищенный продукт очищали посредством колоночной хроматографии (диоксид кремния, MeOH/DCM от 0/100 до 10/90) с получением промежуточного соединения 19 в виде желтоватого твердого вещества (0,11 г, 81%, цис).

Промежуточное соединение 20



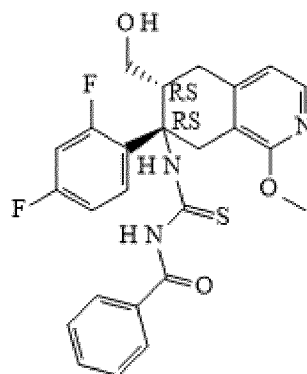
1-Бром-2,4-дифторбензол (9,699 мл, 70,51 ммоль) перемешивали в 43 мл THF в атмосфере азота и р. с. охлаждали до -15°C . По каплям добавляли хлорид изопропилмагния (2 М в THF, 43,048 мл, 86,1 ммоль) при -15°C и р. с. перемешивали при $0-5^{\circ}\text{C}$ в течение 1 ч., затем охлаждали снова до -15°C . По каплям добавляли промежуточное соединение 4 (7,2 г, 35,26 ммоль), растворенное в 43 мл THF. Обеспечивали достижение смеси к. т., затем по каплям ее добавляли к 60 мл нас. раств. NH_4Cl и экстрагировали с помощью EtOAc. Органический слой высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали *in vacuo* с получением промежуточного соединения 20 (11,15 г, 99%, смесь цис/транс).

Промежуточное соединение 21



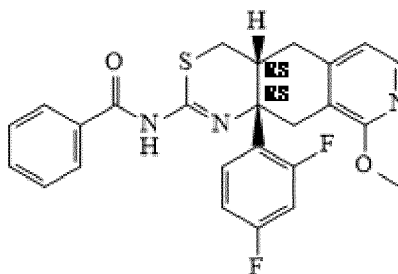
Никель Ренея (Raney®) (64 г) и тиофен (4% в DIPE, 85 мл) в EtOH (473 мл) помещали в колбу для гидrogenизации перед добавлением промежуточного соединения 20 (17,2 г, 54 ммоль), растворенного в EtOH (473 мл). Колбу дегазировали и затем продували газообразным водородом перед перемешиванием в течение 6 ч. при 14°C . Р. с. фильтровали через дикалит (Dicalite®) и промывали с помощью EtOH и THF перед концентрированием продукта посредством выпаривания. Продукт очищали (диоксид кремния, MeOH/DCM от 0/100 до 6/94). Чистые фракции выпаривали с получением промежуточного соединения 21 (10,34 г, 60%).

Промежуточное соединение 22



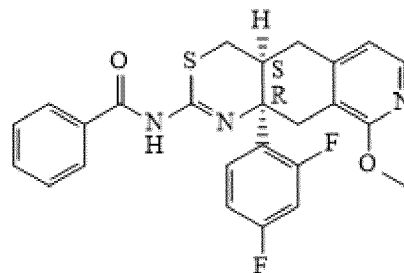
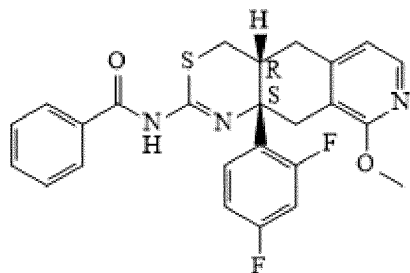
Промежуточное соединение 21 (2,32 г, 7,24 ммоль) растворяли в 130 мл DCM на ледяной бане перед добавлением к смеси по каплям бензоилизотиоцианата (1,66 г, 10,14 ммоль) в 20 мл DCM и обеспечивали перемешивание реакционной смеси при к. т. в течение 1,5 ч. Добавляли небольшое количество льда ко все еще перемешиваемой р. с. и продукт экстрагировали с применением DCM; органический слой высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали посредством выпаривания. Органический слой очищали посредством колоночной хроматографии (диоксид кремния, EtOAc/гептан от 0/100 до 80/20). Фракции, содержащие продукт, собирали и концентрировали посредством выпаривания с получением промежуточного соединения 22 (3,50 г, количественный).

Промежуточное соединение 23



Промежуточное соединение 22 (3,34 г, 6,91 ммоль) перемешивали в DCM (100 мл) при к. т. в потоке азота перед добавлением по каплям 1-хлор-N, N,2-триметилпропениламина (2,5 мл, 18,90 ммоль) и обеспечивали перемешивание реакционной смеси в течение 10 мин. Реакция проходила до завершения, и затем реакционную смесь гасили с помощью 20 мл нас. водн. раств. NaHCO_3 и обеспечивали ее перемешивание в течение 10 мин. Органический материал экстрагировали с применением DCM, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали посредством выпаривания. Данный материал перемешивали в DIPE на бане со льдом и EtOH с получением белого твердого вещества, которое отфильтровывали и высушивали в печи с получением промежуточного соединения 23 (2,5 г, 78%).

Промежуточные соединения 23a и 23b

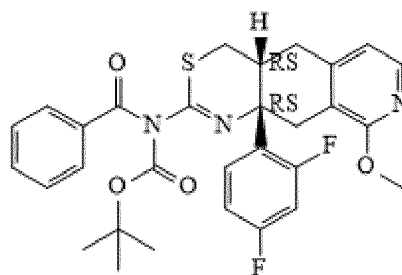


Промежуточное соединение 23a

Промежуточное соединение 23b

Промежуточное соединение 22 (3,5 г, 7,24 ммоль) перемешивали в DCM (91 мл) при к. т. в потоке азота перед добавлением по каплям 1-хлор-N, N,2-триметилпропиламина (2,62 мл, 19,80 ммоль) и обеспечивали перемешивание р. с. в течение 10 мин. Реакция проходила до завершения, и затем реакционную смесь гасили с помощью 20 мл нас. водн. раств. NaHCO_3 и обеспечивали ее перемешивание в течение 10 мин. Органический материал экстрагировали с применением DCM, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали посредством выпаривания. Данный материал перемешивали в DIPE с получением белого твердого вещества, которые отфильтровывали и высушивали в печи с получением 2,46 г смеси, которую очищали посредством препаративной SFC (неподвижная фаза: Chiralpak Diacel AD 30×250 мм, подвижная фаза: CO_2 , MeOH с 0,2% $i\text{PrNH}_2$) с получением промежуточного соединения 23a (1,99 г, 33%, чистый энантиомер) и промежуточного соединения 23b (1,67, 28% чистый энантиомер).

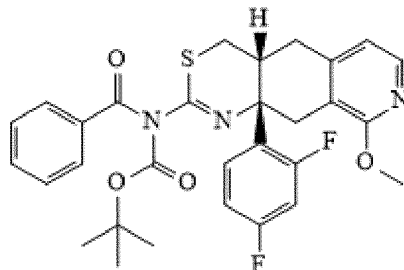
Промежуточное соединение 24



Промежуточное соединение 23 (2,2 г, 4,73 ммоль) растворяли в THF (75 мл) перед добавлением ди-трет-бутилдикarbonата (2,06 г, 9,45 ммоль) с последующим добавлением 4-диметиламинопиридина (173,21 мг, 1,42 ммоль). Р. с. перемешивали при к. т. в течение 30 мин., затем ее разбавляли с помощью 40 мл воды и материал подкисляли с применением 1 М HCl . Органический материал затем экстрагировали с применением DCM и органические слои высушивали над MgSO_4 перед фильтрованием и концентрированием посредством выпаривания. Продукт очищали посредством колоночной

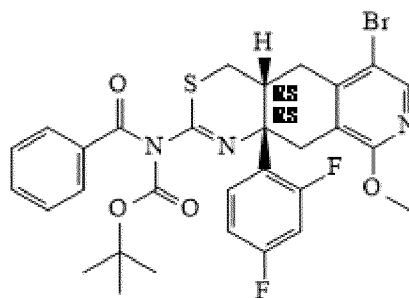
хроматографии (диоксид кремния; MeOH/DCM от 0/100 до 1/99) и фракции, содержащие продукт, объединяли и концентрировали посредством выпаривания с получением промежуточного соединения 24 (2,74 г).

Промежуточное соединение 24а



Перемешиваемую смесь промежуточного соединения 23а (2,2 г, 0,0047 моль) в THF (20 мл, 0,89 г/мл, 0,25 моль) обрабатывали с помощью ВОС-ангидрида (1,24 г, 0,0057 моль) и DMAP (50 мг, 0,00041 моль). После перемешивания в течение 1 ч. при к. т. р. с. разбавляли с помощью насыщенного раствора NaHCO_3 (20 мл), воды (50 мл) и EtOAc (100 мл) и слои разделяли. Водный слой экстрагировали с помощью EtOAc (50 мл). Объединенные органические слои обрабатывали с помощью солевого раствора (20 мл), высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали *in vacuo* с получением промежуточного соединения 24а в виде белой пены (2,77 г, 99%).

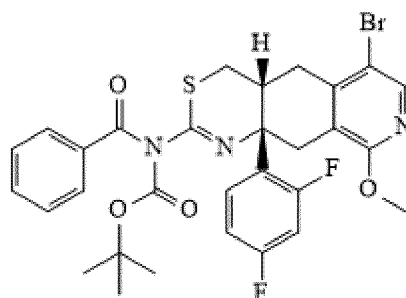
Промежуточное соединение 25



Промежуточное соединение 24 (2,74 г, 4,84 ммоль) растворяли в ACN (80 мл) перед добавлением небольшими порциями N-бромсукцинимидом (1,12 г, 6,30 ммоль) при к. т. и р. с. затем перемешивали в течение 22 ч. (обязательно в течение ночи). Р. с. затем гасили с помощью K_2CO_3 и перемешивали в течение 10 мин. перед экстрагированием органического материала с применением DCM; органический слой затем высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали посредством выпаривания с получением промежуточного соединения 25 (3,1 г, после обработки LCMS демонстрировала присутствие 18% продукта без защитной ВОС-

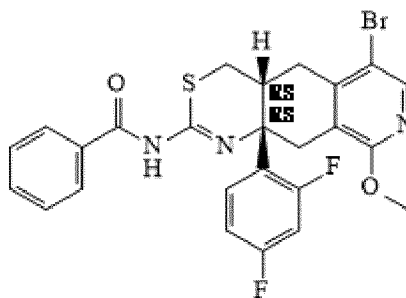
группы).

Промежуточное соединение 25a



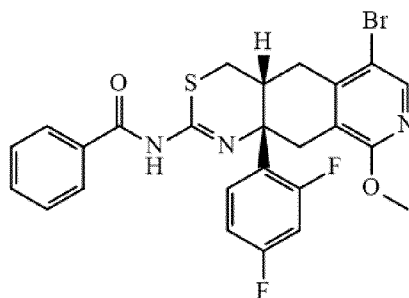
К перемешиваемой смеси промежуточного соединения 24a (2,77 г, 0,0049 моль) в ACN (250 мл, 0,79 г/мл, 4,81 моль) добавляли небольшими порциями N-бромсукцинимид (1 г, 0,0056 моль) и получаемую в результате р. с. перемешивали в течение 4 дней при к. т., затем добавляли большее количество N-бромсукцинимид (0,2 г, 0,0011 моль) и перемешивание продолжали в течение еще 3 ч. Р. с. разбавляли с помощью 40 мл насыщенного раствора NaHCO_3 , воды (0,1 л), EtOAc (200 мл) и слои разделяли. Водный слой экстрагировали с помощью EtOAc (50 мл) и объединенные органические слои обрабатывали солевым раствором (0,1 л), высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали *in vacuo* с получением грязно-белого твердого вещества. Данное вещество очищали посредством колоночной хроматографии на силикагеле с применением 120-г колонки RediSep для флэш-хроматографии с элюированием с помощью градиента 0–50% EtOAc в гептане с получением промежуточного соединения 25a в виде яркого белого твердого вещества (2,1 г, выход 67%).

Промежуточное соединение 26



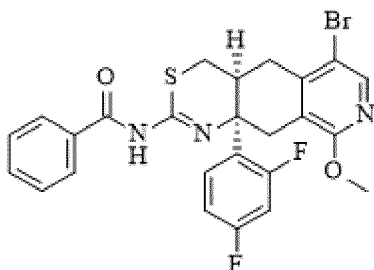
Промежуточное соединение 25 (3,44 г, 5,34 ммоль) и муравьиную кислоту (20 мл, 530,14 ммоль) перемешивали при к. т. в течение одного часа. Р. с. концентрировали *in vacuo* и повышали основность неочищенного продукта с помощью нас. водн. раств. Na_2CO_3 . Р. с. экстрагировали с помощью DCM и органический слой высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали *in vacuo* с получением промежуточного соединения 26 (2,9 г, 99%, цис).

Промежуточное соединение 26a



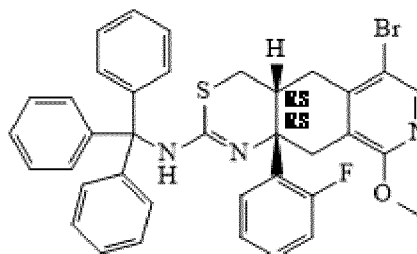
Промежуточное соединение 25a (13,71 г, 21 ммоль) и муравьиную кислоту (79,7 мл, 2,1 ммоль) перемешивали при к. т. в течение 1 ч. Муравьиную кислоту, присутствующую в р. с., выпаривали и повышали основность продукта с помощью Na_2CO_3 перед экстрагированием с помощью DCM. Органический слой высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали посредством выпаривания с получением продукта, который кристаллизовали из DIPE. Кристаллы отфильтровывали и высушивали с получением промежуточного соединения 26a (9,32 г, 81%).

Промежуточное соединение 26 В



Согласно последовательности синтеза, аналогичной последовательности, применяемой для синтеза (в следующем порядке) промежуточных соединений 23a, 24a, 25a и 26a, промежуточное соединение 26b получали, используя промежуточное соединение 23b.

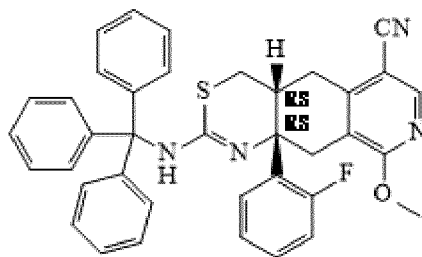
Промежуточное соединение 27



Промежуточное соединение 27 получали согласно процедуре синтеза, аналогичной процедуре, описанной для синтеза промежуточного соединения 18. Используя соединение 16 (0,47 г, 1,11 ммоль), получали промежуточное соединение 27 (0,396 г, 54%,

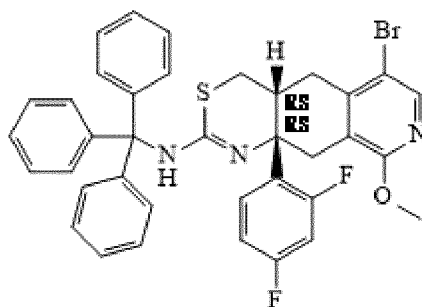
цис).

Промежуточное соединение 28



В пробирку, предназначенную для микроволновой обработки, загружали трис(дифенилиденацетон)дипалладий(0) (25 мг, 0,027 ммоль), 1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен (30 мг, 0,053 ммоль) в диметилацетамиде (10 мл) и дегазировали азотом, затем добавляли промежуточное соединение 27 (150 мг, 0,226 ммоль), цинковую пыль (5 мг, 0,076 ммоль) и цианид цинка (108 мг, 0,9 ммоль). Пробирку закупоривали и нагревали при 120°C в течение 12 ч. Обеспечивали охлаждение р. с., выливали в ледяную воду (30 мл) и экстрагировали с помощью EtOAc (2×20 мл). Объединенные органические слои обрабатывали водой (2×5 мл), высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали *in vacuo* с получением коричневого твердого вещества. Данное твердое вещество очищали посредством колоночной хроматографии (диоксид кремния, MeOH/DCM от 0/100 до 1/99) с получением промежуточного соединения 28 в виде белого твердого вещества (0,159 г, количественный, цис), которое применяли в полученном виде на следующей стадии.

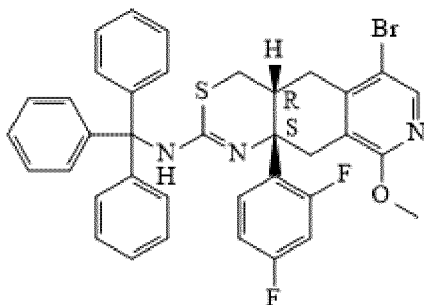
Промежуточное соединение 29



Соединение 17 (1,89 г, 4,29 ммоль, полученное из промежуточного соединения 26 посредством отщепления Cbz с помощью DBU, как описано в Е4, вторая стадия) растворяли в DMF (143,8 мл) перед добавлением триметиламина (1,19 мл, 8,6 ммоль) с последующим добавлением трифенилметилхлорида (3,59 г, 12,88 ммоль). Р. с. затем нагревали до 80°C в течение 18 ч., затем выливали в ~200 мл ледяной воды, что вызывало осаждение коричневого твердого вещества. Его отфильтровывали перед

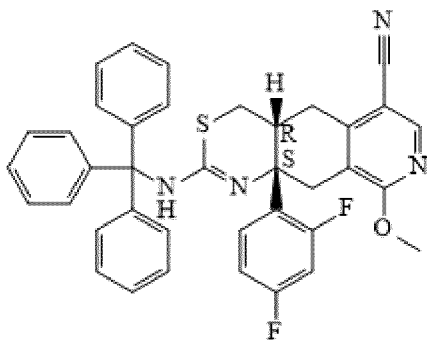
растворением в DCM, высушивали над MgSO_4 и фильтровали. Водный слой промывали 3 раза с помощью EtOAc и объединенные органические слои высушивали над MgSO_4 и фильтровали. Все органические слои объединяли и концентрировали посредством выпаривания с получением неочищенного промежуточного соединения 29, которое очищали посредством колоночной хроматографии (диоксид кремния, MeOH/DCM от 0/100 до 2/98). Чистые фракции объединяли и концентрировали посредством выпаривания и затем кристаллизовали в DIPE с получением промежуточного соединения 29 (1,42 г, 49%) в виде белого твердого вещества.

Промежуточное соединение 29a



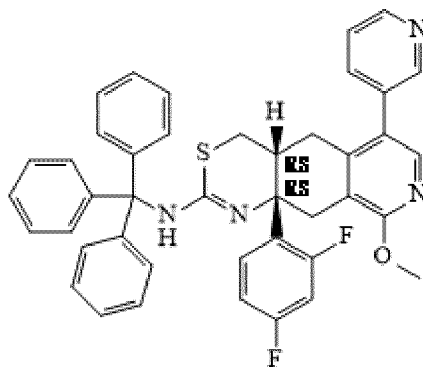
Соединение 40 (0,87 г, 1,976 ммоль) растворяли в сухом ACN (76 мл) и затем добавляли Et_3N (0,55 мл, 3,95 ммоль) с последующим добавлением трифенилметилхлорида (0,826 г, 2,96 ммоль). После этого р. с. нагревали до 80°C в течение 1,5 ч., затем выпаривали растворитель и остаток растворяли в EtOAc. После обеспечения повышения основности смеси с применением K_2CO_3 органический слой промывали солевым раствором (x3) и фазы разделяли. Объединенные органические слои высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали *in vacuo*. Неочищенный продукт очищали посредством колоночной флэш-хроматографии (силикагель, EtOAc/гептан от 0/100 до 10/90). Необходимые фракции собирали и выпаривали *in vacuo*. Соединение растирали в порошок с MeOH и кристаллы отфильтровывали и высушивали с получением промежуточного соединения 29a (1,3 г, 96%) в виде белого твердого вещества.

Промежуточное соединение 30



Трис (дибензилиденацетон) дипалладий (0) (519,4 мг, 0,57 ммоль) и 1,1'-бис (дифенилфосфино) ферроцен (649,7 мг, 1,17 ммоль) смешивали в DMA (106,7 мл) во флаконе, предназначенном для микроволновой обработки, и данную смесь дегазировали с применением азота в течение 10 мин. Затем добавляли промежуточное соединение 29а (1,6 г, 2,34 моль) с последующим добавлением цинка (183,9 мг, 2,81 ммоль) и $\text{Zn}(\text{CN})_2$ (2,20 г, 18,8 ммоль). Флакон закупоривали и нагревали в течение 4 ч. при 150°C . Р. с. выливали в ледяную воду и перемешивали, что вызывало образование коричневого твердого вещества. Твердое вещество отфильтровывали, растворяли в DCM и промывали с помощью воды. Органический слой высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали посредством выпаривания. Продукт очищали посредством колоночной хроматографии (диоксид кремния, MeOH/DCM от 0/100 до 1/99). Чистые фракции объединяли и концентрировали посредством выпаривания с получением промежуточного соединения 30 (1,47 г, количественный).

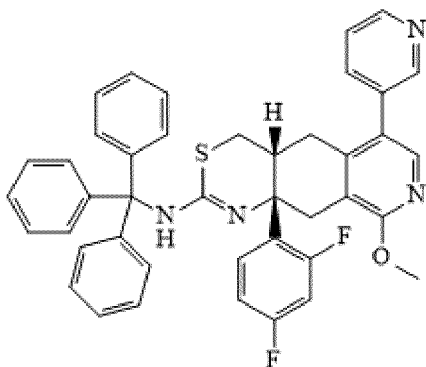
Промежуточное соединение 31



Комплекс дихлорида 1,1'-бис (дифенилфосфино) ферроцен-палладия(II) с дихлорметаном (179,5 мг, 0,22 ммоль) добавляли к дегазированному азотом раствору промежуточного соединения 29 (150 мг, 0,22 ммоль), пинаколового сложного эфира 3-пиридинбороновой кислоты (54 мг, 0,26 ммоль) и карбоната калия (60,7 мг, 0,44 ммоль) в 1,4-диоксане (8 мл) и воде (2 мл) во

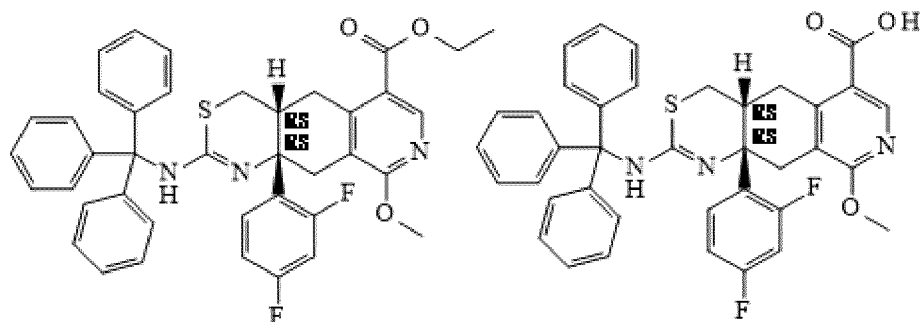
флаконе, предназначенном для микроволновой обработки, который закупоривали и нагревали при 100°C в течение 17 ч. Р. с. экстрагировали с помощью DCM и органические слои промывали солевым раствором, высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и концентрировали *in vacuo*. Продукт очищали посредством колоночной хроматографии (диоксид кремния, MeOH/DCM от 0/100 до 4/96) с получением промежуточного соединения 31 (60 мг, 40%, цис).

Промежуточное соединение 31a



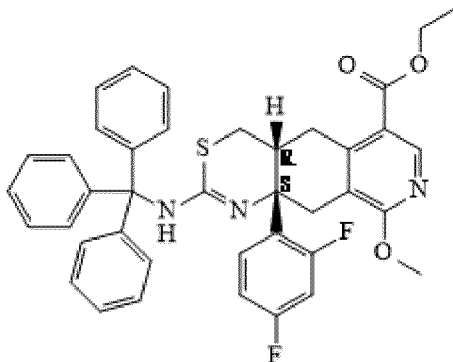
Комплекс дихлорида 1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен-палладия(II) с дихлорметаном (300 мг, 0,37 ммоль) добавляли к дегазированному с помощью N_2 раствору промежуточного соединения 29a (250 мг, 0,37 ммоль), пинаколового сложного эфира 3-пиридинбороновой кислоты (90,1 мг, 0,44 ммоль) и K_2CO_3 (101,2 мг, 0,73 ммоль) в 1,4-диоксане (13,3 мл) и дистиллированной воде (3,3 мл) во флаконе, предназначенном для микроволновой обработки, который закупоривали и нагревали до 100°C в течение 17 ч. Органический материал экстрагировали с применением DCM и органические слои промывали солевым раствором; данный органический материал затем высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и концентрировали посредством выпаривания. Продукт очищали посредством колоночной хроматографии (диоксид кремния, MeOH/DCM от 0/100 до 4/96). Фракции, содержащие продукт, объединяли и концентрировали посредством выпаривания с получением промежуточного соединения 31a (200 мг, 80%).

Промежуточное соединение 32



В 75-мл автоклав из нержавеющей стали в атмосфере азота загружали промежуточное соединение 29 (160 мг, 0,23 ммоль), $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (1 мг, 0,005 ммоль), 1,3-бис(дифенилфосфино)пропан (3,9 мг, 0,009 ммоль), ацетат калия (46 мг, 0,469 ммоль), THF (20 мл) и EtOH (20 мл). Автоклав закрывали и поднимали давление до 30 бар CO . Р. с. перемешивали при 120°C в течение 16 ч., затем растворители выпаривали, добавляли воду и продукт экстрагировали с помощью DCM. Органический слой высушивали над MgSO_4 , фильтровали и выпаривали *in vacuo*. Неочищенный продукт очищали посредством колоночной хроматографии (диоксид кремния, EtOH/DCM от 0/100 до 2/98) с получением промежуточного соединения 32 в виде смеси сложного эфира и кислоты, которую применяли в полученном виде на следующей стадии (цис).

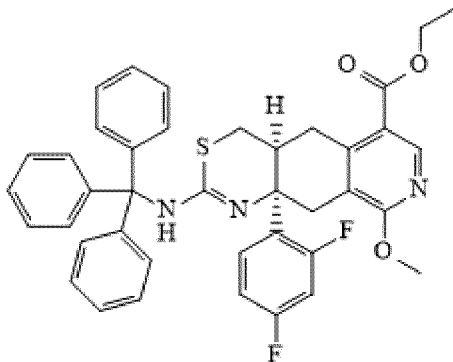
Промежуточное соединение 32а



В 75-мл автоклав из нержавеющей стали в атмосфере азота загружали промежуточное соединение 29а (1,1 г, 1,61 ммоль), $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (77,2 мг, 0,34 ммоль), 1,3-бис(дифенилфосфино)пропан (44 мг, 0,107 ммоль), ацетат калия (385 мг, 3,93 ммоль), THF (20 мл) и EtOH (20 мл). Автоклав закрывали и поднимали давление до 30 бар CO . Р. с. перемешивали в течение 19 ч. при 120°C . Р. с. выпаривали перед добавлением воды и DCM и смесь фильтровали через дикалит (Dicalite®). Органический материал экстрагировали с помощью DCM, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и

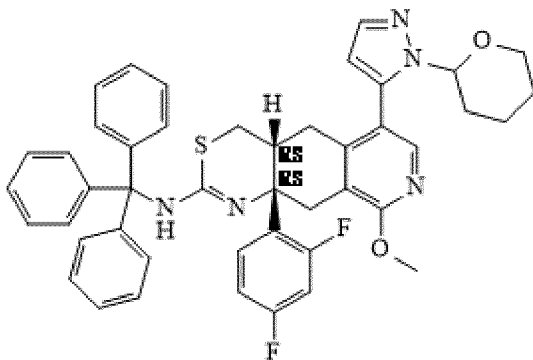
концентрировали посредством выпаривания с получением 1,48 г продукта, который очищали посредством колоночной хроматографии (диоксид кремния, MeOH/DCM от 0/100 до 2/98), и фракции, содержащие продукт, объединяли и концентрировали посредством выпаривания с получением промежуточного соединения 32a (0,902 г, 83%).

Промежуточное соединение 32b



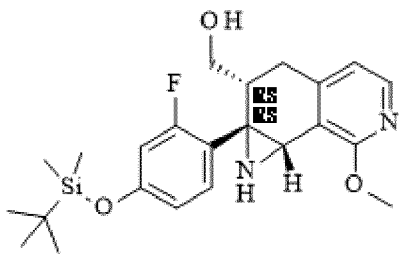
Согласно последовательности синтеза, аналогичной последовательности, применяемой для синтеза (в следующем порядке) промежуточного соединения 26a, пример E25, промежуточного соединения 29a и промежуточного соединения 32a, получали промежуточное соединение 32b, используя промежуточное соединение 26b (35% за три стадии).

Промежуточное соединение 33



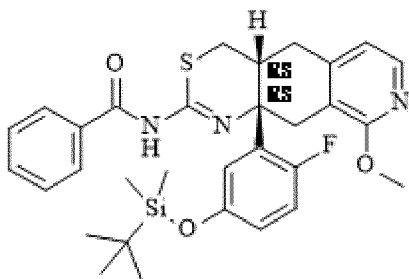
Промежуточное соединение 33 получали согласно процедуре синтеза, аналогичной процедуре, описанной для синтеза промежуточного соединения 31. Используя коммерчески доступный пинаколовый сложный эфир 1-(2-тетрагидропиранил)-1H-пиразол-5-бороновой кислоты (147 мг, 0,53 ммоль) и промежуточное соединение 29 (300 мг, 0,44 ммоль), получали промежуточное соединение 33 (215 мг, 65%, цис).

Промежуточное соединение 34



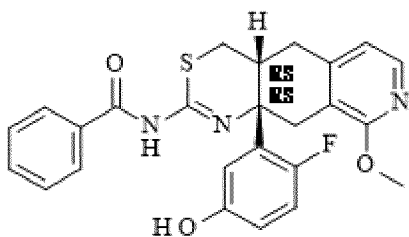
2-Бром-4-[[(1,1-диметилэтил) диметилсилил] окси]-1-фторбензол (CAS 1037088-98-4, 9,327 г, 30,554 ммоль) перемешивали в THF (18,7 мл) в атмосфере азота, затем смесь охлаждали до -20°C . При -20°C по каплям добавляли хлорид изопропилмагния (2 М в THF, 18,65 мл, 37,308 ммоль). Р. с. перемешивали при $0-5^{\circ}\text{C}$ в течение 1 ч., затем охлаждали до -40°C . Промежуточное соединение 4 (3,12 г, 15,277 ммоль) растворяли в THF (18,7 мл) и добавляли по каплям к р. с., для которой затем обеспечивали достижение к. т. Затем добавляли нас. раств. NH_4Cl для гашения реакционной смеси и смесь экстрагировали с помощью DCM. Органический слой высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали *in vacuo*. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии (диоксид кремния, MeOH/DCM от 1/99 до 2/98). Необходимые фракции собирали и растворитель выпаривали *in vacuo* с получением промежуточного соединения 34 в виде желтоватой пены (4,55 г, 69%, цис/транс).

Промежуточное соединение 35



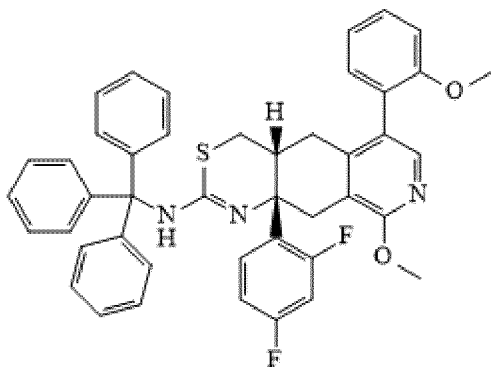
Согласно последовательности синтеза, аналогичной последовательности, применяемой для синтеза (в следующем порядке) промежуточного соединения 6, промежуточного соединения 7 и промежуточного соединения 8, получали промежуточное соединение 35, используя промежуточное соединение 34 (66% за 3 стадии, цис).

Промежуточное соединение 36



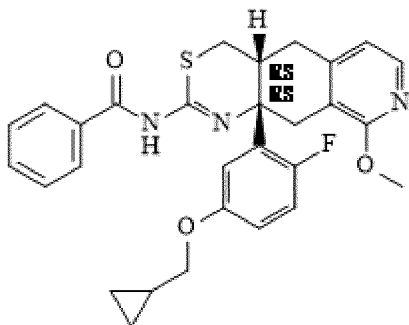
Фторид тетрабутиламмония (1 М в THF, 2,42 мл, 2,42 ммоль) по каплям добавляли к раств. промежуточного соединения 35 (1 г, 1,731 ммоль) в THF (19,7 мл). Р. с. перемешивали при к. т. в течение 40 мин., затем ее разбавляли с помощью 100 мл DCM, повышали ее основность с помощью нас. раств. NaHCO_3 , поддерживая температуру на уровне ниже 5°C , аммиака в MeOH и экстрагировали с помощью DCM. Органический слой отделяли, высушивали с помощью MgSO_4 , фильтровали и растворитель выпаривали *in vacuo*. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии (диоксид кремния, MeOH/DCM от 0/100 до 1/99). Необходимые фракции собирали и растворитель выпаривали с получением промежуточного соединения 36 (790 мг, 99%, цис).

Промежуточное соединение 37



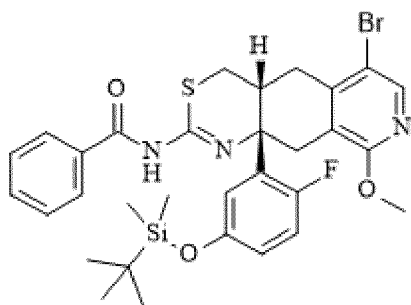
Промежуточное соединение 37 получали согласно последовательности синтеза, аналогичной последовательности, применяемой для синтеза промежуточного соединения 31a, используя промежуточное соединение 29a и 2-метоксифенилбороновую кислоту.

Промежуточное соединение 38

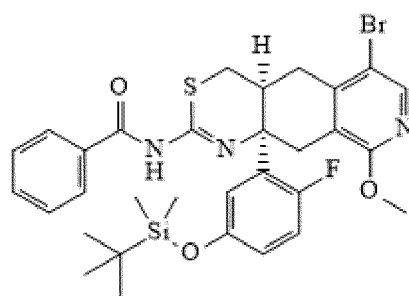


Промежуточное соединение 36 (260 мг, 0,56 ммоль) перемешивали в MeOH (18 мл). Добавляли Na₂CO₃ (178 мг, 1,68 ммоль) и (бромметил)циклопропан (606 мг, 4,49 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при 40°C в течение 120 ч. По истечению этого времени р. с. концентрировали *in vacuo*, затем остаток растворяли в DCM, органический слой промывали водой, высушивали над MgSO₄ и концентрировали *in vacuo*. Неочищенный материал очищали посредством флэш-хроматографии (диоксид кремния, MeOH/DCM от 0/100 до 1/99) с получением промежуточного соединения 38 (130 мг, 45%, цис).

Промежуточные соединения 39, 39a и 39b



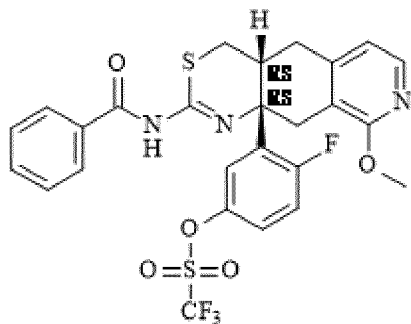
39a



39b

Промежуточное соединение 39a получали согласно процедуре синтеза, аналогичной процедуре, описанной для синтеза промежуточного соединения 15 (из промежуточного соединения 12). Используя промежуточное соединение 35 (три партии по 2,41 г, 1 г и 5,15 г, каждая со значением времени реакции, находящимся в диапазоне от 1 до 4 ч., объединяли для очистки), получали промежуточное соединение 39, которое затем отделяли посредством препаративной SFC (неподвижная фаза: Kromasil (R, R) Whelk-O 1 (25×250 мм), подвижная фаза: CO₂, iPrOH с 0,4% iPrNH₂) с получением необходимого промежуточного соединения 39a (942 мг, 16%) и промежуточного соединения 39b (914 мг, 16%).

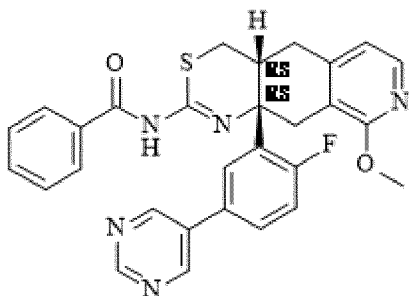
Промежуточное соединение 40



Промежуточное соединение 36 (460 мг, 0,992 ммоль) перемешивали в DCM (19 мл) в атмосфере азота. Добавляли DIPEA

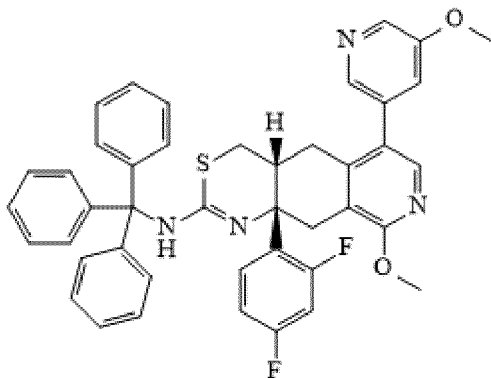
(641 мг, 4,962 ммоль) и р. с. охлаждали до 0°C. По каплям добавляли трифлатный ангидрид (1 М в DCM, 1,7 мл, 1,7 ммоль). Затем для р. с. обеспечивали достижение к. т. и ее перемешивали в течение 1 ч. После контроля посредством LC-MS добавляли дополнительные 0,6 мл трифлатного ангидрида и обеспечивали перемешивание р. с. в течение 1 ч. при к. т. Затем добавляли 40 мл DCM и р. с. охлаждали до 5°C. По каплям добавляли 10 мл воды и р. с. перемешивали в течение 10 мин. при к. т. Фазы разделяли, органический слой высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали *in vacuo*. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии (диоксид кремния, DCM) с получением промежуточного соединения 40 (520 мг, 88%, цис).

Промежуточное соединение 41



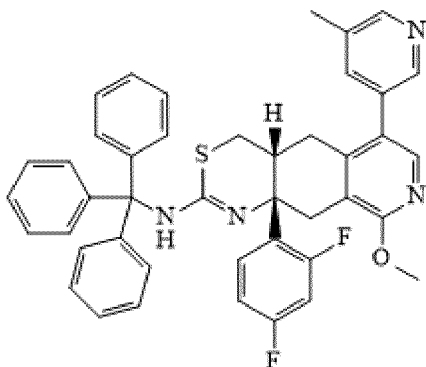
Промежуточное соединение 40 (200 мг, 0,336 ммоль) перемешивали в 1,2-диметоксиэтаноле (2 мл). Добавляли пиримидин-5-бороновую кислоту (54 мг, 0,437 ммоль), Pd(OAc)₂ (15 мг, 0,0672 ммоль), 1,3-бис(дифенилфосфино)пропан (42 мг, 0,10 ммоль) и раств. Na₂CO₃ (2 М, 1 мл). Р. с. перемешивали при 90°C в течение 4 ч., затем охлаждали до к. т. и экстрагировали с помощью DCM. Органический слой высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали *in vacuo*. Две последовательные очистки посредством флэш-хроматографии (диоксид кремния, MeOH/DCM от 0/100 до 1/99, затем EtOAc/DCM от 10/90 до 30/70) обеспечивали получение промежуточного соединения 41 (205 мг, 77%, цис).

Промежуточное соединение 42



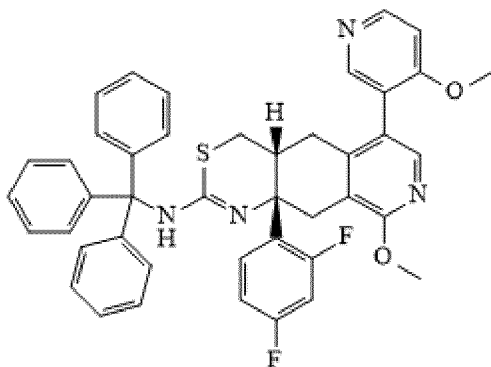
Промежуточное соединение 42 получали согласно процедуре синтеза, аналогичной процедуре, описанной для синтеза промежуточного соединения 31a, используя промежуточное соединение 29a и 5-метоксипиридин-3-бороновую кислоту (77 мг, 99% выход).

Промежуточное соединение 43



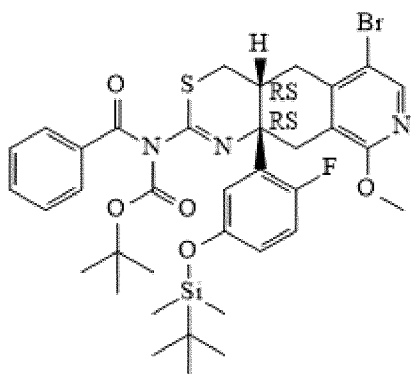
Промежуточное соединение 43 получали согласно процедуре синтеза, аналогичной процедуре, описанной для синтеза промежуточного соединения 31a, используя промежуточное соединение 29a и 5-метилпиридин-3-бороновую кислоту (100 мг, чистота LC-MS 38%).

Промежуточное соединение 44



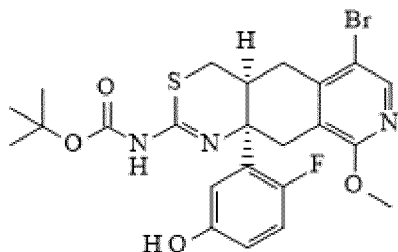
Промежуточное соединение 44 получали согласно процедуре синтеза, аналогичной процедуре, описанной для синтеза промежуточного соединения 31a, используя промежуточное соединение 29a и 4-метокси-3-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)пиридин (280 мг, чистота LC-MS 37%).

Промежуточное соединение 45

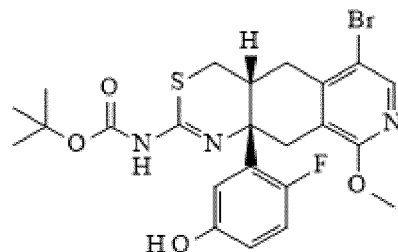


Согласно последовательности синтеза, аналогичной последовательности, применяемой для синтеза (в следующем порядке) промежуточного соединения 13 и промежуточного соединения 14, получали промежуточное соединение 45 (цис), используя промежуточное соединение 35 (40% за две стадии, цис).

Промежуточное соединение 46 и промежуточное соединение 47



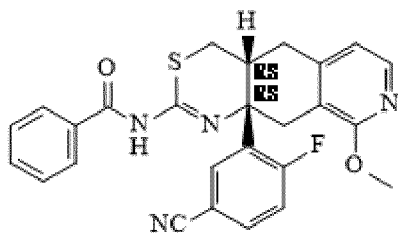
Промежуточное соединение 46



Промежуточное соединение 47

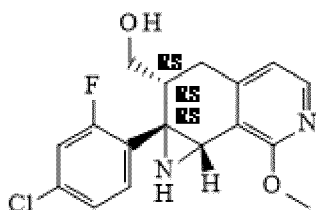
K_2CO_3 (5,75 г, 41,62 ммоль) добавляли к суспензии промежуточного соединения 45 (6,3 г, 8,32 ммоль) в MeOH (67 мл) и смесь нагревали при 50°C в течение 45 мин., затем ее концентрировали *in vacuo*. Добавляли EtOAc и органический слой промывали с помощью водн. $NaHCO_3$. Органический слой отделяли, высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и концентрировали *in vacuo* с получением рацемической смеси, которую очищали посредством препаративной SFC (неподвижная фаза: Chiralpak Diacel AD 20×250 мм, подвижная фаза: CO_2 , iPrOH с 0,2% iPrNH₂) с получением промежуточного соединения 46 в виде желтого твердого вещества (2,61 г, 58%) и промежуточного соединения 47 в виде желтого твердого вещества (2,58 г, 58%).

Промежуточное соединение 48



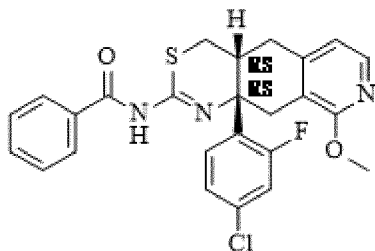
Цианид цинка (14 мг, 0,118 ммоль) добавляли к перемешиваемой смеси промежуточного соединения 40 (140 мг, 0,235 ммоль) и $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (14 мг, 0,012 ммоль) в DMF (1 мл) в атмосфере азота. Смесь нагревали при 120°C в течение 20 мин. при микроволновом облучении, затем ее смешивали с другой партией материала из р. с., полученной в результате применения 54 мг промежуточного соединения 40, полученную смесь разбавляли с помощью EtOAc и твердое вещество отфильтровывали через подушку из целита. Повышали основность фильтрата с помощью нас. водн. Na_2CO_3 . Органический слой отделяли, высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и растворитель выпаривали. Остаток очищали посредством колоночной флэш-хроматографии (диоксид кремния, EtOAc/гептан от 0/100 до 30/70). Собирали необходимые фракции и выпаривали растворитель *in vacuo* с получением промежуточного соединения 48 (71 мг) в виде белого твердого вещества (цис).

Промежуточное соединение 49



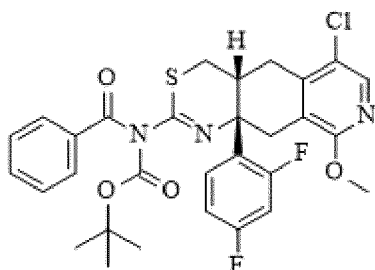
1-Бром-4-хлор-2-фторбензол (20,51 г, 97,93 ммоль) перемешивали в THF в атмосфере азота и р. с. охлаждали до -15°C . При -15°C по каплям добавляли хлорид изопропилмагния (2 М в THF, 59,8 мл, 119,6 ммоль). Р. с. перемешивали при $0-5^\circ\text{C}$ в течение 1 ч., затем охлаждали до -15°C . По каплям добавляли промежуточное соединение 4 (10 г, 48,97 ммоль), растворенное в THF (общее количество THF 120 мл), и для смеси обеспечивали достижение к. т. Затем по каплям добавляли нас. раств. NH_4Cl и р. с. экстрагировали с помощью DCM. Органический слой высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали *in vacuo*. Продукт очищали посредством колоночной флэш-хроматографии (диоксид кремния, MeOH/DCM от 0/100 до 4/96). Самые чистые фракции выпаривали с получением промежуточного соединения 49 (8,3 г, 51%).

Промежуточное соединение 50



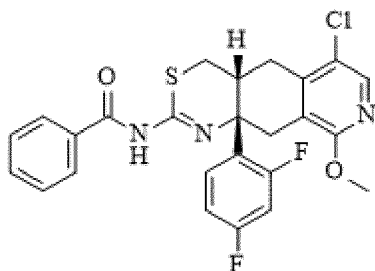
Согласно последовательности синтеза, аналогичной последовательности, применяемой для синтеза (в следующем порядке) промежуточного соединения 6, промежуточного соединения 7 и промежуточного соединения 8, получали промежуточное соединение 50 (цис), используя промежуточное соединение 49 (42% за три стадии, цис).

Промежуточное соединение 51



Промежуточное соединение 24a (380 мг, 0,672 ммоль) растворяли в сухом MeCN (138 мл) во флаконе, предназначенном для микроволновой обработки, перед добавлением небольшими порциями N-хлорсукцинимидом (137 мг, 1,031 ммоль) и пробирку закупоривали и нагревали при 80°C в течение 8 ч. Органический слой разбавляли с помощью DCM и промывали с помощью водн. раств. K₂CO₃, затем высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали *in vacuo*. Органический остаток очищали посредством колоночной флэш-хроматографии (диоксид кремния, DCM) с получением промежуточного соединения 51 (400 мг, материал также содержит продукт без BOC-группы).

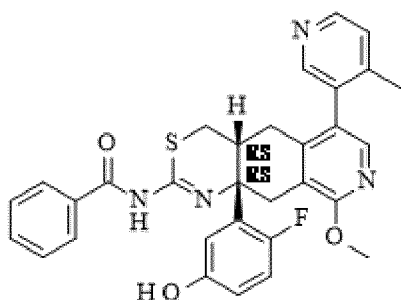
Промежуточное соединение 52



Согласно процедуре синтеза, аналогичной процедуре,

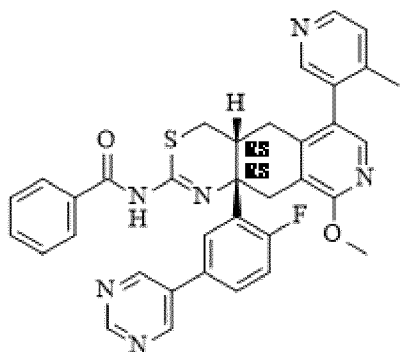
применяемой для синтеза промежуточного соединения 26а, получали промежуточное соединение 52, используя промежуточное соединение 51 (200 мг, 60%).

Промежуточное соединение 53



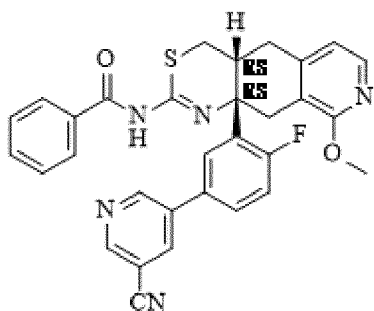
Согласно процедуре синтеза, аналогичной процедуре, применяемой для синтеза промежуточного соединения 31, и путем применения фторида цезия вместо карбоната калия получали промежуточное соединение 57, используя промежуточное соединение 39 (рацемическое) (200 мг, 79%, цис).

Промежуточное соединение 54



Согласно последовательности синтеза, аналогичной последовательности, применяемой для синтеза (в следующем порядке) промежуточного соединения 40 и промежуточного соединения 41, получали промежуточное соединение 54, используя промежуточное соединение 53 (15%, цис).

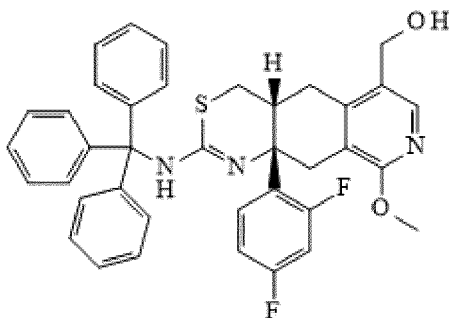
Промежуточное соединение 55



Согласно процедуре синтеза, аналогичной процедуре,

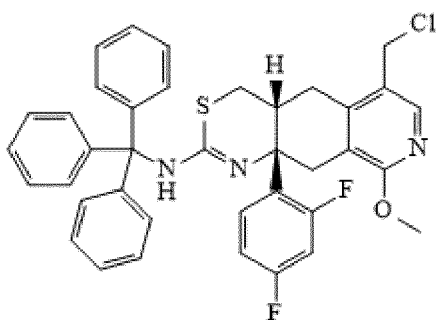
применяемой для синтеза промежуточного соединения 41, получали промежуточное соединение 55, используя промежуточное соединение 40 (цис) (две партии по 420 мг и 100 мг объединяли до очистки посредством колоночной хроматографии) и 5-циано-3-пиридинилбороновую кислоту (320 мг, 67%).

Промежуточное соединение 56



Промежуточное соединение 32a (500 мг, 0,74 ммоль) растворяли в сухом THF (83 мл) в атмосфере азота. При 0°C по каплям добавляли триэтилборгидрид лития (1 М, 3,7 мл, 3,7 ммоль) и р. с. перемешивали в течение ночи при к. т. Затем добавляли MeOH с последующим добавлением 1 М HCl (по каплям) до достижения pH 4. Последовательно добавляли DCM и воду, органический слой отделяли, высушивали и растворитель выпаривали. Неочищенный продукт применяли в полученном виде на следующей стадии реакции (440 мг).

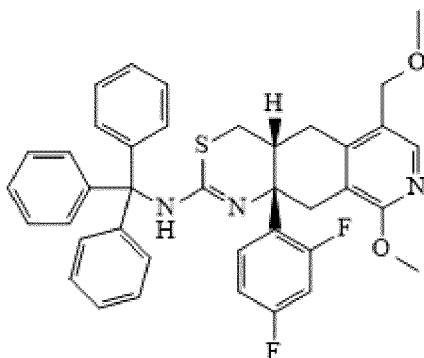
Промежуточное соединение 57



Промежуточное соединение 56 (340 мг, 0,54 ммоль) растворяли в сухом DCM (10 мл) и добавляли DIPEA (0,185 мл, 1,07 ммоль). Р. с. перемешивали при охлаждении с помощью ледяной бани и по каплям добавляли метансульфонилхлорид (63 мкл, 0,81 ммоль). Затем р. с. перемешивали при 0°C в течение 3 ч. до того момента, когда LC-MS демонстрировала полное превращение в необходимый продукт. Добавляли водн. раств. NaHCO₃ и органический слой отделяли, высушивали над MgSO₄, фильтровали и растворитель выпаривали *in vacuo*. Неочищенный продукт применяли в полученном

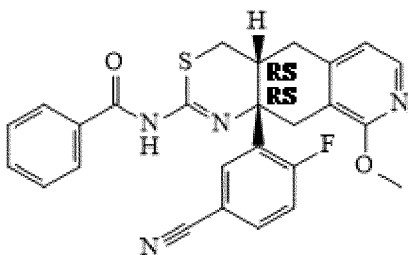
виде в следующей реакции.

Промежуточное соединение 58



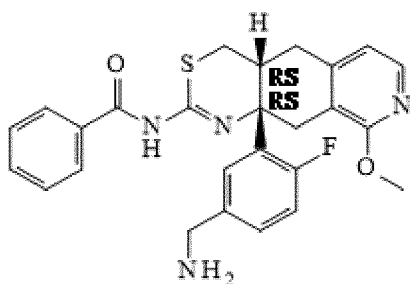
Промежуточное соединение 57 (340 мг, неочищенный материал) растворяли в MeOH (22 мл). Добавляли метоксид натрия (282 мг, 5,21 ммоль) и р. с. перемешивали 4 ч. при 60°C, затем обеспечивали достижение к. т. Добавляли DCM и воду, органический слой отделяли, высушивали над MgSO₄, фильтровали и растворитель выпаривали *in vacuo*. Остаток очищали посредством колоночной флэш-хроматографии (диоксид кремния, EtOAc/гептан от 0/100 до 50/50) с получением промежуточного соединения 58 (200 мг).

Промежуточное соединение 59



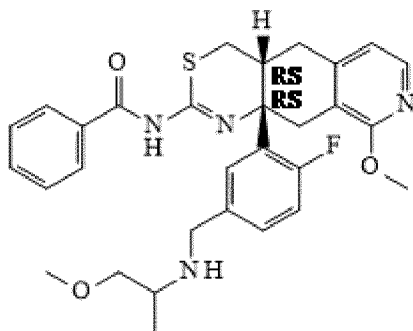
Цианид цинка (47 мг, 0,392 ммоль) добавляли к перемешиваемой смеси промежуточного соединения 40 (467 мг, 0,784 ммоль) и Pd(PPh₃)₄ (45 мг, 0,039 ммоль) в DMF (3,3 мл) в атмосфере азота. Р. с. нагревали при 120°C в течение 20 мин. при микроволновом облучении, затем ее разбавляли с помощью EtOAc и твердое вещество отфильтровывали через подушку из целита. Повышали основность фильтрата с помощью водн. нас. раствора Na₂CO₃, органический слой отделяли, высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и растворитель выпаривали. Остаток очищали посредством колоночной флэш-хроматографии (диоксид кремния, EtOAc/гептан от 0/100 до 30/70) с получением промежуточного соединения 59 в виде белого твердого вещества (241 мг, 65%, цис).

Промежуточное соединение 60



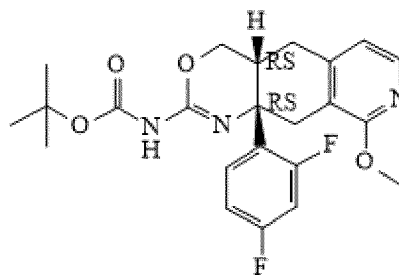
Алюмогидрид лития (2 М в THF, 0,21 мл, 0,42 ммоль) по каплям добавляли к раствору промежуточного соединения 59 (100 мг, 0,21 ммоль) в THF (13,3 мл) в атмосфере азота, охлажденному до -20°C . Раствор перемешивали при к. т. в течение 16 ч., затем охлаждали с помощью ледяной бани и гасили с помощью 5% раствора сегнетовой соли. Смесь экстрагировали с помощью DCM, органический слой собирали, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали *in vacuo*. Остаток очищали посредством колоночной флэш-хроматографии (диоксид кремния, 7 М аммиак в MeOH/DCM от 0/100 до 1/99) с получением промежуточного соединения 60 в виде бесцветного масла (58 мг, чистота 78%, 45%, цис).

Промежуточное соединение 61



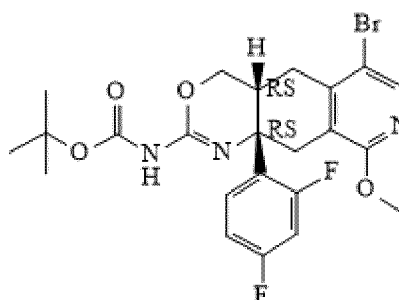
К раствору промежуточного соединения 60 (58 мг, чистота 78%) в дихлорэтано (1,6 мл) и MeOH (2,7 мл) добавляли ацетат натрия (13 мг, 0,16 ммоль) и метоксиацетон (23 мкл, 0,24 ммоль). После перемешивания в течение 30 мин. добавляли триацетоксиборгидрид натрия (52 мг, 0,24 ммоль). После этого р. с. перемешивали в течение 30 мин., затем остаток разбавляли с помощью DCM. Органический слой промывали с помощью нас. водн. раствора NaHCO_3 и солевого раствора, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и растворитель выпаривали *in vacuo* с получением промежуточного соединения 61 в виде бесцветного масла, которое применяли в полученном виде в следующей реакции (58 мг, цис).

Промежуточное соединение 62



Вос-ангидрид (150 мкл, 0,70 ммоль) добавляли при к. т. к раствору соединения 30 (80 мг, 0,23 ммоль) и DIPEA (200 мкл, 1,16 ммоль) в DCM (4 мл). Р. с. перемешивали при к. т. в течение ночи. Добавляли нас. раств. NaHCO_3 и органический слой отделяли, высушивали над MgSO_4 и фильтровали. Остаток очищали посредством колоночной хроматографии (диоксид кремния; система флэш-очистки, градиент EtOAc/гептан от 0/100 до 90/10 с шагом 20/80, 40/60, 60/40 и 80/20, 12 г, 20 мин.). Собирали содержащие продукт фракции и растворитель выпаривали с получением промежуточного соединения 62 (80 мг, 78%) в виде бесцветного масла.

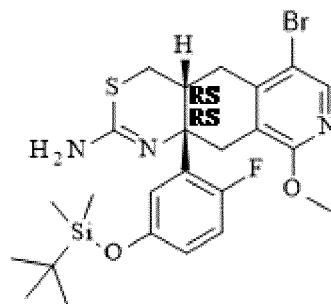
Промежуточное соединение 63



Промежуточное соединение 62 (80 мг, 0,18 ммоль) растворяли в ACN (3 мл) перед добавлением небольшими порциями N-бромсукцинимидом (48 мг, 0,27 ммоль) при к. т.; затем обеспечивали перемешивание р. с. в течение 6 ч. при 60°C (в течение ночи при к. т.), и реакция проходила до завершения. Р. с. затем гасили с помощью нас. раств. NaHCO_3 и органический материал экстрагировали с применением DCM. Органический слой затем высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали посредством выпаривания. Остаток очищали посредством колоночной хроматографии (диоксид кремния; система флэш-очистки, градиент н-гептан/EtOAc от 100/0 до 50/50, 12 г, 30 минут). Собирали содержащие продукт фракции и растворитель выпаривали с получением промежуточного соединения 63 (25 мг, 27%) в виде

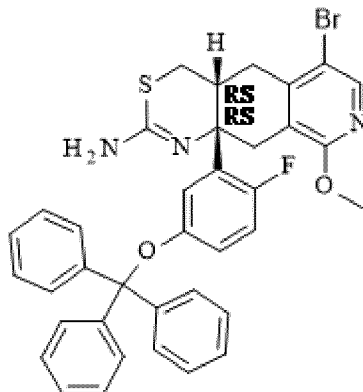
белого твердого вещества.

Промежуточное соединение 66



Гидрат гидразина (46 мкл, 0,761 ммоль) добавляли к смеси рацемического промежуточного соединения 39 (100 мг, 0,152 ммоль) в EtOH (1,4 мл) с получением суспензии, которую превращали в раствор после перемешивания при к. т. в течение 16 ч. Р. с. затем выпаривали и неочищенный продукт очищали посредством колоночной флэш-хроматографии (диоксид кремния, 7 М аммиак в MeOH/DCM от 0/100 до 1/99 с получением промежуточного соединения 69 (64 мг, 76%, цис) в виде белого твердого вещества.

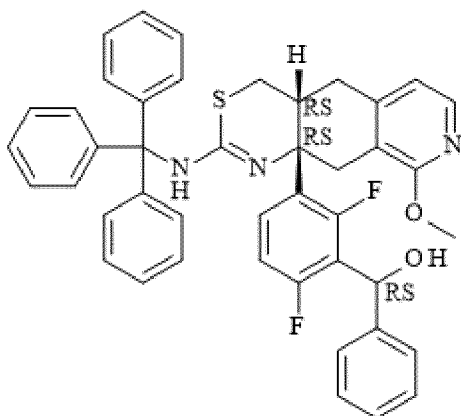
Промежуточное соединение 67



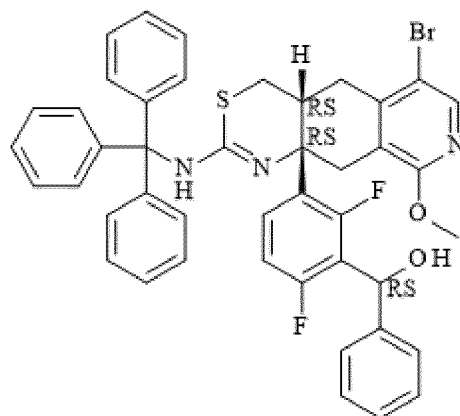
Триэтиламин (14 мкл, 0,1 ммоль) и трифенилметилхлорид (37 мг, 0,133 ммоль) добавляли к раствору соединения 18 (39 мг, 0,9 ммоль) в сухом MeCN (5 мл). Р. с. нагревали до 80°C в течение 3 ч. Добавляли дополнительное количество трифенилметилхлорида (0,4 экв.) и р. с. нагревали до 80°C в течение 1 ч., затем растворитель выпаривали, органический остаток растворяли в EtOAc и повышали основность р. с. с помощью K₂CO₃. Органический слой промывали солевым раствором (3 x), высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали *in vacuo*. Остаток очищали посредством колоночной флэш-хроматографии (диоксид кремния, EtOAc/гептан от 0/100 до 10/90). Необходимые фракции собирали и растворитель выпаривали с получением промежуточного соединения

70 в виде белого твердого вещества (22 мг, 37%, цис).

Промежуточные соединения 68 и 69



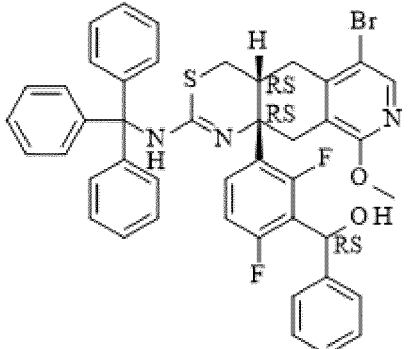
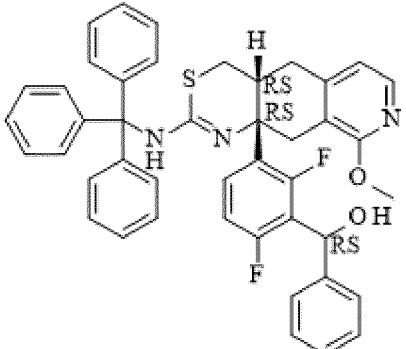
I-68

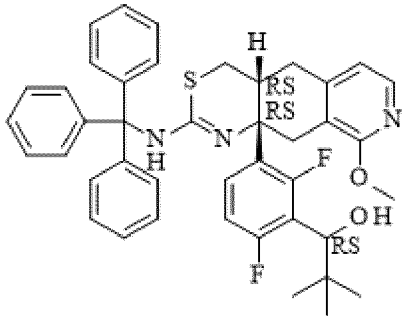
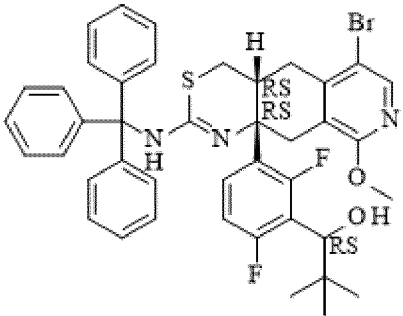


I-69

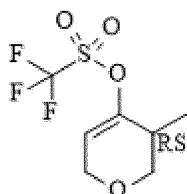
Раствор промежуточного соединения I-29 (400 мг, 0,59 ммоль) в сухом THF (11,4 мл) охлаждали до -78°C . По каплям добавляли BuLi (1,6 М в гексане, 0,84 мл, 1,35 ммоль) и смесь перемешивали при -78°C в течение 30 мин. Затем по каплям добавляли бензальдегид (0,18 мл, 1,76 ммоль) и через 5 мин. при -78°C обеспечивали нагревание реакционной смеси до к. т. Реакционную смесь гасили с помощью нас. раствора NH_4Cl (10 мл) и разбавляли с помощью EtOAc (20 мл). Органическую фазу отделяли и водный слой экстрагировали с помощью EtOAc (20 мл). Объединенные органические слои высушивали над MgSO_4 , фильтровали и выпаривали. Неочищенный продукт очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (24 г, гептан/EtOAc от 100/0 до 70/30) с получением промежуточного соединения I-68 (155 мг, 34%) и промежуточного соединения I-69 (114 мг, 27%).

Промежуточные соединения от I-70 до I-73 получали аналогичным образом из указанного(указанных) исходного(исходных) материала(материалов).

Промежуточное соединение		Исходный (- ые) материал (-ы)
		I-29 (200 мг)

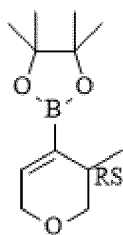
Промежуточное соединение		Исходный (-ые) материал (-ы)
I-70 (91 мг, 44%)	I-71 (110 мг, 48%)	
		I-29 (400 мг) 2,2-диметил-пропаналь [630-19-3] (191 мкл, 1,75 ммоль)
I-72 (205 мг, 51%)	I-73 (195 мг, 43%)	

Промежуточное соединение 74



К раствору тетрагидро-3-метил-4Н-пиран-4-она ([119124-53-7], 1 г, 8,76 ммоль) в сухом THF (40 мл) в атмосфере N₂ и при -78°C добавляли LiHMDS (1,0 М в THF, 9,64 мл, 9,64 ммоль). Через 45 мин. по каплям добавляли 1,1,1-трифтор-N-фенил-N-[(трифторметил)сульфонил]-метансульфонамид ([37595-74-7], 3,44 г, 9,64 ммоль) в виде раств. в THF (20 мл) и обеспечивали медленное нагревание реакционной смеси до к. т. Реакционную смесь гасили водой (10 мл) и экстрагировали с помощью Et₂O (2×15 мл). Органические слои объединяли, высушивали над MgSO₄ и концентрировали in vacuo. Неочищенный продукт очищали посредством гель-хроматографии на силикагеле (12 г, градиент: EtOAc/гептан от 0/100 до 20/80). Продукт выделяли в виде бесцветного масла, загрязненного EtOAc (750 мг, чистота 33%, выход 11%).

Промежуточное соединение 75

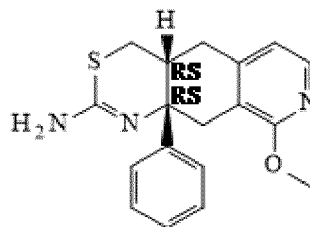


В 10-мл флакон, предназначенный для микроволновой

обработки, загружали промежуточное соединение I-74 (250 мг, 1,02 ммоль), бис(пинаколато)дибор ([73183-34-3], 386,78 мг, 1,52 ммоль), [1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен]дихлорпалладий(II) (74,30 мг, 0,102 ммоль) и KOAc (298,96 мг, 3,05 ммоль). Флакон продували с помощью N₂, затем добавляли диоксан и реакционную смесь перемешивали при 80°C в течение ночи. Реакционную смесь охлаждали и фильтровали через подушку из целита (Celite®), промывая с помощью EtOAc. Неочищенный продукт очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (градиент: EtOAc/гептан от 0/100 до 10/90). Выделенный продукт был загрязнен побочными продуктами из предыдущей стадии и различными количествами гептана и EtOAc (155 мг).

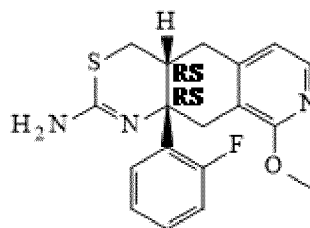
В. Получение конечных соединений

Пример E1. Получение соединения 1



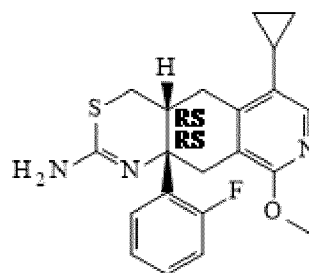
Раств. промежуточного соединения 8 (31,3 мг, 0,073 ммоль) в MeOH (4 мл) обрабатывали с помощью DBU (80 мкл, 0,54 ммоль) и перемешивали при 70°C в течение 16 ч. Р. с. затем концентрировали *in vacuo*. Масло очищали посредством флэш-хроматографии (диоксид кремния, 7 М аммиак в MeOH/DCM от 0/100 до 10/90) с получением соединения 1 в виде белого твердого вещества (15,7 мг, 66%, цис).

Пример E2. Получение соединения 2



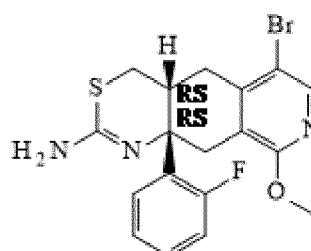
Соединение 2 получали согласно процедуре синтеза, аналогичной процедуре, описанной для синтеза соединения 1. Используя промежуточное соединение 12 (0,1 г, 0,22 ммоль), получали соединение 2 в виде белого твердого вещества (76,6 мг, 100%, цис).

Пример E3. Получение соединения 20



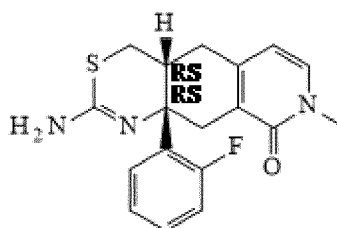
Соединение 20 получали согласно процедуре синтеза, аналогичной процедуре, описанной для синтеза соединения 1. Используя промежуточное соединение 16 (72 мг, 0,15 ммоль), получали соединение 20 в виде белого твердого вещества (12,2 мг, 21%, цис).

Пример Е4. Получение соединения 16



(Стадия 1) К перемешиваемой смеси промежуточного соединения 14 (0,15 г, 0,24 моль) в DCM (5 мл) добавляли TFA (1 мл, 13 ммоль). Через 10 мин. р. с. разбавляли с помощью DCM (20 мл) и нас. водн. раств. NaHCO_3 до достижения основного pH и слои разделяли. Органический слой высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали *in vacuo* с получением масла. (Стадия 2) Данное масло растворяли в MeOH (10 мл) и обрабатывали с помощью DBU (0,36 мл, 2,4 ммоль). Р. с. нагревали при 65°C в течение 16 ч., затем р. с. концентрировали *in vacuo* с получением масла. Данное масло очищали посредством флэш-хроматографии (диоксид кремния, 7 М аммиак в MeOH/DCM от 0/100 до 4/96) с получением масла, которое растирали в порошок с помощью Et_2O . Полученное белое твердое вещество высушивали (вакуумная печь, 60°C , 1 ч.) с получением соединения 16 (47 мг, 47%, цис).

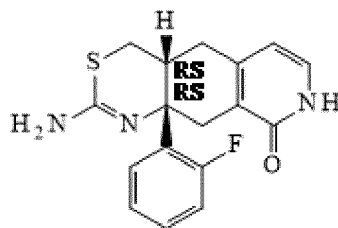
Пример Е5. Получение соединения 34



Соединение 34 получали согласно процедуре синтеза, аналогичной процедуре, описанной для синтеза соединения 1.

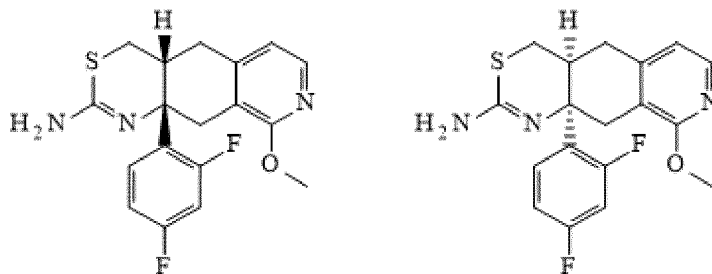
Используя промежуточное соединение 17 (80,1 мг, 0,18 ммоль), получали соединение 34 в виде белого твердого вещества (20 мг, 33%, цис).

Пример Е6. Получение соединения 3



В пробирку, предназначенную для микроволновой обработки, загружали промежуточное соединение 19 (0,14 г, 0,24 ммоль), MeOH (10 мл) и AcOH (10 мл, 17 ммоль). Пробирку закупоривали и нагревали при 80°C в металлическом нагревательном блоке DrySyn в течение 20 ч. Р. с. концентрировали *in vacuo* с получением желтого масла. Данное масло очищали посредством препаративной HPLC (неподвижная фаза: RP XBridge Prep C18 OBD-10 мкм, 30×150 мм, подвижная фаза: 0,25% раств. NH₄HCO₃ в воде, MeOH) с получением соединения 3 в виде белого твердого вещества (0,037 г, 46%, цис).

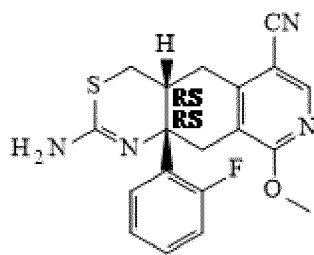
Пример Е7. Получение соединения 35 и соединения 182



Соединение 35 соединение 182

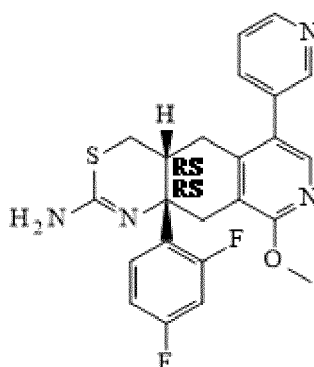
Раств. промежуточного соединения 23 (0,45 г, 0,97 ммоль) в MeOH (50 мл) обрабатывали с помощью DBU (1,4 мл, 9,67 ммоль) и перемешивали при 70°C в течение 16 ч. в закрытом сосуде. Р. с. затем концентрировали *in vacuo*. Масло очищали посредством флэш-хроматографии (диоксид кремния, 7 М аммиак в MeOH/DCM от 0/100 до 5/95) с получением масла. Данный остаток затем очищали посредством препаративной SFC (неподвижная фаза: Chiralpak® AS, 20×250 мм, подвижная фаза: CO₂, iPrOH с 0,2% iPrNH₂) с получением двух фракций (два энантиомера). Каждую фракцию кристаллизовали из DIPE с получением соединения 35 (127 мг, 36%) и соединения 183 (42 мг, 12%) в виде белых твердых веществ.

Пример Е8. Получение соединения 22



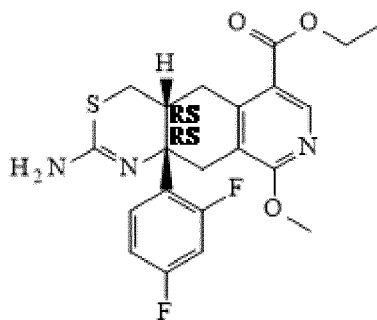
Соединение 22 получали согласно процедуре синтеза, аналогичной процедуре, описанной для синтеза соединения 3. Используя промежуточное соединение 28 (0,16 г, 0,262 ммоль), получали соединение 22 в виде белого твердого вещества (41,5 мг, 43%, цис).

Пример Е9. Получение соединения 25



Соединение 25 получали согласно процедуре синтеза, аналогичной процедуре, описанной для синтеза соединения 3. Используя промежуточное соединение 31 (60 мг, 0,088 ммоль), получали соединение 25 в виде твердого вещества (20 мг, 52%, цис).

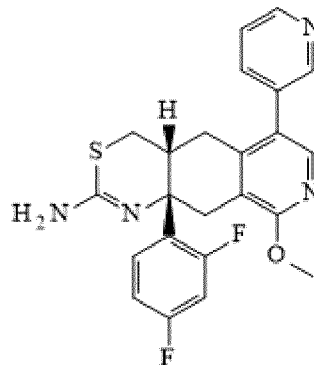
Пример Е10. Получение соединения 24



В пробирку для воздействия микроволнами загружали промежуточное соединение 32 (0,13 г, 0,19 ммоль), EtOH (2 мл) и AcOH (60 мл). Пробирку закупоривали и нагревали при 80°C в течение 24 ч. Р. с. концентрировали *in vacuo* и неочищенный продукт разбавляли с помощью воды, DCM и NaHCO₃. Органический слой сушили над MgSO₄, фильтровали и выпаривали *in vacuo*. Неочищенный продукт очищали посредством колоночной хроматографии

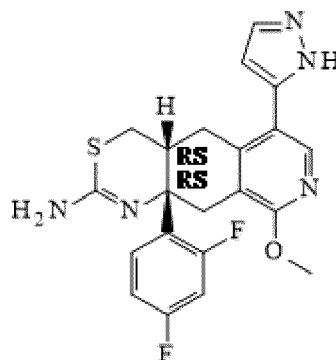
(диоксид кремния, EtOH/DCM от 0/100 до 20/80). Чистые фракции собирали, выпаривали и продукт кристаллизовали из Et₂O. Кристаллы отфильтровывали и высушивали с получением соединения 24 (22 мг, 26%, цис).

Пример E11. Получение соединения 87



Промежуточное соединение 31a (200 мг, 0,294 ммоль) и TFA (5 мл) перемешивали при 60°C в течение 1 ч. Р. с. концентрировали *in vacuo* и затем нейтрализовали с помощью нас. водн. раств. Na₂CO₃. Р. с. экстрагировали с помощью DCM и органический слой высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали *in vacuo*. Неочищенный продукт очищали посредством флэш-хроматографии (диоксид кремния, MeOH/DCM от 0/100 до 6/94) с получением соединения 87 (79 мг, 61%) в виде аморфного твердого вещества.

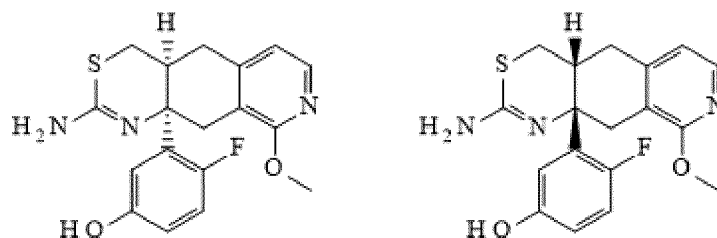
Пример E12. Получение соединения 29



Промежуточное соединение 33 (215 мг, 0,285 ммоль), AcOH (20 мл) и MeOH (20 мл) помещали в пробирку, предназначенную для работы под давлением, которую закупоривали, и перемешивали при 80°C в течение 17 ч. Р. с. концентрировали *in vacuo* и затем нейтрализовали с помощью Na₂CO₃. Смесь экстрагировали с помощью DCM и органический слой высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали *in vacuo*. Неочищенный продукт очищали посредством флэш-хроматографии (диоксид кремния, 7 М аммиак в MeOH/DCM от 0/100 до 10/90). Фракции, содержащие продукт, объединяли и концентрировали *in vacuo* с получением 25 мг смеси,

которую дополнительно очищали посредством препаративной SFC (неподвижная фаза: Chiralpak® Diacel AD 30×250 мм, подвижная фаза: CO₂, EtOH с 0,2% iPrNH₂) с получением соединения 29 (7 мг, 6%, цис).

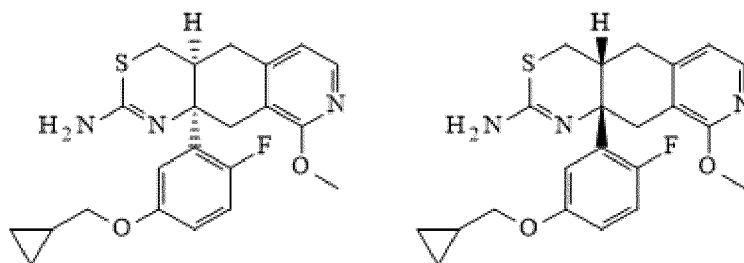
Пример E13. Получение соединений 36 и 183



Соединение 183 соединение 36

Используя промежуточное соединение 36, получали рацемическое соединение 5 согласно процедуре синтеза, аналогичной процедуре, описанной для синтеза соединения 1. Соединение 5 разделяли на отдельные энантиомеры посредством препаративной SFC (неподвижная фаза: Chiralpak® Diacel AD 20×250 мм, подвижная фаза: CO₂, EtOH с 0,2% iPrNH₂) с получением соединения 183 (9 мг, 23%) и соединения 36 (7 мг, 18%).

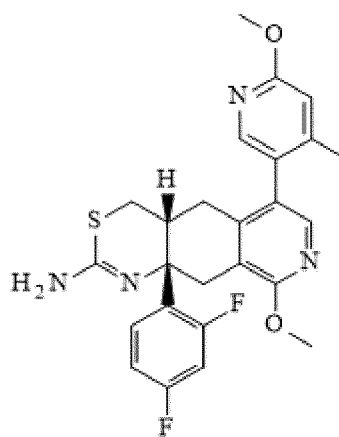
Пример E14. Получение соединений 184 и 136



Соединение 184 соединение 136

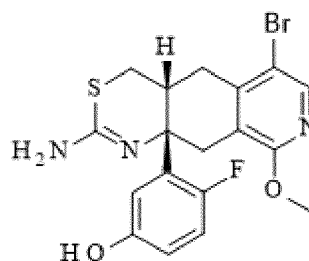
Используя промежуточное соединение 38, получали соединение 14 в виде рацемической смеси согласно процедуре синтеза, аналогичной процедуре, описанной для синтеза соединения 1. Смесь разделяли на отдельные энантиомеры посредством препаративной SFC (неподвижная фаза: Chiralpak® Diacel AD, 20×250 мм, подвижная фаза: CO₂, EtOH с 0,2% iPrNH₂) с получением соединения 184 (30 мг, 29%) и соединения 136 (28 мг, 27%).

Пример E15. Получение соединения 106



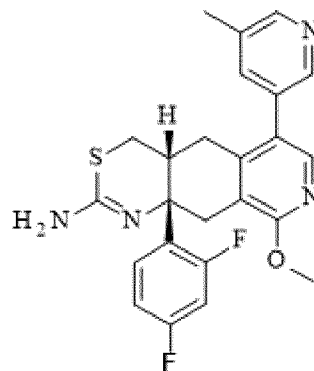
Комплекс дихлорида 1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен-палладия(II) с дихлорметаном (7 мг, 0,009 ммоль) добавляли к раств. соединения 40 (25 мг, 0,06 ммоль), 2-метокси-4-метилпиридин-5-бороновой кислоты (28 мг, 0,17 ммоль) и фторида цезия (17 мг, 0,114 ммоль) в 1,4-диоксане (2 мл) и воде (0,5 мл) во флаконе, предназначенном для микроволновой обработки, в атмосфере азота. Флакон закупоривали и нагревали при микроволновом облучении до 160°C в течение 5 мин. до того момента, когда LC-MS демонстрировала полное превращение в необходимый продукт. Органический материал экстрагировали с применением DCM и органические слои промывали солевым раствором, высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали *in vacuo*. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии (диоксид кремния, 7 М аммиак в MeOH/DCM от 0/100 до 7,5/92,5) с получением соединения 106 (9 мг, 33%).

Пример E16. Получение соединения 42



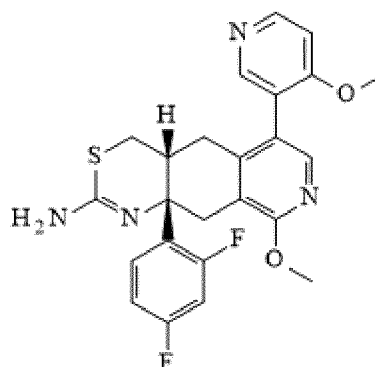
Карбонат калия (74 мг, 0,53 ммоль) добавляли к суспензии промежуточного соединения 39a (70 мг, 0,11 ммоль) в MeOH (0,85 мл) и смесь нагревали при 65°C в течение 4 ч. Растворитель удаляли *in vacuo*, затем добавляли EtOAc. Органический слой промывали с помощью нас. раств. NaHCO₃, высушивали над MgSO₄ и растворитель выпаривали. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии (диоксид кремния, 7 М аммиак в MeOH/DCM от 0/100 до 4/96) с получением соединения 42 в виде белого твердого вещества (33 мг, 70%).

Пример E17. Получение соединения 108



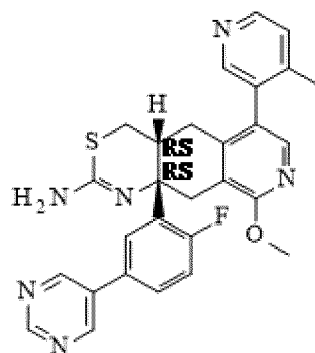
Используя промежуточное соединение 43, получали неочищенную смесь, содержащую соединение 108, согласно процедуре синтеза, аналогичной процедуре, описанной для синтеза соединения 87. Очистка посредством препаративной HPLC (неподвижная фаза: RP XBridge Prep C18 OBD-10 мкм, 30×150 мм, подвижная фаза: 0,25% раств. NH_4HCO_3 в воде, MeCN) обеспечивала получение соединения 108 (2 мг, 8%).

Пример E18. Получение соединения 103



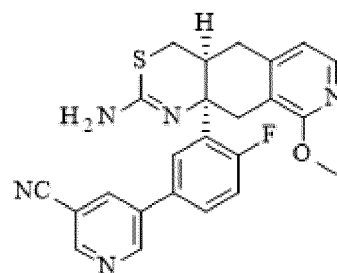
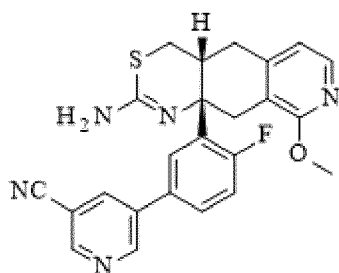
Используя промежуточное соединение 44, получали неочищенную смесь, содержащую соединение 103, согласно процедуре синтеза, аналогичной процедуре, описанной для синтеза соединения 87. Очистка посредством препаративной HPLC (неподвижная фаза: RP XBridge Prep C18 OBD-10 мкм, 30×150 мм, подвижная фаза: 0,25% раств. NH_4HCO_3 в воде, MeCN) после совместного выпаривания с MeOH (2 x) и с DIPE обеспечивала получение соединения 103 (24 мг, 35%).

Пример E20. Получение соединения 27



Используя промежуточное соединение 56, получали неочищенную смесь, содержащую соединение 27, согласно процедуре синтеза, аналогичной процедуре, описанной для синтеза соединения 1. Очистка посредством препаративной SFC (неподвижная фаза: Chiralpak Diacel AD 20×250 мм, подвижная фаза: CO₂, EtOH с 0,4% iPrNH₂) обеспечивала получение соединения 27 (6 мг, 26%, цис).

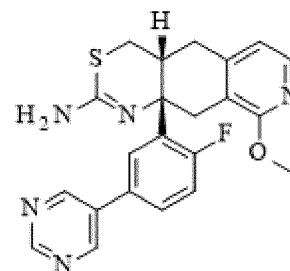
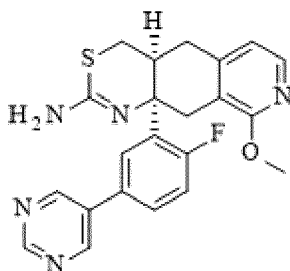
Пример E21. Получение соединений 12, 37 и 186



Соединение 37 соединение 186

Используя промежуточное соединение 55, получали рацемическое соединение 12 согласно процедуре синтеза, аналогичной процедуре, описанной для синтеза соединения 1. Очистка посредством препаративной SFC (неподвижная фаза: Chiralpak Diacel AD 20×250 мм, подвижная фаза: CO₂, iPrOH с 0,4% iPrNH₂) обеспечивала получение соединения 37 (47 мг, 22%) и соединения 186 (50 мг, 24%).

Пример E22. Получение соединений 10, 185 и 38

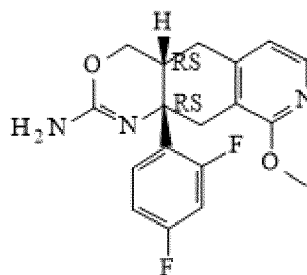


Соединение 185 соединение 38

Используя промежуточное соединение 41, получали рацемическое соединение 10 согласно процедуре синтеза, аналогичной процедуре, описанной для синтеза соединения 1.

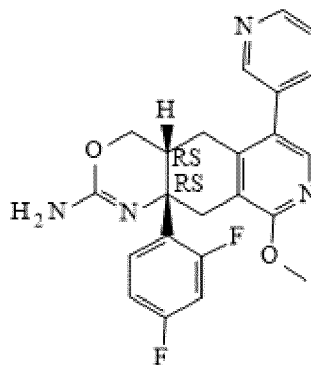
Очистка посредством препаративной SFC (неподвижная фаза: Chiralpak Diacel AD, 20×250 мм, подвижная фаза: CO₂, EtOH с 0,4% iPrNH₂) обеспечивала получение соединения 185 (43 мг, 27%) и соединения 38 (42 мг, 26%).

Пример E23. Получение соединения 30



К раствору промежуточного соединения 21 (650 мг, 2,03 ммоль) в EtOH (12 мл) добавляли раствор цианогенбромида (540,9 мг, 5,11 ммоль) в ACN (3 мл) и смесь перемешивали в герметизированной пробирке при 85°C в течение 5 ч. Реакционную смесь выливали в раствор NaHCO₃ и экстрагировали с помощью DCM, органический слой отделяли и высушивали с помощью MgSO₄, отфильтровывали и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством колоночной хроматографии (диоксид кремния; система флэш-очистки, градиент NH₃ в MeOH/DCM от 0/100 до 50/50 с шагом 10/90, 20/80, 30/70 и 35/65, 12 г, 25 мин.). Собирали содержащие продукт фракции и растворитель выпаривали с получением соединения 30 (340 мг, 49%) в виде белого твердого вещества.

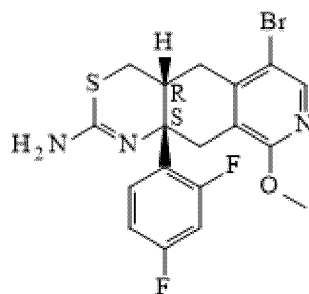
Пример E24. Получение соединения 31



Pd(dppf)Cl₂·CH₂Cl₂ (5,84 мг, 0,007 ммоль) добавляли к

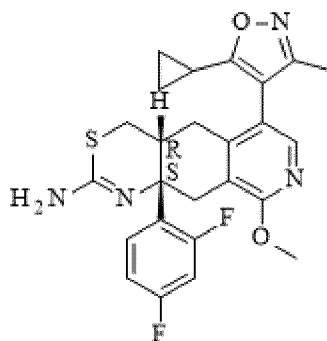
раствору промежуточного соединения 63 (25 мг, 0,048 ммоль), пиридин-3-бороновой кислоты (19 мг, 0,15 ммоль) и CsF (15 мг, 0,10 ммоль) в 1,4-диоксане (2 мл) и дистиллированной воде (0,5 мл) во флаконе, предназначенном для микроволновой обработки, в атмосфере N₂, который закупоривали и нагревали под микроволновым облучением до 160°C в течение 5 мин. Органический материал экстрагировали с применением DCM и органические слои промывали с помощью солевого раствора, высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали посредством выпаривания с получением соединения 31 (10 мг, 50%).

Пример E25. Получение соединения 40



Промежуточное соединение 26a (9,32 г, 17 ммоль), DBU (25,5 мл, 171 ммоль) и MeOH (192,8 мл) помещали в пробирку, предназначенную для работы под давлением, и перемешивали при 60°C в течение ночи. Р. с. концентрировали посредством выпаривания перед очисткой материала дважды посредством колоночной хроматографии (диоксид кремния, от DCM до 5% MeOH в DCM). Фракции, содержащие продукт, объединяли и концентрировали посредством выпаривания с получением соединения 40 (6,84 г, 91%).

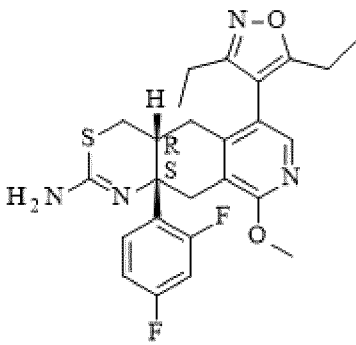
Пример E26. Получение соединения 202



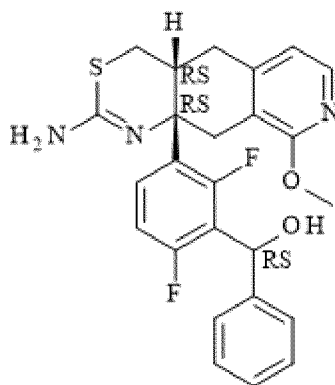
Комплекс дихлорида 1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен-палладия(II) с дихлорметаном (27,82 мг, 0,034 ммоль) добавляли к раствору соед. № 40, смеси 5-циклопропил-3-метил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-изоксазола [1628832-95-0] и 3-циклопропил-5-метил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-

2-ил)-изоксазола [1628832-96-1] (178 мг, 0,715 ммоль) и CsF (69 мг, 0,454 ммоль) в 1,4-диоксане (5 мл) и дистиллированной воде (1,25 мл) во флаконе, предназначенном для микроволновой обработки, в атмосфере N₂, который закупоривали и нагревали при микроволновом облучении до 160°C в течение 5 мин. Органический материал экстрагировали с помощью DCM и органические слои промывали солевым раствором, высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали посредством выпаривания. Остаток очищали посредством колоночной хроматографии (силикагель, NH₃ 7 н. MeOH в DCM от 0/100 до 5/95). Необходимые фракции собирали, выпаривали *in vacuo* и очищали посредством преп. SFC (неподвижная фаза: Chiralpak Diacel AD 20×250 мм, подвижная фаза: CO₂, EtOH+0,4 *i*PrNH₂) с получением 59 мг твердого вещества, которое растирали в порошок с гептаном с получением соединения 202 (40 мг, 36%) в виде желтого твердого вещества.

Соединение 203 получали аналогичным образом из соед. № 40.

 Соед. № 203 (55 мг, 33%)	Соед. № 40 (150 мг) 3,5-диэтил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-изоксазол [1627722-20-6]
--	--

Пример E27. Получение соединения 204

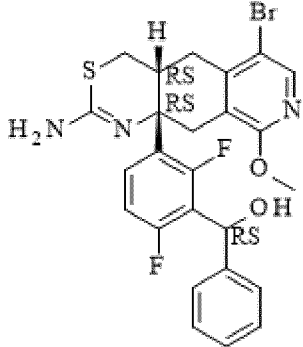
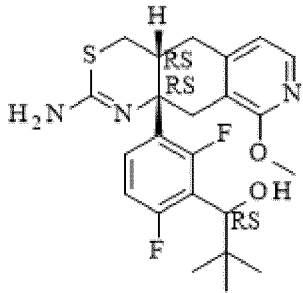


Промежуточное соединение I-29 (114 мг, 0,161 ммоль) в AcOH (2,5 мл, 43,67 ммоль) и MeOH (2,5 мл) нагревали во флаконе, предназначенном для микроволновой обработки, до 80°C в течение ночи. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток разделяли между DCM (20 мл) и нас. раств. Na₂CO₃ (20 мл). Органическую фазу отделяли и водную фазу экстрагировали с

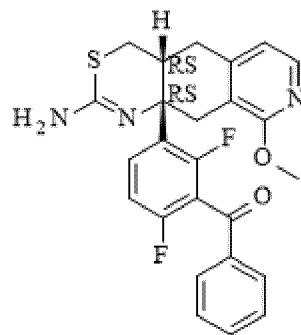
помощью DCM (20 мл и 10 мл). Объединенные органические фазы затем высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и концентрировали посредством выпаривания. Неочищенный продукт очищали посредством хроматографии на силикагеле (12 г, градиент: от DCM 100% до DCM/MeOH(NH_3) 97/3).

Соед. № 204 получали в виде белого пенистого твердого вещества (64 мг, 85%) в виде смеси из двух диастереомеров.

Соединения 205–206 получали аналогичным образом из указанного (указанных) исходного (исходных) материала (материалов).

Соединение	Исходный материал
 Соед. № 205 (50 мг, 66%)	Промежуточное соединение I-70 (110 мг)
 Соед. № 206 (40 мг, 34%) + выделенные дополнительные фракции, содержащие отдельные диастереомеры или смеси диастереомеров	Промежуточное соединение I-72 (180 мг)

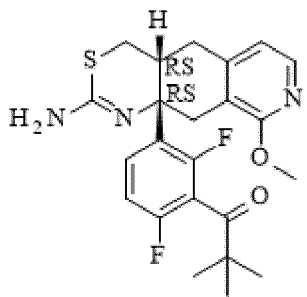
Пример E28. Получение соединения 207



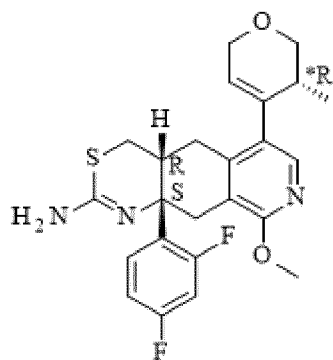
Соед. № 204 (64 мг, 0,137 ммоль) растворяли в DCM (3 мл) и

добавляли периодинан Десса-Мартина (87,09 мг, 0,205 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при к. т. в течение 3 ч., затем ее разбавляли с помощью DCM (10 мл), нас. раств. NaHCO_3 (5 мл) и нас. раств. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (5 мл). Двухфазную смесь энергично перемешивали в течение 10 мин., затем переносили в делительную воронку. Органический слой отделяли и водный слой экстрагировали с помощью DCM (2×10 мл). Объединенные органические слои высушивали над MgSO_4 , фильтровали и выпаривали. Очистку проводили посредством препаративной HPLC (неподвижная фаза: RP XBridge Prep C18 OBD-10 мкм, 30×150 мм; подвижная фаза: 0,25% раствор NH_4HCO_3 в воде, MeOH) с получением соед. № 207 (25 мг, 39%).

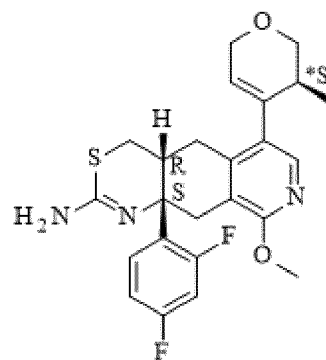
Соединение 208 получали аналогичным образом из соед. № 206.

Соединение	Исходный материал
 Соед. № 208 (19 мг, 48%)	Соед. № 206 (40 мг)

Пример E29. Получение соединений 209 и 210



Соед. № 209



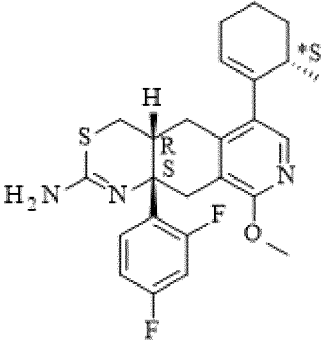
Соед. № 210

В 10-мл флакон, предназначенный для микроволновой обработки, загружали промежуточное соединение I-25a (50 мг, 0,0776 ммоль), промежуточное соединение I-75 (43,463 мг, 0,194 ммоль) и $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (17,93 мг, 0,016 ммоль) в атмосфере N_2 . С помощью шприца добавляли DME (0,6 мл) и нас. раств. NaHCO_3 (0,2 мл) и смесь перемешивали при 120°C в течение 3 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью EtOAc (10 мл) и H_2O (5 мл). Органическую фазу отделяли и водную фазу экстрагировали с помощью EtOAc (10 мл). Объединенные органические слои высушивали

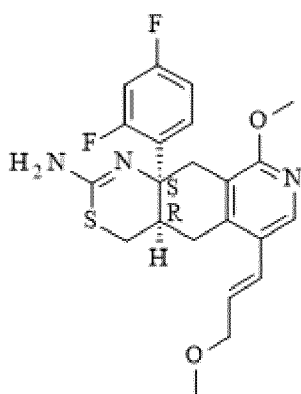
над MgSO_4 , фильтровали и выпаривали. Неочищенный продукт растворяли в MeOH , переносили в закрытый сосуд и обрабатывали с помощью DBU при 80°C в течение 2 ч. Анализ LC-MS демонстрировал образование необходимого продукта и соед. № 35 в качестве побочного продукта. Летучие вещества удаляли *in vacuo* и неочищенный продукт подвергали очистке посредством препаративной HPLC (неподвижная фаза: RP XBridge Prep C18 ODB-5 мкм, 30×250 мм; подвижная фаза: 0,25% раствор NH_4HCO_3 в воде, MeOH) с получением соед. № 209 (4 мг, 11%) и соед. № 210 (3,5 мг, 10%).

Соединения 211-213 получали аналогичным образом из промежуточного соединения I-25a.

Соединение	Исходный материал
Соед. № 211 (125 мг, получено из комбинации трех партий реакционных смесей) разделяли посредством преп. HPLC (неподвижная фаза: RP XBridge Prep C18 ODB-5 мкм, 30×250 мм, подвижная фаза: 0,25% раствор NH_4HCO_3 в воде, CH_3CN) на соед. № 212 (7,3 мг, 7%) и	Промежуточное соединение I-25a ($2 \times 150 + 50$ мг)

Соединение	Исходный материал
 соед. № 213 (8,4 мг, 8%)	

Пример E30. Получение соединения 47



Соед. № 40 (50 мг) смешивали с карбонатом калия (47 мг, 3 экв.) в воде (250 мкл), IPA (150 мкл), THF (150 мкл) и NMP (150 мкл). Затем добавляли (Е)-2-(3-метоксипроп-1-енил)-4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан (22,49 мг, 1 экв.) и аддукт дихлор[1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен]палладия(II) и ацетона (4,3 мг). Реагенты смешивали и нагревали при 150°C в течение 30 мин. при микроволновом облучении. Неочищенный материал выливали в воду и экстрагировали с помощью EtOAc. Органические вещества высушивали, фильтровали и выпаривали с получением смолы, которую очищали посредством HPLC с обращенной фазой (растворитель В – минимум 10%, промежуточное значение 60%, максимум 95%) с получением соед. № 47 (10,4 мг, 21%) в виде белого твердого вещества.

Ссылка на RP HPLC в данном примере относится к очистке с применением препаративной HPLC. Фракции лиофилизировали посредством сублимационного высушивания. Градиентный профиль регулировали для каждого образца, чтобы максимизировать разделение между требуемым соединением и любым промежуточным соединением.

Препаративная система для HPLC состояла из следующих компонентов:

насос Gilson 322 с насадками для H_2 (0,3–30 мл/мин.);
 детектор Gilson 155 с проточной кюветой для полупрепаративного режима (длина пути 0,5 мм);
 модуль впрыска Gilson 819;
 модуль системного интерфейса Gilson 506;
 коллектор фракций Gilson FC204 для пробирок 100×16 мм;
 контроль осуществляли с помощью Unipoint 5.11;
 HPLC, колонка: Phenomenex Luna, 5 мкм C18 (2), 150 мм × 21,2 мм;

растворитель А: вода, чистая для HPLC, содержащая 10 мМ ацетата аммония (нескорректированный pH);

растворитель В: ацетонитрил, чистый для HPLC;

детекция: 230 и 260 нм;

температура: температура окружающей среды.

Пример E31. Получение соединений в соответствии с общей процедурой химических реакций в потоке (реакция Сузуки)

В один сосуд помещали соедин. № 40 (20 мг) в NMP/IPA/THF (400 мкл). Во втором сосуде сложный эфир бороновой кислоты (3 экв.) и карбонат калия (31,4 мг, 5 экв.) растворяли в NMP/IPA/THF (400 мкл). В третьем сосуде $Pd(dppf)Cl_2$ (1,6 мг, 0,05 экв.) растворяли в THF (400 мкл). Три сосуда помещали в Gilson 215 и осуществляли впрыск в 250-мкл петлевые дозаторы, а затем в 2-мл капиллярную колонку из нержавеющей стали, нагретую до 150°C, при этом каждый насос работал при 33 мкл/мин. Вытекающий поток вводился автоматически через 20-мкл петлю в часть установки, предназначенную для очистки (как описано ниже) и проведения анализа.

HPLC-MS осуществляли с применением системы Acquity™ для проведения сверхпроизводительной жидкостной хроматографии, содержащей PDA-детектор, блок управления для бинарного растворителя и SQ-детектор (Waters UK Ltd., Элстри, Великобритания), последовательно связанной с системой для проведения масс-спектрометрии (Waters UK Ltd., Манчестер, Великобритания), используя программное обеспечение от поставщика (OpenLynx Browser™ v4.1, SQ Detector v4.1, Instrument Driver V4.1 и MassLynx™ v4.1). Параллельную детекцию с использованием испарительного детектора светорассеяния (385-LC, Varian; Agilent Technologies, Уокингем, Великобритания) внедряли в систему с

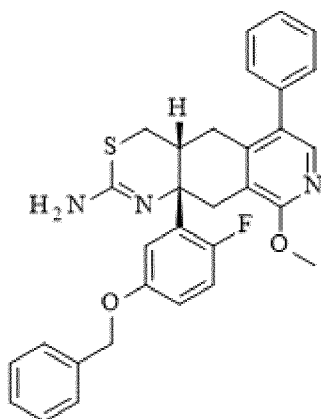
помощью активного делителя потока (модель ЕНМА, 10-портовый клапан; Valco Instruments, активное деление обеспечивалось с помощью проприетарного программного обеспечения Cyclofluidic). Масс-спектрометрию прямого впрыска проводили на ThermoQuest Finnigan LCQduo с использованием программного обеспечения от поставщика Xcalibur® v2.0 SR2, Tune Plus v2.0 и Qual Browser v2.0 (ThermoFisher).

Выбранные условия были следующими:

Колонка	Phenomenex Luna C18(2) 5 мкм, 150×4,6 мм.
Элюент	Водная фаза – вода, содержащая 0,2% об./об. трифторуксусной кислоты. Органическая фаза – ацетонитрил, содержащий 0,2% об./об. трифторуксусной кислоты.
Температура	температура окружающей среды
Детекция	Масс-спектрометрия – ESI+в пределах диапазона значений масса/заряд от 150 до 850. УФ – диодная матрица в пределах диапазона значений от 220 до 400 нм. ELSD – испаритель при 35°C, небулайзер при 35°C и поток газа при 1,8 л/мин.

Установления равновесия достигали с применением метода запуска перед прогоном следующего образца.

Пример Е32. Получение соединений посредством химических реакций в потоке (алкилирование с последующей реакцией Сузуки)

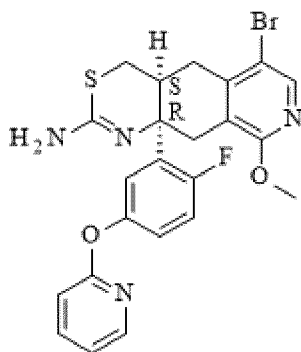


Соед. № 138

В один сосуд помещали промежуточное соединение I-47 (15 мг, 0,028 ммоль), растворенное в NMP (0,25 мл) и DBU (0,012 мл, 0,084 ммоль), во второй сосуд помещали, например, бензилбромид (6,62 мкл, 0,056 ммоль) в NMP (0,25 мл). Такие материалы автоматически вводили в 250-мкл петлевые дозаторы с использованием Gilson 215 и последовательно смешивали в 2-мл

нагреваемой капиллярной колонке при 80°C в течение 20 мин. С вытекающим потоком смешивали, например, фенилбороновую кислоту (5,10 мг, 0,042 ммоль) и K₂CO₃ (11,55 мг, 0,084 ммоль) в IPA (0,100 мл), THF (0,100 мл) и воде (0,05 мл), загружали в 250-мкл петлевой дозатор и Pd(dppf)Cl₂ (1,059 мг, 1,393 ммоль) в IPA (0,25 мл) и THF (0,25 мл) загружали в 250-мкл петлевой дозатор. Материал нагревали до 140°C в течение 10 мин. в 2-мл нагреваемой капиллярной колонке. Продукт подавали в клапан впрыска и очищали, как описано в примере E31, с получением соед. № 138 (выход 4%).

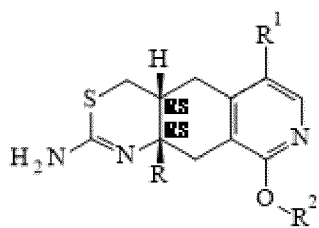
Пример E33. Получение соединения 188



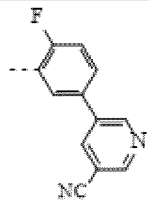
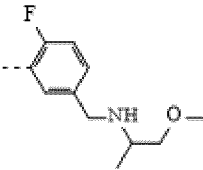
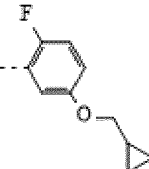
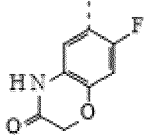
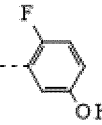
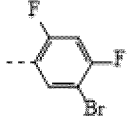
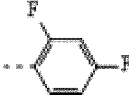
Смесь промежуточного соединения I-46 (50 мг, 0,0929 ммоль), Cs₂CO₃ (90,768 мг, 0,279 ммоль) и 2-фторпиридина ([372-48-5], 9,787 мкл, 0,111 ммоль) в DMF (1,192 мл) нагревали до 100°C в течение 3 ч. Растворитель удаляли посредством выпаривания. Продукт очищали посредством колоночной хроматографии (диоксид кремния, 7 М NH₃ в MeOH/DCM от 0/100 до 4/96). Необходимые фракции собирали и растворитель выпаривали in vacuo. Соединение растирали в порошок с гептаном с получением соед. № 188 (20,5 мг, 43%) в виде желтоватого твердого вещества.

В таблицах 1-4 ниже перечислены соединения формул (I) и (II), которые были приведены в качестве примера (*прим. №) и получены по аналогии с одним из вышеописанных примеров (обозначенных прим. №). В случае, если не указана солевая форма, соединение получали в виде свободного основания. "Прим. №" означает номер примера, в соответствии с протоколом которого было синтезировано соединение. "Соед. №" означает номер соединения.

Таблица 1а. Соединения формулы (I), выделенные в виде рацемической смеси отдельных цис-диастереомеров, где X представляет собой S.



Соед. №	Прим.	R ¹	R	R ²
1	*E1	H		CH ₃
2	*E2	H		CH ₃
3	*E6	H		H
4	E15	H		CH ₂ CH ₃
5	E13	H		CH ₃
6	E1	H		CH ₃
7	E1	H		CH ₃
8	E1	H		CH ₃
9	E16	H		CH ₃
10	*E22	H		CH ₃
11	E22	H		CH ₃

12	*E21	H		CH ₃
13	E16	H		CH ₃
14	E14	H		CH ₃
15	E1	H		CH ₃
16	*E4	Br		CH ₃
17	E1	Br		CH ₃
18	E16	Br		CH ₃
19	E16	Br		CH ₃
20	*E3			CH ₃
21	E3			CH ₂ CH ₃
22	*E8	CN		CH ₃
23	E8	CN		CH ₃
24	*E10	— (C=O) OCH ₂ CH ₃		CH ₃

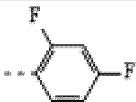
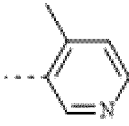
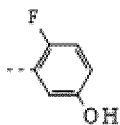
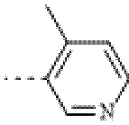
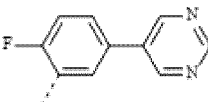
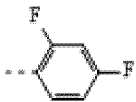
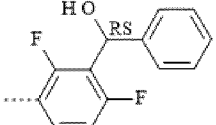
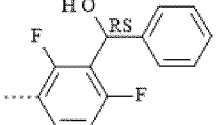
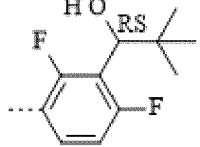
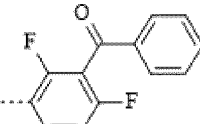
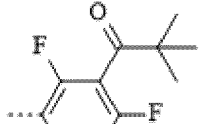
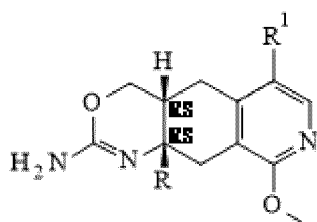
25	*E9			CH ₃
26	E1			CH ₃
27	*E20			CH ₃
28	E1			CH ₃
29	*E12			CH ₃
204	*E27	H		CH ₃
205	E27	Br		CH ₃
206	E27	H		CH ₃
207	*E28	H		CH ₃
208	E28	H		CH ₃

Таблица 1b. Соединения формулы (I), выделенные в виде рацемической смеси отдельных цис-диастереомеров, где X представляет собой O.



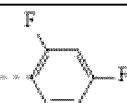
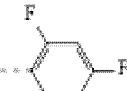
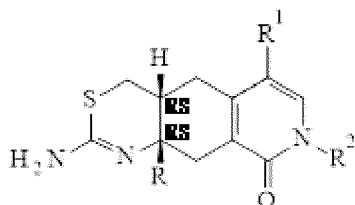
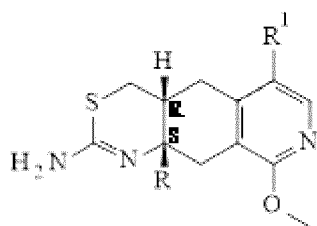
Соед. №	Прим.	R ¹	R
30	*E23	H	
31	*E24		
32	E24		
33	E24		

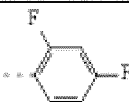
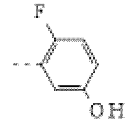
Таблица 2. Соединения формулы (II), выделенные в виде рацемической смеси отдельных цис-диастереомеров, где X представляет собой S.

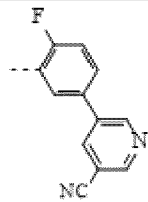
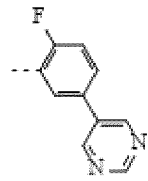
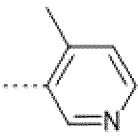
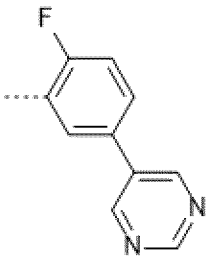
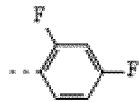
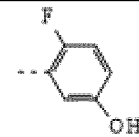
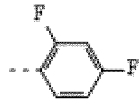
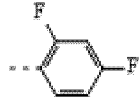
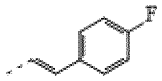
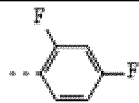


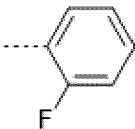
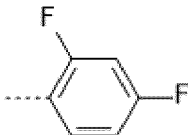
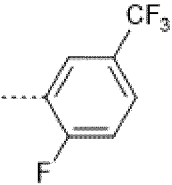
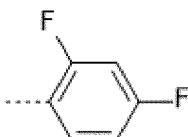
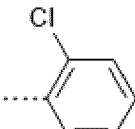
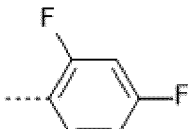
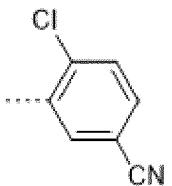
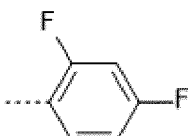
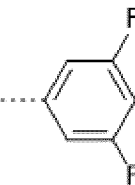
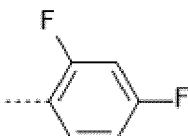
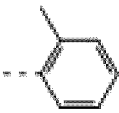
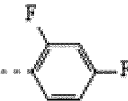
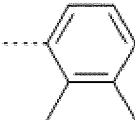
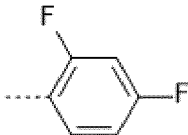
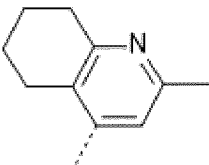
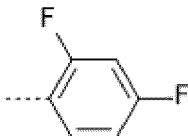
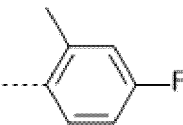
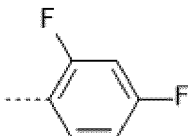
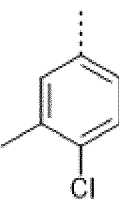
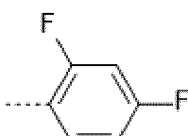
Соед. №	Прим.	R ¹	R	R ²
3	*E6	H		H
34	*E5	H		CH ₃

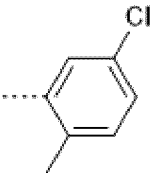
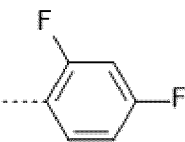
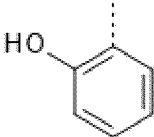
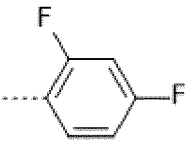
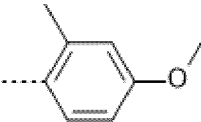
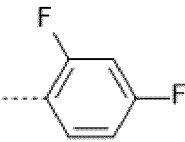
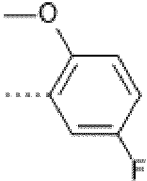
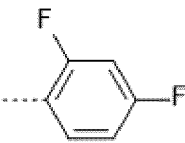
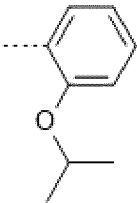
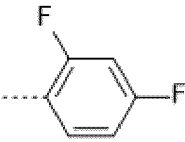
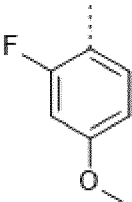
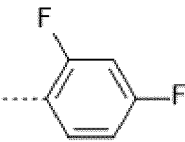
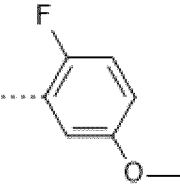
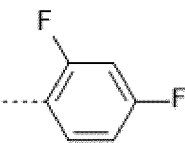
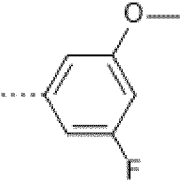
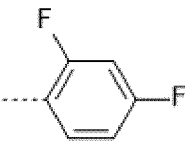
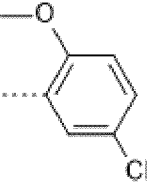
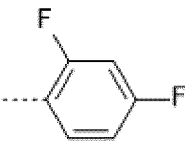
Таблица 3а. Соединения формулы (I), выделенные в энантиомерно чистом виде, стереоконфигурации C_{4a}(R)C_{10a}(S).

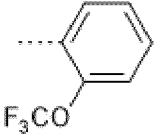
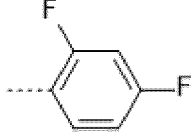
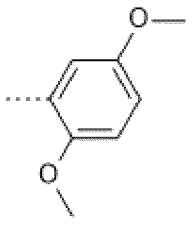
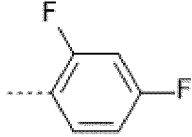
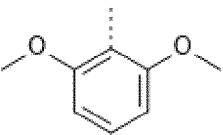
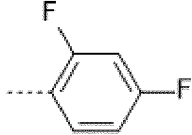
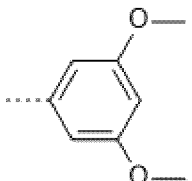
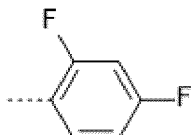
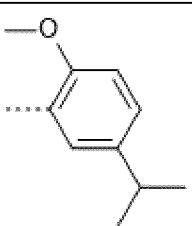
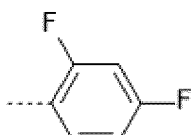
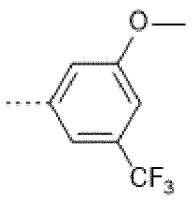
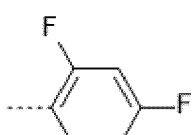
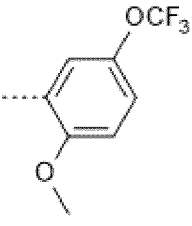
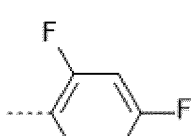
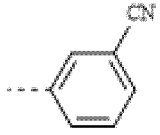
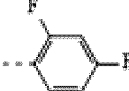
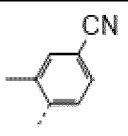


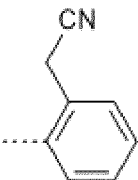
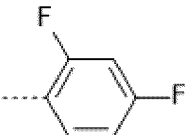
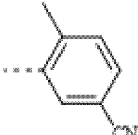
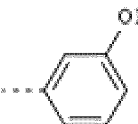
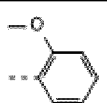
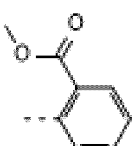
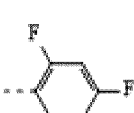
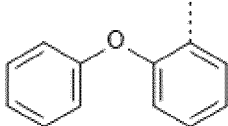
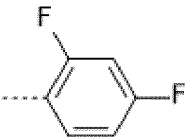
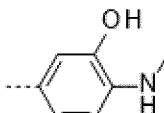
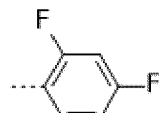
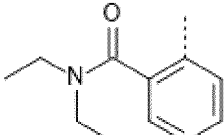
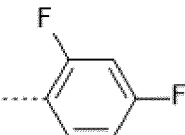
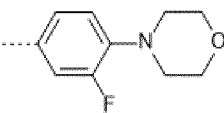
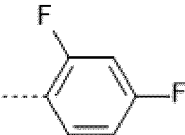
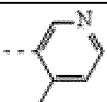
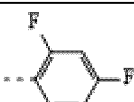
Соед. №	Прим.	R ¹	R	Соль
35	*E7	H		
36	*E13	H		

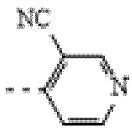
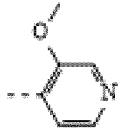
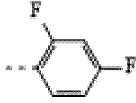
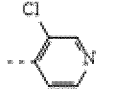
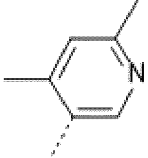
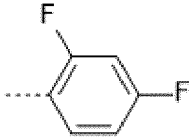
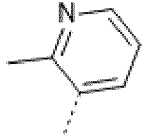
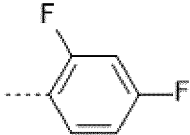
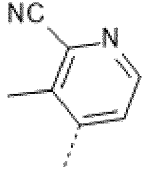
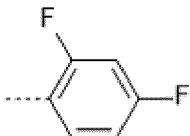
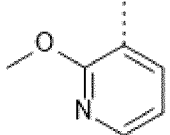
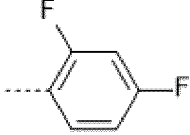
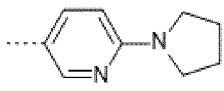
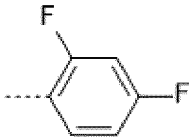
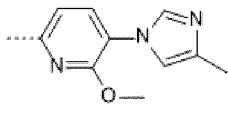
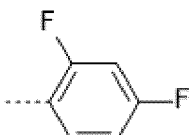
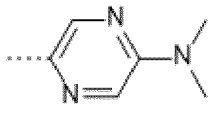
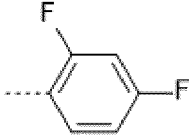
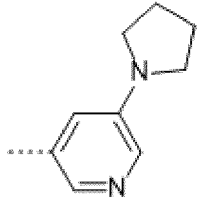
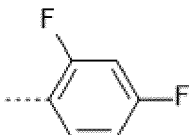
37	*E21	H		
38	*E22	H		
39	E1			
40	E1	Br		
41	E1	Cl		
42	*E16	Br		
43	E11	CH ₂ OH		
44	E11	CH ₂ OCH ₃		
45	E11			
46	E26			
47	*E30			
48	E11			
49	E11			

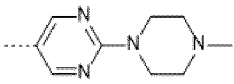
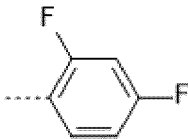
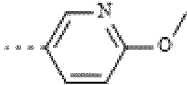
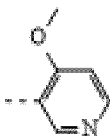
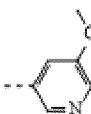
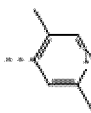
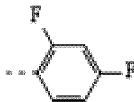
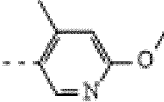
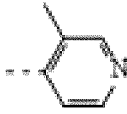
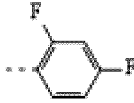
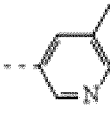
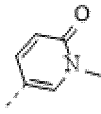
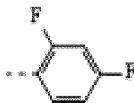
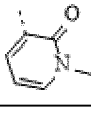
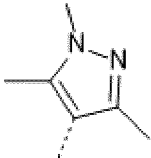
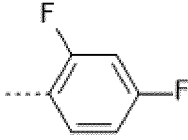
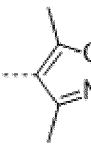
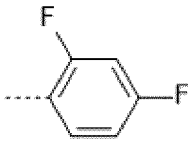
50	E31			
51	E31			
52	E15			
53	E15			
54	E31			
55	E15			
56	E31			
57	E26			
58	E31			
59	E31			

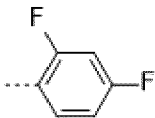
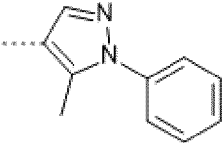
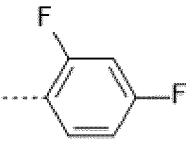
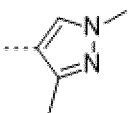
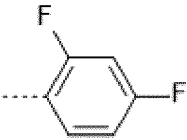
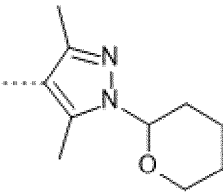
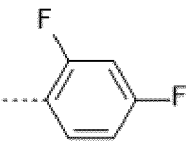
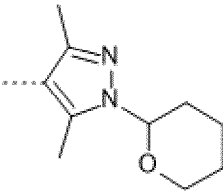
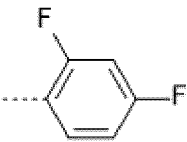
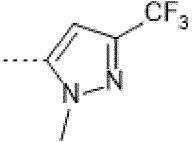
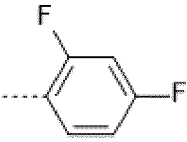
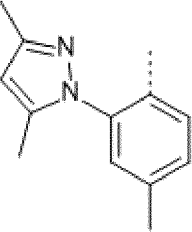
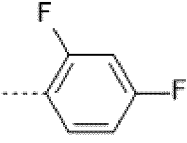
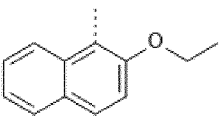
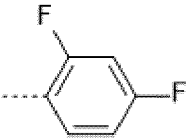
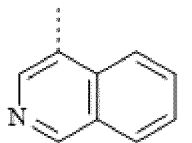
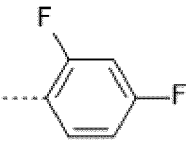
60	E31			
61	E31			
62	E31			
63	E31			
64	E31			
65	E31			
66	E31			
67	E31			
68	E31			

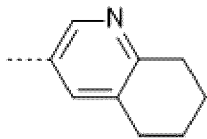
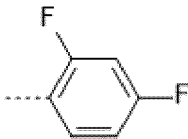
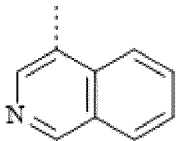
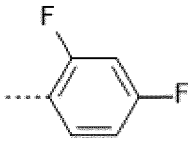
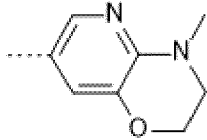
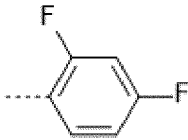
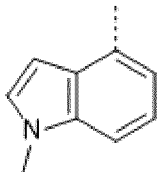
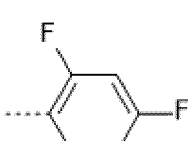
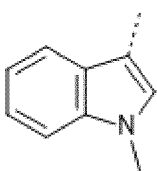
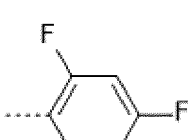
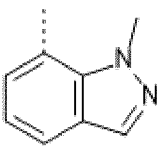
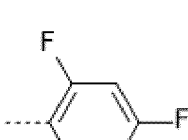
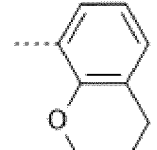
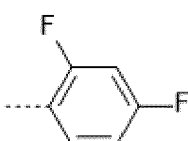
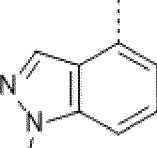
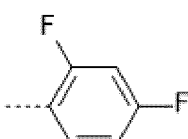
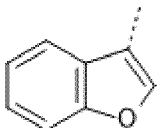
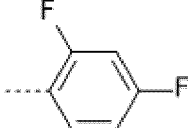
69	E31			
70	E31			
71	E31			
72	E31			
73	E31			
74	E31			
75	E31			
76	E15			
77	E15			

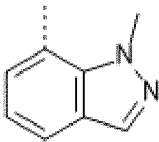
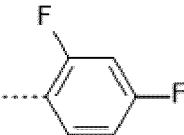
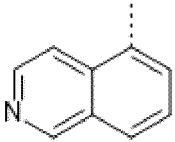
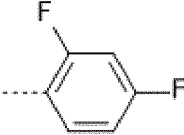
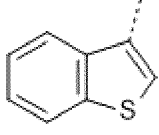
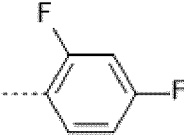
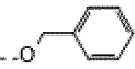
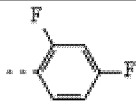
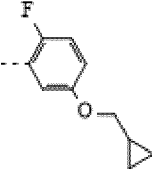
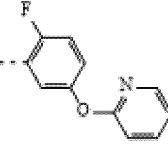
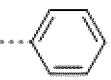
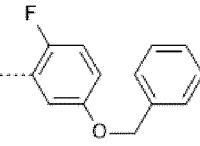
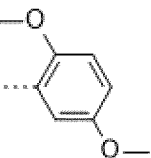
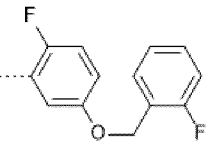
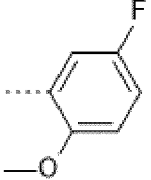
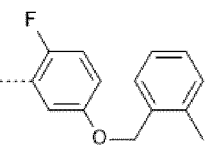
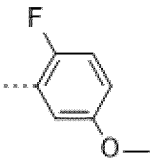
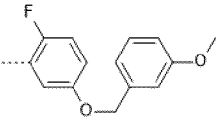
78	E31			
79	E15			
80	E15			
81	E11			
82	E15			
83	E31			
84	E31			
85	E31			
86	E31			
87	*E11			
88	E15			
89	E11			

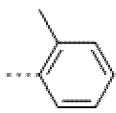
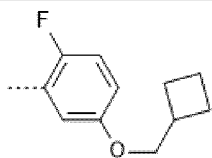
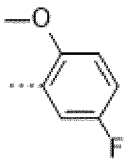
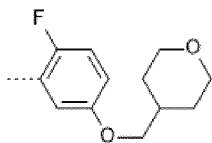
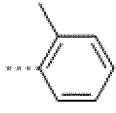
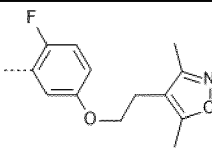
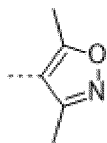
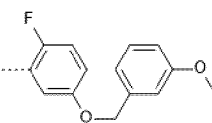
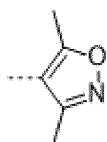
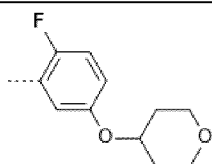
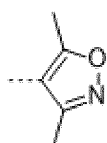
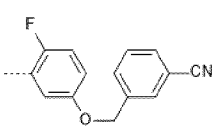
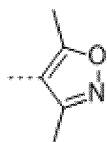
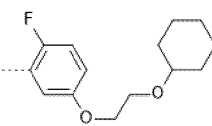
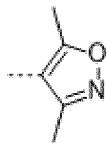
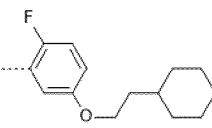
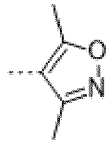
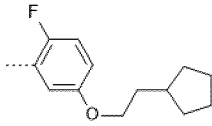
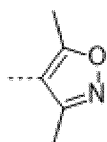
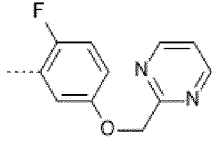
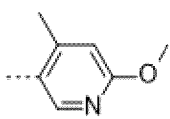
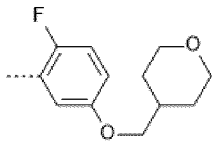
90	E15			
91	E15			
92	E15			
93	E11			
94	E26			
95	E26			
96	E31			
97	E31			
98	E31			
99	E31			
100	E31			

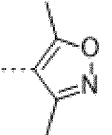
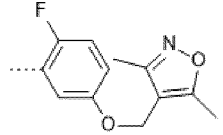
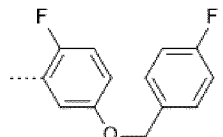
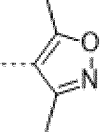
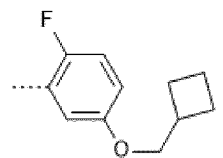
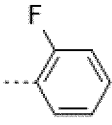
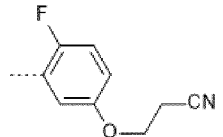
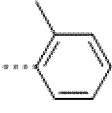
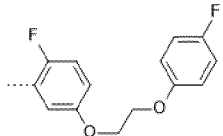
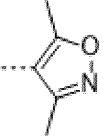
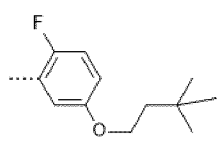
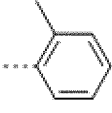
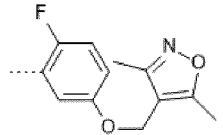
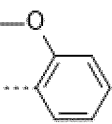
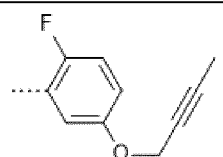
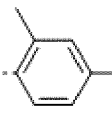
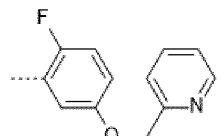
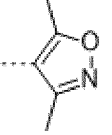
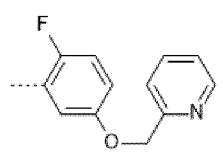
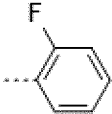
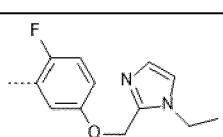
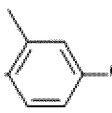
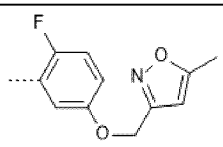
101	E31			
102	E15			
103	*E18			
104	E11			
105	E26			
106	*E15			
107	E15			
108	*E17			
109	E26			
110	E15			
111	E26			
112	E31			

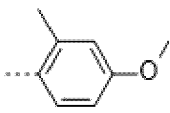
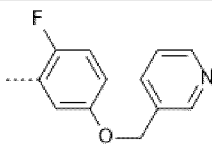
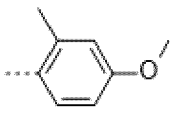
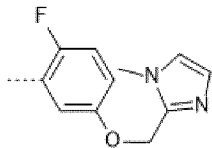
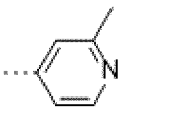
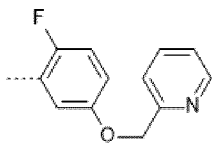
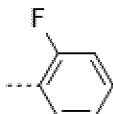
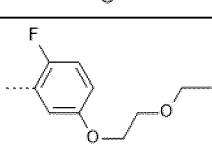
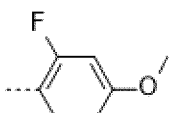
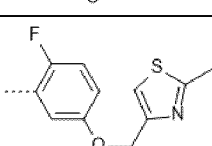
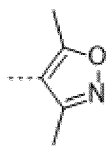
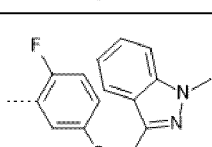
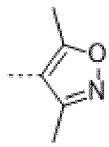
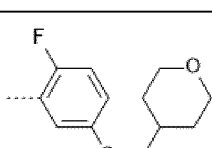
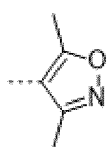
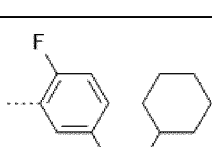
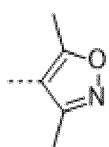
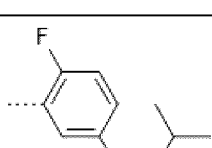
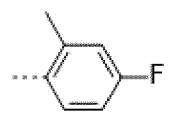
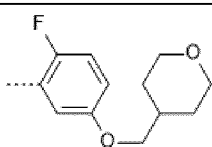
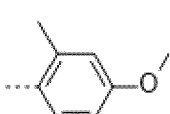
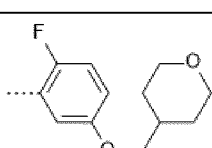
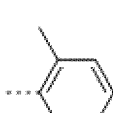
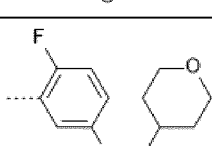
113	E31			
114	E31			
115	E31			
116	E31	 <i>R</i> или <i>S</i>		
117	E31	 <i>S</i> или <i>R</i>		
118	E31			
119	E31			
120	E31			
121	E31	 *R		

122	E31			
123	E31	 *S		
124	E31			
125	E31			
126	E31			
127	E31	 *R		
128	E31			
129	E31			
130	E31			

131	E31	 *S		
132	E31			
133	E31			
134	E11			
135	E11			
136	*E14	H		
137	E14	Br		
138	*E32			
139	E32			
140	E32			
141	E32			

142	E32			
143	E32			
144	E32			
145	E32			
146	E32			
147	E32			
148	E32			
149	E32			
150	E32			
151	E32			
151a				·HCO ₂ H
152	E32			

153	E32			
154	E32			
155	E32			
156	E32			
157	E32			
158	E32			
159	E32			
160	E32			
161	E32			
162	E32			
163	E32			
164	E32			

165	E32			
166	E32			
167	E32			
168	E32			
169	E32			
170	E32			
171	E32			
171a				.HCO ₂ H
172	E32			
173	E32			
174	E32			
174a	E32			.HCO ₂ H
175	E32			
176	E32			

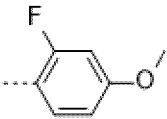
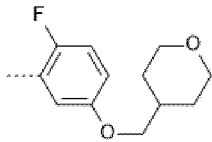
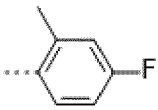
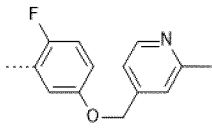
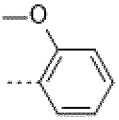
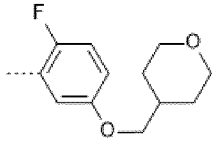
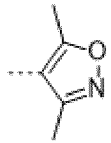
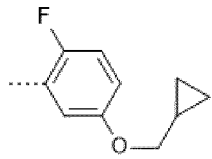
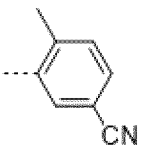
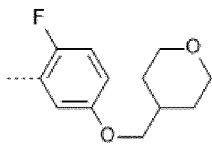
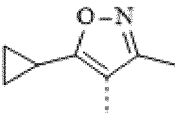
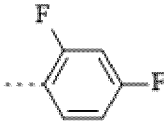
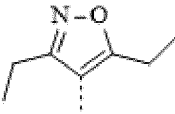
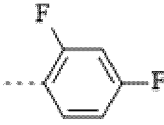
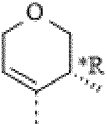
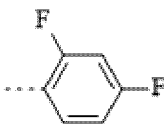
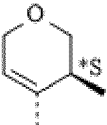
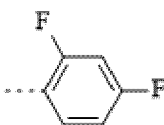
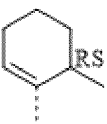
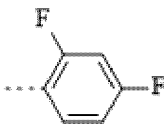
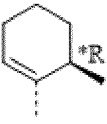
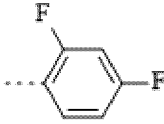
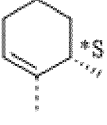
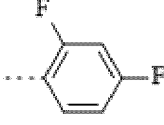
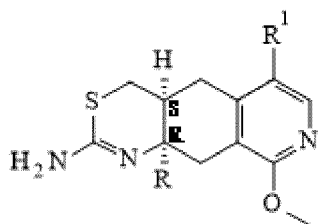
177	E32			
178	E32			
179	E32			
180	E32			
180a	E32			·HCO ₂ H
181	E32			
181a	E32			·HCO ₂ H
202	E26*			
203	E26			
209	E29*			
210	E29*			
211	E29			
212	E29			
213	E29			

Таблица 3b. Соединения формулы (I), выделенные в

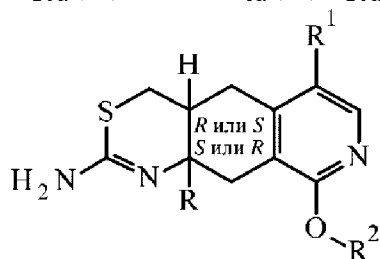
энантиомерно чистом виде, стереоконфигурации $C_{4a}(S)C_{10a}(R)$.



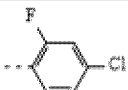
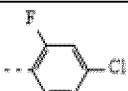
Соед. №	Прим.	R ¹	R
182	*E7	H	
183	*E13	H	
184	*E14	H	
185	*E22	H	
186	*E21	H	
187	E1	Br	
188	*E33	Br	
189	E4	Br	
190	E15		

191	E15		
192	E15		
193	E1		

Таблица 4. Соединения формулы (I), выделенные в энантимерно чистом виде, неизвестной стереоконфигурации: $C_{4a}(R)C_{10a}(S)$ или $C_{4a}(S)C_{10a}(R)$.



Соед. №	Прим.	R ¹	R	R ²	Энантиомер
194	E1	H		OCH ₂ CH ₃	A
195	E1	H		OCH ₂ CH ₃	B
196	E1	H		OCH ₂ CH ₃	A
197	E1	H		OCH ₂ CH ₃	B
198	E1	H		OCH ₃	A
199	E1	H		OCH ₃	B

200	E26			OCH ₃	A
201	E26			OCH ₃	B

С. АНАЛИТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

Значения температуры плавления

Значения представляют собой либо максимальные значения, либо диапазоны значений температуры плавления, и их получают с экспериментальными погрешностями, которые обычно связаны с данным аналитическим способом.

DSC823e

Для ряда соединений значения температуры плавления определяли с помощью DSC823e (Mettler-Toledo). Значения температуры плавления измеряли при градиенте температуры 10°C/минута. Максимальная температура составляла 300°C.

LCMS

LCMS, общая процедура 1

Измерения в ходе осуществления высокоэффективной жидкостной хроматографии (HPLC) проводили с помощью насоса для LC, детектора на диодной матрице (DAD) или УФ-детектора и колонки, как описано в соответствующих способах. При необходимости добавляли дополнительные детекторы (см. приведенную ниже таблицу способов).

Поток из колонки направляли в масс-спектрометр (МС), который был оснащен источником ионизации при атмосферном давлении. В компетенции специалиста в данной области находится установка настраиваемых параметров (например, диапазона сканирования, минимального времени измерения и т. п.) с целью получения ионов, обеспечивающих возможность определения номинального моноизотопного молекулярного веса (MW) соединения. Сбор данных проводили с помощью соответствующего программного обеспечения.

Соединения описывали по их значениям экспериментального времени удерживания (R_t) и ионам. Если не указано иное, то в таблице данных указанный молекулярный ион представляет собой $[M+H]^+$ (протонированную молекулу) и/или $[M-H]^-$ (депротонированную молекулу). В случае, если соединение не было непосредственно способно к ионизации, указывают тип аддукта (т. е. $[M+NH_4]^+$, $[M+HCOO]^-$ и т. д.). Для молекул со сложными изотопными

распределениями (Br, Cl и т. п.) указанное значение является таким значением, которое получено для наименьшей массы изотопа. Все результаты получали с экспериментальными погрешностями, которые обычно ассоциированы с применяемым способом.

Далее в настоящем документе "SQD" означает одиночный квадрупольный детектор, "MSD" означает масс-селективный детектор, "к. т." означает комнатную температуру, "ВЕН" означает мостиковый гибрид этилсилоксана/диоксида кремния, "DAD" означает детектор на диодной матрице, "HSS" означает диоксид кремния повышенной прочности, "Q-ToF" означает квадрупольные времяпролетные масс-спектрометры, "CLND" означает хемилюминесцентный азотный детектор, "ELSD" означает испарительный детектор светорассеяния.

Таблица 5а. Коды способов LCMS (скорость потока выражена в мл/мин.; температура колонки (Т) – в °С; время анализа – в минутах).

Спосо б	Прибор	Колонка	Подвижна я фаза	Градиент	Поток ----- Т колонки	Время анали за (мин.)
1	Waters: Acquity [®] UPLC [®] – DAD и SQD	Waters: ВЕН C18 (1,7 мкм, 2,1*50 мм)	А: 10 мМ CH ₃ COONH ₄ в 95% H ₂ O+5% CH ₃ CN В: CH ₃ CN	От 95% А до 5% А за 1,3 мин., удерживание в течение 0,2 мин., до 95% А за 0,2 мин., удерживание в течение 0,1 мин.	0,7 ----- 70	1,8
2	Waters: Acquity [®] UPLC [®] – DAD и SQD	Waters: HSS T3 (1,8 мкм, 2,1*100 мм)	А: 10 мМ CH ₃ COONH ₄ в 95% H ₂ O+5% CH ₃ CN В: CH ₃ CN	От 100% А до 5% А за 2,10 мин., до 0% А за 0,90 мин., до 5% А за	0,7 ----- 55	3,5

				0,5 мин.		
3	Waters: Acquity [®] UPLC [®] – DAD и SQD	Waters: BEH C18 (1,7 мкм, 2,1*50 мм)	A: 10 mM CH ₃ COONH ₄ в 95% H ₂ O+5% CH ₃ CN B: CH ₃ CN	От 95% А до 5% А за 1,3 мин., удерживание в течение 0,7 мин.	0,8 ----- 55	2
4	Waters: Acquity [®] UPLC [®] – DAD и SQD	Waters: HSS T3 (1,8 мкм, 2,1*100 мм)	A: 10 mM CH ₃ COONH ₄ в 95% H ₂ O+5% CH ₃ CN B: CH ₃ CN	От 100% А до 5% А за 2,10 мин., до 0% А за 0,90 мин., до 5% А за 0,5 мин.	0,7 ----- 55	3,5

Таблица 5b. Физико-химические данные для некоторых соединений, время удерживания (R_t) в мин., пик $[M+H]^+$ (протонированная молекула), способ LCMS и mp (точка плавления в °C).

Соед. №	MP (°C)	R_t (мин.)	$[M+H]^+$	$[M-H]^-$	Другой M	Способ
30		0,74	346,1			3
31		0,87	423,2	421,3		3
33		0,89	437,2			3
32		1,55	437,3	435,1		2
188		2,2	515	513		2
196		1,96	378	376		4
197		1,95	378	376		4
77		2,2	477	475		2
195		1,92	376	374		4
194		1,92	376	374		4
137		2,21	515	513		2
200		1,99	469	467		4
201		1,99	469	467		4

92		1,02	473,1	471		3
28		1,97	467	465		4
45		2,18	420	418		2
135		1,97	455	453		4
94	182,26	1,83	453	451		4
57		2,11	507	505		4
52		1,23	472,1	470		3
193		1,58	513	511,1		2
39		1,58	513	511		2
53		2,13	497,3	495,2		4
93		1,04	467	465,1		3
95		1,96	478,2	476,1		2
46		1,85	444	442		2
105		1,93	467,4	465,3		4
112		1,96	457	455		2
111		0,94	470,2	468,2		3
19		2,33	517,99	515,92		2
6		2,02	440,07	437,9		2
8		1,79	407,2	465 [MCH ₃ COO ⁻]		4
11		0,84	440,2	438,1		3
15		1,48	415,2	413,1		4
199		1,52	449	447		4
198		1,55	449	447		4
66		1,33	486,3	484,4		1
181a		1,3434	573,4	571,5		1
174		1,4284	567,4	564,5		1
180a		1,1967	509,3	507,5		1
47		1,2208	432,3	430,4		1
171		1,2917	553,4	551,5		1
60		1,4534	486,3	484,5		1
151a		1,1192	547			1
207		1,99	466,2	464,2		4
203		2,13	485,3	483,2		4
208		2,09	446,3	444,1		4

213		2,45		454,3		4
212		2,43	456,3		464,4	4
210		1,02	458,2	456,1		3
209		1	458,2		546,1	3

LCMS, общая процедура 2

HPLC-MS осуществляли с применением системы Acquity™ для проведения сверхпроизводительной жидкостной хроматографии, содержащей PDA-детектор, блок управления для бинарного растворителя и SQ-детектор (Waters UK Ltd., Элстри, Великобритания), последовательно связанной с системой для проведения масс-спектрометрии (Waters UK Ltd., Манчестер, Великобритания), используя программное обеспечение от поставщика (OpenLynx Browser™ v4.1, SQ Detector v4.1, Instrument Driver V4.1 и MassLynx™ v4.1). Параллельную детекцию с использованием испарительного детектора светорассеяния (385-LC, Varian; Agilent Technologies, Уокингем, Великобритания) внедряли в систему с помощью активного делителя потока (модель ЕНМА, 10-портовый клапан; Valco Instruments, активное деление обеспечивалось с помощью проприетарного программного обеспечения Cyclofluidic). Масс-спектрометрию прямого впрыска проводили на ThermoQuest Finnigan LCQduo с использованием программного обеспечения от поставщика Xcalibur® v2.0 SR2, Tune Plus v2.0 и Qual Browser v2.0 (ThermoFisher).

Условия:

Колонка	Phenomenex Luna C18(2) 5 мкм, 150×4,6 мм.
Элюент	Водная фаза – вода, содержащая 0,2% об./об. трифторуксусной кислоты. Органическая фаза – ацетонитрил, содержащий 0,2% об./об. трифторуксусной кислоты.
Температура	температура окружающей среды
Детекция	Масс-спектрометрия – ESI+в пределах диапазона значений масса/заряд от 150 до 850. УФ – диодная матрица в пределах диапазона значений от 220 до 400 нм. ELSD – испаритель при 35°C, небулайзер при 35°C и поток газа при 1,8 л/мин.

Градиентный профиль:

Время (минуты)	Скорость потока (мл мин. ⁻¹)	Количество органической фазы (%)
----------------	---	-------------------------------------

0	1,5	10
0,2	1,5	10
9,0	1,5	99
11,0	1,5	99
11,1	1,5	10
12,0	1,5	10
12,1	0	10

Установления равновесия достигали с применением метода запуска перед прогоном следующего образца.

Таблица 5с. Физико-химические данные для некоторых соединений с применением LCMS, общей процедуры 2.

Соед. №	R _t (мин.)	[M+H] ⁺
47	5,85	432,2
48	7,415	482,1
49	6,89	438,1
50	6,79	456,1
51	7,52	524,1
54	7,27	474,1
55	7,14	452,2
56	7,44	466,2
58	7,2	470,1
59	7,93	486,1
60	7,69	486,1
61	5,9	454,1
62	7,03	482,2
63	6,77	486,1
64	7,14	496,2
65	6,8	486,1
66	6,86	486,1
67	7,18	486,1
68	7,27	502,1
69	7,19	522,1
70	6,61	498,2
71	6,148	498,2
72	6,94	498,2
73	7,81	510,2
74	7,75	536,1
75	7,69	540,1

Соед. №	R _t (мин.)	[M+H] ⁺
78	6,68	477,2
81	6,59	468,2
83	7,57	530,2
84	5,99	483,2
85	5,93	537,2
86	6,85	541,2
96	6,14	469,1
97	6,68	508,2
98	6,17	549,2
99	5,87	483,2
100	6,504	508,2
101	5,47	538,2
106	6,5	483,2
112	6,02	457,1
112	5,79	457,1
113	6,87	444,1
114	6,63	518,2
115	5,36	456,2
116	6,21	540,2
117	6,22	540,2
118	5,95	510,1
119	6,68	546,2
120	7,2	532,2
121	6,12	489,2
122	6,54	493,2
123	6,21	489,2

Соед. №	R _t (мин.)	[M+H] ⁺
124	6,18	510,2
125	6,88	491,2
126	6,93	491,2
127	5,24	492,2
128	6,94	494,2
129	6,33	492,2
130	7,19	478,1
131	6,79	492,2
132	6,27	489,2
133	7,52	494,1
138	7,68	526,2
139	7,38	604,2
140	7,75	588,2
141	7,66	604,2
142	8,28	518,2
143	6,96	582,2
144	7,2	573,2
145	6,95	575,2
146	5,99	539,2
147	6,58	570,2
148	7,44	581,3
149	8,61	565,3
150	8,2	551,2
151	4,67	547,2
152	6,61	579,2
153	6,15	564,2
154	7,66	544,2
155	7,3	523,2

Соед. №	R _t (мин.)	[M+H] ⁺
156	7,32	507,2
157	7,97	588,2
158	7,85	539,2
159	7,11	559,2
160	7,32	518,2
161	6,79	559,2
162	5,17	546,2
163	6,2	562,2
164	6,73	575,2
165	7,23	571,2
166	6,09	574,2
167	5,51	542,2
168	6,76	526,2
169	6,81	595,2
170	6,64	599,2
171	6,04	553,2
172	8,19	551,2
173	7,14	511,2
174	7,37	566,2
174	7,33	566,2
175	7,12	578,2
176	7,24	548,2
177	7,05	582,2
178	6,98	573,2
179	6,77	564,2
180	6,63	509,2
181	6,81	573,2

SFCMS

Общая процедура

Измерения в ходе SFC проводили с применением аналитической системы сверхкритической жидкостной хроматографии, укомплектованной насосом для двухкомпонентных смесей для доставки диоксида углерода (CO₂) и модификатора, автоматическим дозатором, термостатом для колонок, детектором на диодной матрице, оснащенным проточной кюветой для работы под высоким давлением, выдерживающей значения до 400 бар. При оснащении

масс-спектрометром (MS) поток из колонки направляли в (MS). В компетенции специалиста в данной области находится установка настраиваемых параметров (например, диапазона сканирования, минимального времени измерения и т. п.) с целью получения ионов, обеспечивающих возможность определения номинального моноизотопного молекулярного веса (MW) соединения. Сбор данных проводили с помощью соответствующего программного обеспечения.

Таблица 6а. Аналитические способы SFC-MS (скорость потока выражена в мл/мин.; температура колонки (Т) – в °С; время анализа – в минутах, противодавление (BPR) – в барах).

Способ	Колонка	Подвижная фаза	Градиент	Поток ----- -- Т колонки	Время анализа ----- -- BPR
1	Колонка Daicel Chiralpak® AD (5,0 мкм, 250×4,6 мм)	А: CO ₂ В: EtOH+0,2 % iPrNH ₂	30% В, удерживание 4 мин., до 50% за 1 мин., удерживание 2 мин.	5 ----- 40	7 ----- 110
2	Колонка Daicel Chiralpak® AS (5,0 мкм, 250×4,6 мм)	А: CO ₂ В: EtOH+0,2 % iPrNH ₂	15% В, удерживание 4 мин., до 50% за 1 мин., удерживание 2 мин.	5 ----- 40	7 ----- 110
3	Колонка Regis Whelk-O® 1 (R, R) (5,0 мкм, 250×4,6 мм)	А: CO ₂ В: EtOH+0,2 % iPrNH ₂	35% В, удерживание 4 мин., до 50% за 1 мин., удерживание 2 мин.	5 ----- 40	7 ----- 110
4	Колонка Daicel Chiralpak® AD (5,0 мкм,	А: CO ₂ В: EtOH- iPrOH+0, 2%	20% В, удерживание 4 мин., до 50% за 1 мин., удерживание 2	5 ----- 40	7 ----- 110

	250×4,6 мм)	iPrNH ₂	мин.		
5	Колонка Regis Whelk-O® 1 (R, R) (5,0 мкм, 250×4,6 мм)	A: CO ₂ B: EtOH- iPrOH+0, 2% iPrNH ₂	30% B, удерживание 6 мин., до 50% за 1 мин., удерживание 2,5 мин.	5 ----- 40	7 ----- 110

Таблица 6а. Аналитические данные SFC – R_t означает время удерживания (в минутах), [M+H]⁺ означает массу протонированного соединения, способ относится к способу, применяемому для анализа энантиомерно чистых соединений с помощью (SFC)MS

Соед. №	R _t	[M+H] ⁺	Порядок элюирования изомеров	Способ
196	1,83	378	A	1
197	2,22	378	B	1
195	1,81	376	A	2
194	2,53	376	B	2
200	2,87	469	A	3
201	3,58	469	B	3
193	1,25	513	A	1
39	1,81	513	B	1
105	2,39	467	A	4
199	3,48	449	A	5
198	3,84	449	B	5

Порядок элюирования изомеров: A означает первый элюируемый изомер; B означает второй элюируемый изомер.

ЯМР

Для ряда соединений ^1H ЯМР спектры регистрировали на Bruker Avance III с магнитом Ultrashield, эксплуатируемым при 300 МГц, на спектрометре Bruker DPX-400, работающем при 400 МГц, на Bruker Avance I, работающем при 500 МГц, на Bruker DPX-360, работающем при 360 МГц, или на спектрометре Bruker Avance 600, работающем при 600 МГц, с использованием хлороформа- d (дейтерированного хлороформа, CDCl_3) или $\text{DMSO}-d_6$ (дейтерированного DMSO , диметил- d_6 -сульфоксида) в качестве растворителя. Значения химического сдвига (δ) указаны в частях на миллион (ppm) относительно тетраметилсилана (TMS), который применяли в качестве внутреннего стандарта.

Таблица 7. Результаты ^1H ЯМР.

Соед. №	Результат ^1H ЯМР
1	^1H ЯМР (400 МГц, $\text{ХЛОРОФОРМ}-d$) δ ppm 2,65–2,80 (m, 3 H) 2,98–3,14 (m, 4 H) 3,90 (s, 3 H) 6,64 (d, $J=5,29$ Гц, 1 H) 7,22–7,26 (m, 1 H) 7,30–7,39 (m, 4 H) 7,90 (d, $J=5,27$ Гц, 1 H)
2	^1H ЯМР (360 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 2,65–2,93 (m, 5 H) 2,95–3,07 (m, 2 H) 3,80 (s, 3 H) 6,16 (s, 2 H) 6,76 (d, $J=5,27$ Гц, 1 H) 7,14–7,25 (m, 2 H) 7,27–7,41 (m, 2 H) 7,86 (d, $J=5,22$ Гц, 1 H)
20	^1H ЯМР (360 МГц, $\text{ХЛОРОФОРМ}-d$) δ ppm 0,46–0,55 (m, 1 H) 0,64–0,74 (m, 1 H) 0,83–0,96 (m, 2 H) 1,64–1,73 (m, 1 H) 2,85–2,97 (m, 3 H) 2,97–3,13 (m, 2 H) 3,20–3,31 (m, 2 H) 3,87 (s, 3 H) 4,48 (br. s, 2 H) 7,06 (dd, $J=12,74$, 8,05 Гц, 1 H) 7,10–7,17 (m, 1 H) 7,24–7,30 (m, 1 H) 7,35–7,43 (m, 1 H) 7,71 (s, 1 H)
16	^1H ЯМР (360 МГц, $\text{ХЛОРОФОРМ}-d$) δ ppm 2,71–2,86 (m, 2 H) 2,89 (dd, $J=11,93$, 2,60 Гц, 1 H) 3,01–3,10 (m, 2 H) 3,19–3,31 (m, 2 H) 3,88 (s, 3 H) 4,52 (br. s, 2 H) 7,01–7,10 (m, 1 H) 7,14 (td, $J=7,60$, 1,35 Гц, 1 H) 7,27–7,33 (m, 1 H) 7,37 (td, $J=8,12$, 1,85 Гц, 1 H) 8,08 (s, 1 H)

34	¹ H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ- <i>d</i>) δ ppm 2,46 (dd, <i>J</i> =17,96, 5,45 Гц, 1 H) 2,79 (dd, <i>J</i> =11,91, 3,43 Гц, 1 H) 2,88 (dd, <i>J</i> =17,95, 10,49 Гц, 1 H) 2,97–3,04 (m, 2 H) 3,11–3,17 (m, 1 H) 3,17–3,23 (m, 1 H) 3,48 (s, 3 H) 5,90 (d, <i>J</i> =7,27 Гц, 1 H) 7,01 (ddd, <i>J</i> =12,92, 8,07, 1,21 Гц, 1 H) 7,03 (d, <i>J</i> =7,05 Гц, 1 H) 7,09 (td, <i>J</i> =7,66, 1,25 Гц, 1 H) 7,20–7,26 (m, 1 H) 7,34 (td, <i>J</i> =8,17, 1,82 Гц, 1 H)
3	¹ H ЯМР (400 МГц, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 2,51–2,58 (m, 1 H) 2,64–2,83 (m, 4 H) 2,83–2,89 (m, 1 H) 2,90–2,99 (m, 1 H) 5,97 (d, <i>J</i> =6,75 Гц, 1 H) 6,35 (br. s, 2 H) 7,11 (d, <i>J</i> =6,72 Гц, 1 H) 7,15–7,24 (m, 2 H) 7,27–7,39 (m, 2 H) 11,24 (br. s, 1 H)
35	¹ H ЯМР (360 МГц, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 2,66–3,03 (m, 7 H) 3,80 (s, 3 H) 6,20 (br. s., 2 H) 6,76 (d, <i>J</i> =5,26 Гц, 1 H) 7,11 (td, <i>J</i> =8,54, 2,62 Гц, 1 H) 7,25 (ddd, <i>J</i> =12,41, 9,32, 2,63 Гц, 1 H) 7,33 (td, <i>J</i> =9,15, 6,89 Гц, 1 H) 7,86 (d, <i>J</i> =5,25 Гц, 1 H)
17	¹ H ЯМР (360 МГц, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 2,58–2,71 (m, 1 H) 2,73–2,86 (m, 3 H) 2,94–3,06 (m, 3 H) 3,81 (s, 3 H) 6,26 (s, 2 H) 7,12 (td, <i>J</i> =8,49, 2,66 Гц, 1 H) 7,21–7,39 (m, 2 H) 8,12 (s, 1 H)
182	¹ H ЯМР (360 МГц, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 2,66–3,04 (m, 7 H) 3,80 (s, 3 H) 6,20 (br. s., 2 H) 6,76 (d, <i>J</i> =5,45 Гц, 1 H) 7,11 (td, <i>J</i> =8,56, 2,63 Гц, 1 H) 7,25 (ddd, <i>J</i> =12,42, 9,30, 2,63 Гц, 1 H) 7,33 (td, <i>J</i> =8,94, 7,26 Гц, 1 H) 7,86 (d, <i>J</i> =5,25 Гц, 1 H)
22	¹ H ЯМР (360 МГц, ХЛОРОФОРМ- <i>d</i>) δ ppm 2,82–2,94 (m, 2 H) 3,00–3,13 (m, 3 H) 3,19–3,29 (m, 2 H) 3,95 (s, 3 H) 4,28 (br. s, 2 H) 7,07 (dd, <i>J</i> =12,75, 8,06 Гц, 1 H) 7,12–7,20 (m, 1 H) 7,27–7,39 (m, 2 H) 8,30 (s, 1 H)
23	¹ H ЯМР (360 МГц, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 2,73–2,88 (m, 3 H) 2,92–3,09 (m, 4 H) 3,90 (s, 3 H) 6,29 (s, 2 H) 7,12 (td, <i>J</i> =8,50, 2,67 Гц, 1 H) 7,20–7,39 (m, 2 H) 8,49 (s, 1 H)

25	¹ H ЯМР (360 МГц, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 2,54–3,11 (m, 7 H) 3,87 (s, 3 H) 6,23 (s, 2 H) 7,08–7,15 (m, 1 H) 7,21–7,30 (m, 1 H) 7,30–7,40 (m, 1 H) 7,52 (dd, <i>J</i> =7,86, 4,76 Гц, 1 H) 7,73–7,80 (m, 1 H) 7,83 (s, 1 H) 8,53 (d, <i>J</i> =2,26 Гц, 1 H) 8,61 (dd, <i>J</i> =4,81, 1,64 Гц, 1 H)
24	¹ H ЯМР (360 МГц, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 1,31 (t, <i>J</i> =7,08 Гц, 3 H) 2,74–3,25 (m, 7 H) 3,89 (s, 3 H) 4,23–4,32 (m, 2 H) 6,26 (br. s, 2 H) 7,12 (t, <i>J</i> =8,32 Гц, 1 H) 7,19–7,40 (m, 2 H) 8,53 (s, 1 H)
87	¹ H ЯМР (360 МГц, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 2,59–3,13 (m, 7 H) 3,87 (s, 3 H) 6,23 (s, 2 H) 7,05–7,18 (m, 1 H) 7,20–7,30 (m, 1 H) 7,30–7,39 (m, 1 H) 7,51 (dd, <i>J</i> =7,88, 4,84 Гц, 1 H) 7,72–7,79 (m, 1 H) 7,83 (s, 1 H) 8,53 (d, <i>J</i> =2,21 Гц, 1 H) 8,61 (dd, <i>J</i> =4,80, 1,64 Гц, 1 H)
89	¹ H ЯМР (400 МГц, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 2,06–2,13 (m, 3 H) 2,29 (m, <i>J</i> =17,46, 8,18 Гц, 1 H) 2,53–2,61 (m, 1 H) 2,74–2,88 (m, 2 H) 2,94–3,04 (m, 2 H) 3,08–3,28 (m, 1 H) 3,95 (s, 3 H) 5,83 (br. s, 2 H) 6,97–7,08 (m, 2 H) 7,31 (d, <i>J</i> =4,87 Гц, 1 H) 7,40 (q, <i>J</i> =8,33 Гц, 1 H) 7,72 (s, 1 H) 8,27 (br. s., 1 H) 8,46 (d, <i>J</i> =4,93 Гц, 1 H)
49	¹ H ЯМР (360 МГц, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 2,52–3,12 (m, 7 H) 3,85 (s, 3 H) 6,24 (br. s, 2 H) 7,12 (td, <i>J</i> =8,50, 2,64 Гц, 1 H) 7,20–7,43 (m, 5 H) 7,44–7,52 (m, 2 H) 7,76 (s, 1 H)
184	¹ H ЯМР (360 МГц, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 0,27–0,35 (m, 2 H) 0,54–0,60 (m, 2 H) 1,16–1,27 (m, 1 H) 2,69–2,89 (m, 5 H) 2,93–3,02 (m, 2 H) 3,75 (d, <i>J</i> =7,01 Гц, 2 H) 3,80 (s, 3 H) 6,17 (s, 2 H) 6,75 (d, <i>J</i> =5,27 Гц, 1 H) 6,80–6,89 (m, 2 H) 7,04–7,17 (m, 1 H) 7,85 (d, <i>J</i> =5,23 Гц, 1 H)
136	¹ H ЯМР (400 МГц, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 0,28–0,33 (m, 2 H) 0,54–0,59 (m, 2 H) 1,17–1,26 (m, 1 H) 2,67–2,89 (m, 5 H) 2,93–3,01 (m, 2 H) 3,75 (d, <i>J</i> =6,86 Гц, 2 H) 3,80 (s, 3 H) 6,14 (s, 2 H) 6,75 (d, <i>J</i> =5,25 Гц, 1 H) 6,82–6,87 (m, 2 H) 7,10 (dd, <i>J</i> =12,31, 9,08 Гц, 1 H) 7,85 (d, <i>J</i> =5,25 Гц, 1 H)

42	¹ H ЯМР (360 МГц, DMSO-d ₆) δ ppm 2,61-2,85 (m, 4 H) 2,91-3,06 (m, 3 H) 3,81 (s, 3 H) 6,20 (br. s., 2 H) 6,66 (dt, J=8,60, 3,56 Гц, 1 H) 6,74 (dd, J=6,77, 3,11 Гц, 1 H) 6,99 (dd, J=12,42, 8,77 Гц, 1 H) 8,11 (s, 1 H) 9,39 (br. s, 1 H)
10	¹ H ЯМР (400 МГц, DMSO-d ₆) δ ppm 2,71-2,95 (m, 5 H) 2,99-3,09 (m, 2 H) 3,81 (s, 3 H) 6,21 (s, 2 H) 6,77 (d, J=5,30 Гц, 1 H) 7,42 (dd, J=12,17, 8,44 Гц, 1 H) 7,66 (dd, J=7,70, 2,56 Гц, 1 H) 7,82 (ddd, J=8,42, 4,42, 2,49 Гц, 1 H) 7,87 (d, J=5,19 Гц, 1 H) 9,02 (s, 2 H) 9,20 (s, 1 H)
5	¹ H ЯМР (360 МГц, DMSO-d ₆) δ ppm 2,61-3,07 (m, 7 H) 3,80 (s, 3 H) 6,15 (br. s, 2 H) 6,64 (dt, J=8,67, 3,42 Гц, 1 H) 6,70-6,80 (m, 2 H) 6,98 (dd, J=12,20, 8,68 Гц, 1 H) 7,85 (d, J=5,26 Гц, 1 H) 9,37 (br. s, 1 H)
76	¹ H ЯМР (360 МГц, ХЛОРОФОРМ-d) δ ppm 2,38 (dd, J=17,66, 5,33 Гц, 1 H) 2,68-2,87 (m, 2 H) 2,94-3,02 (m, 1 H) 3,04-3,16 (m, 2 H) 3,21-3,32 (m, 1 H) 3,95 (s, 3 H) 4,55 (br. s, 2 H) 6,78-6,92 (m, 2 H) 7,37 (td, J=9,10, 6,57 Гц, 1 H) 7,51-7,62 (m, 3 H) 7,66-7,70 (m, 1 H) 7,81 (s, 1 H)
18	¹ H ЯМР (400 МГц, DMSO-d ₆) δ ppm 2,60-2,72 (m, 1 H) 2,73-2,89 (m, 3 H) 2,92-3,06 (m, 3 H) 3,82 (s, 3 H) 6,16 (br. s, 2 H) 6,60-6,81 (m, 2 H) 6,98 (dd, J=12,20, 8,65 Гц, 1 H) 8,11 (s, 1 H) 9,37 (br. s, 1 H)
102	¹ H ЯМР (360 МГц, ХЛОРОФОРМ-d) δ ppm 2,38 (dd, J=17,69, 5,34 Гц, 1 H) 2,68 (dd, J=11,91, 2,62 Гц, 1 H) 2,78 (dd, J=17,69, 11,07 Гц, 1 H) 2,87-2,96 (m, 1 H) 2,97-3,08 (m, 2 H) 3,17-3,24 (m, 1 H) 3,88 (s, 3 H) 3,94 (s, 3 H) 4,46 (br. s, 2 H) 6,71-6,85 (m, 3 H) 7,31 (td, J=9,10, 6,60 Гц, 1 H) 7,47 (dd, J=8,48, 2,47 Гц, 1 H) 7,77 (s, 1 H) 8,06 (d, J=2,45 Гц, 1 H)
189	¹ H ЯМР (360 МГц, DMSO-d ₆) δ ppm 2,61-2,85 (m, 4 H) 2,92-3,06 (m, 3 H) 3,81 (s, 3 H) 6,19 (br. s., 2 H) 6,66 (dt, J=8,77, 3,47 Гц, 1 H) 6,74 (dd, J=6,94, 2,94 Гц, 1 H) 6,99 (dd, J=12,41, 8,77 Гц, 1 H) 8,11 (s, 1 H) 9,39 (br. s, 1 H)

9	¹ H ЯМР (360 МГц, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 2,71-3,06 (m, 7 H) 3,80 (s, 3 H) 6,33 (br. s, 2 H) 6,77 (d, <i>J</i> =5,27 Гц, 1 H) 7,50 (dd, <i>J</i> =12,07, 8,46 Гц, 1 H) 7,63 (dd, <i>J</i> =7,34, 2,24 Гц, 1 H) 7,87 (d, <i>J</i> =5,23 Гц, 1 H) 7,90-7,98 (m, 1 H)
7	¹ H ЯМР (360 МГц, ХЛОРОФОРМ- <i>d</i>) δ ppm 2,65 (dd, <i>J</i> =17,54, 5,68 Гц, 1 H) 2,84 (dd, <i>J</i> =12,00, 2,87 Гц, 1 H) 2,93-3,05 (m, 3 H) 3,12-3,23 (m, 2 H) 3,91 (s, 3 H) 4,27 (br. s, 2 H) 6,64 (d, <i>J</i> =5,29 Гц, 1 H) 7,07-7,14 (m, 2 H) 7,27-7,33 (m, 1 H) 7,90 (d, <i>J</i> =5,29 Гц, 1 H)
41	¹ H ЯМР (360 МГц, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 2,63-2,89 (m, 4 H) 2,94-3,07 (m, 3 H) 3,81 (s, 3 H) 6,29 (br. s, 2 H) 7,12 (td, <i>J</i> =8,50, 2,68 Гц, 1 H) 7,25 (ddd, <i>J</i> =12,41, 9,30, 2,67 Гц, 1 H) 7,29-7,38 (m, 1 H) 8,01 (s, 1 H)
26	¹ H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ- <i>d</i>) δ ppm 2,05-2,76 (m, 6 H) 3,00-3,32 (m, 4 H) 3,99 (s, 3 H) 6,68 (m, <i>J</i> =8,50 Гц, 1 H) 6,87-6,97 (m, 1 H) 6,98-7,06 (m, 1 H) 7,22-7,28 (m, 1 H) 7,78 (s, 1 H) 8,39 (s, 1 H) 8,48-8,57 (m, 1 H)
27	¹ H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ- <i>d</i>) δ ppm 2,04-2,76 (m, 6 H) 3,00 (ddd, <i>J</i> =12,02, 4,77, 2,92 Гц, 1 H) 3,11-3,26 (m, 2 H) 3,31-3,40 (m, 1 H) 3,97 (s, 3 H) 7,20-7,27 (m, 2 H) 7,47-7,54 (m, 1 H) 7,61 (td, <i>J</i> =8,18, 2,45 Гц, 1 H) 7,77 (s, 1 H) 8,30-8,42 (m, 1 H) 8,46-8,56 (m, 1 H) 8,92 (s, 2 H) 9,20 (s, 1 H)
12	¹ H ЯМР (400 МГц, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 2,71-3,11 (m, 7 H) 3,81 (s, 3 H) 6,20 (br. s., 2 H) 6,77 (d, <i>J</i> =5,14 Гц, 1 H) 7,42 (dd, <i>J</i> =12,29, 8,29 Гц, 1 H) 7,67 (dd, <i>J</i> =7,71, 2,55 Гц, 1 H) 7,78-7,84 (m, 1 H) 7,87 (d, <i>J</i> =5,09 Гц, 1 H) 8,51 (t, <i>J</i> =2,15 Гц, 1 H) 9,01-9,04 (m, 2 H)
37	¹ H ЯМР (360 МГц, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 2,71-2,95 (m, 5 H) 2,99-3,10 (m, 2 H) 3,81 (s, 3 H) 6,23 (br. s., 2 H) 6,78 (d, <i>J</i> =5,30 Гц, 1 H) 7,42 (dd, <i>J</i> =12,20, 8,41 Гц, 1 H) 7,67 (dd, <i>J</i> =7,61, 2,55 Гц, 1 H) 7,81 (ddd, <i>J</i> =8,11, 4,81, 2,57 Гц, 1 H) 7,87 (d, <i>J</i> =5,21 Гц, 1 H) 8,51 (t, <i>J</i> =2,08 Гц, 1 H) 9,01-9,05 (m, 2 H)

43	¹ H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ- <i>d</i>) δ ppm 2,80–2,90 (m, 2 H) 2,94–3,06 (m, 3 H) 3,11–3,24 (m, 2 H) 3,91 (s, 3 H) 4,45–4,63 (m, 2 H) 6,79–6,89 (m, 2 H) 7,32 (td, <i>J</i> =9,06, 6,64 Гц, 1 H) 7,61 (s, 1 H)
80	¹ H ЯМР (360 МГц, ХЛОРОФОРМ- <i>d</i>) δ ppm 2,39 (dd, <i>J</i> =17,84, 5,79 Гц, 1 H) 2,73–2,84 (m, 2 H) 3,03–3,18 (m, 3 H) 3,35 (d, <i>J</i> =17,40 Гц, 1 H) 3,60 (s, 3 H) 5,91 (t, <i>J</i> =2,20 Гц, 1 H) 6,54 (dt, <i>J</i> =7,46, 1,21 Гц, 1 H) 6,75–6,87 (m, 2 H) 6,92 (td, <i>J</i> =8,28, 2,67 Гц, 1 H) 7,20 (t, <i>J</i> =7,83 Гц, 1 H) 7,37 (td, <i>J</i> =9,08, 6,47 Гц, 1 H) 7,66 (s, 1 H)
185	¹ H ЯМР (360 МГц, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 2,72–2,95 (m, 5 H) 2,99–3,10 (m, 2 H) 3,81 (s, 3 H) 6,24 (br. s, 2 H) 6,78 (d, <i>J</i> =5,32 Гц, 1 H) 7,43 (dd, <i>J</i> =12,21, 8,46 Гц, 1 H) 7,65 (dd, <i>J</i> =7,68, 2,63 Гц, 1 H) 7,82 (ddd, <i>J</i> =8,43, 4,43, 2,51 Гц, 1 H) 7,87 (d, <i>J</i> =5,24 Гц, 1 H) 9,02 (s, 2 H) 9,21 (s, 1 H)
38	¹ H ЯМР (360 МГц, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 2,73–2,94 (m, 5 H) 2,99–3,11 (m, 2 H) 3,81 (s, 3 H) 6,24 (br. s, 2 H) 6,78 (d, <i>J</i> =5,26 Гц, 1 H) 7,43 (dd, <i>J</i> =12,30, 8,42 Гц, 1 H) 7,65 (dd, <i>J</i> =7,70, 2,66 Гц, 1 H) 7,82 (ddd, <i>J</i> =8,43, 4,43, 2,51 Гц, 1 H) 7,87 (d, <i>J</i> =5,31 Гц, 1 H) 9,02 (s, 2 H) 9,21 (s, 1 H)
186	¹ H ЯМР (360 МГц, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 2,73–2,94 (m, 5 H) 3,01 (m, <i>J</i> =17,10 Гц, 2 H) 3,81 (s, 3 H) 6,23 (br. s, 2 H) 6,78 (d, <i>J</i> =5,38 Гц, 1 H) 7,42 (dd, <i>J</i> =12,16, 8,41 Гц, 1 H) 7,67 (dd, <i>J</i> =7,68, 2,50 Гц, 1 H) 7,82 (ddd, <i>J</i> =8,47, 4,42, 2,52 Гц, 1 H) 7,87 (d, <i>J</i> =5,24 Гц, 1 H) 8,52 (t, <i>J</i> =2,11 Гц, 1 H) 9,02–9,05 (m, 2 H)
110	¹ H ЯМР (360 МГц, ХЛОРОФОРМ- <i>d</i>) δ ppm 2,58–2,86 (m, 3 H) 2,97 (dd, <i>J</i> =11,96, 4,58 Гц, 1 H) 3,02–3,11 (m, 1 H) 3,15–3,31 (m, 2 H) 3,63 (s, 3 H) 3,92 (s, 3 H) 4,11 (br. s, 2 H) 6,26 (t, <i>J</i> =6,77 Гц, 1 H) 6,78–6,88 (m, 2 H) 7,28–7,41 (m, 3 H) 7,76 (s, 1 H)
44	¹ H ЯМР (360 МГц, ХЛОРОФОРМ- <i>d</i>) δ ppm 2,81–3,06 (m, 5 H) 3,11–3,27 (m, 2 H) 3,35 (s, 3 H) 3,90 (s, 3 H) 4,31 (d, <i>J</i> =11,53 Гц, 1 H) 4,46 (d, <i>J</i> =11,52 Гц, 1 H) 6,79–6,90 (m, 2 H) 7,28–7,39 (m, 1 H) 7,87 (s, 1 H)

79	¹ H ЯМР (360 МГц, ХЛОРОФОРМ- <i>d</i>) δ ppm 1,98–2,29 (m, 4 H) 2,38–2,62 (m, 1 H) 2,69 (m, <i>J</i> =11,90 Гц, 1 H) 2,91–3,00 (m, 1 H) 3,01–3,18 (m, 2 H) 3,23–3,31 (m, 1 H) 3,96 (s, 3 H) 4,52 (br. s, 2 H) 6,79–6,90 (m, 2 H) 7,29–7,38 (m, 1 H) 7,38–7,46 (m, 2 H) 7,60 (dt, <i>J</i> =7,89, 2,26 Гц, 1 H) 7,70 (d, <i>J</i> =2,36 Гц, 1 H)
13	¹ H ЯМР (600 МГц, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 0,95 (t, <i>J</i> =6,71 Гц, 3 H) 2,66–3,05 (m, 8 H) 3,13–3,26 (m, 5 H) 3,63 (dd, <i>J</i> =13,94, 2,35 Гц, 1 H) 3,72 (dd, <i>J</i> =13,79, 2,79 Гц, 1 H) 3,80 (s, 3 H) 6,10 (br. s, 2 H) 6,75 (d, <i>J</i> =5,28 Гц, 1 H) 7,12 (dd, <i>J</i> =12,47, 8,10 Гц, 1 H) 7,23–7,32 (m, 2 H) 7,85 (d, <i>J</i> =5,25 Гц, 1 H)
109	¹ H ЯМР (360 МГц, ХЛОРОФОРМ- <i>d</i>) δ ppm 2,47 (dd, <i>J</i> =17,70, 5,48 Гц, 1 H) 2,70–3,30 (m, 6 H) 3,60 (s, 3 H) 3,92 (s, 3 H) 4,67 (br. s, 2 H) 6,63 (d, <i>J</i> =9,23 Гц, 1 H) 6,76–6,92 (m, 2 H) 7,21 (d, <i>J</i> =2,52 Гц, 1 H) 7,28–7,41 (m, 2 H) 7,78 (s, 1 H)
31	¹ H ЯМР (360 МГц, ХЛОРОФОРМ- <i>d</i>) δ ppm 2,54–2,86 (m, 3 H) 3,02 (d, <i>J</i> =17,9 Гц, 1 H) 3,28 (d, <i>J</i> =17,9 Гц, 1 H) 3,78–3,92 (m, 2 H) 3,95 (s, 3 H) 4,10 (br s, 2 H) 6,77–6,85 (m, 1 H) 6,89 (td, <i>J</i> =8,2, 2,2 Гц, 1 H) 7,36–7,41 (m, 1 H) 7,51 (td, <i>J</i> =9,1, 6,6 Гц, 1 H) 7,65 (dt, <i>J</i> =7,7, 2,0 Гц, 1 H) 7,85 (br s, 1 H) 8,60 (dd, <i>J</i> =2,2, 0,7 Гц, 1 H) 8,63 (dd, <i>J</i> =4,8, 1,8 Гц, 1 H)
32	¹ H ЯМР (360 МГц, ХЛОРОФОРМ- <i>d</i>) δ ppm 2,11 (d, <i>J</i> =12,8 Гц, 3 H) 2,25–2,38 (m, 1 H) 2,44–2,54 (m, 1 H) 2,83 (q, <i>J</i> =9,5 Гц, 1 H) 3,04 (dd, <i>J</i> =17,9, 4,4 Гц, 1 H) 3,24–3,32 (m, 1 H) 3,74–3,84 (m, 1 H) 3,84–3,92 (m, 1 H) 3,96 (s, 3 H) 6,77–6,86 (m, 1 H) 6,89 (br t, <i>J</i> =8,2 Гц, 1 H) 7,08 (d, <i>J</i> =4,8 Гц, 1 H) 7,44–7,54 (m, 1 H) 7,73 (d, <i>J</i> =3,3 Гц, 1 H) 8,50 (d, <i>J</i> =4,9 Гц, 1 H) 8,56 (d, <i>J</i> =2,9 Гц, 1 H)

112	¹ H ЯМР (360 МГц, DMSO-d ₆) δ ppm 2,03 (d, J=30,4 Гц, 3 H)
	2,22 (d, J=27,4 Гц, 3 H) 2,29–2,44 (m, 1 H) 2,53–2,61 (m, 1 H) 2,72 (dd, J=11,9, 4,2 Гц, 1 H) 2,79–2,89 (m, 2 H)
112	2,90–3,00 (m, 1 H) 3,04 (br d, J=16,8 Гц, 1 H) 3,85 (s, 3 H) 6,25 (br d, J=4,8 Гц, 2 H) 7,07–7,15 (m, 1 H) 7,26
	(ddd, J=12,3, 9,3, 2,6 Гц, 1 H) 7,30–7,39 (m, 1 H) 7,77 (d, J=9,1 Гц, 1 H)

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИМЕРЫ

Предусмотренные в настоящем изобретении соединения являются ингибиторами фермента 1, расщепляющего APP по бета-сайту (BACE1). Полагают, что ингибирование BACE1, аспарагиновой протеазы, является существенным для лечения болезни Альцгеймера (AD). Полагают, что продуцирование и накопление бета-амилоидных пептидов (Abeta) из белка-предшественника бета-амилоида (APP) играет ключевую роль в возникновении и прогрессировании AD. Abeta образуется из белка-предшественника амилоида (APP) в результате последовательного расщепления на N- и C-концах домена Abeta соответственно бета-секретазой и гамма-секретазой.

Предполагается, что соединения формулы (I) действуют главным образом на BACE1 в силу своей способности ингибировать ферментативную активность. Поведение таких ингибиторов, тестируемых с помощью биохимического анализа на основе резонансного переноса энергии флуоресценции (FRET) и клеточного анализа αLisa на клетках SKNBE2, описанных ниже и подходящих для идентификации таких соединений и, в частности, соединений формулы (I), показано в таблице 8 и таблице 9.

Биохимический анализ на основе FRET для BACE1

Данный анализ представляет собой анализ на основе резонансного переноса энергии флуоресценции (FRET). Субстратом для данного анализа является полученный из APP пептид из 13 аминокислот, который содержит "шведскую" мутацию Lys-Met/Asn-Leu сайта расщепления белка-предшественника амилоида (APP) бета-секретазой. Данный субстрат также содержит два флуорофора: (7-метоксикумарин-4-ил)уксусную кислоту (Mca), которая является донором флуоресценции с длиной волны возбуждения 320 нм и излучением при 405 нм, и 2,4-динитрофенил (Dnp), который является фирменным акцептором-гасителем. Расстояние между этими двумя группами выбирали таким образом, чтобы при световом возбуждении энергия флуоресценции донора в значительной степени

гасилась акцептором посредством резонансного переноса энергии. При расщеплении с помощью BACE1 флуорофор Mca отделяется от гасящей группы Dnp, восстанавливая полный выход флуоресценции донора. Увеличение флуоресценции линейно зависит от скорости протеолиза.

Вкратце, рекомбинантный белок BACE1 в конечной концентрации 0,04 мкг/мл инкубировали в 384-луночном формате в течение 450 минут при комнатной температуре с 20 мкМ субстрата в буфере для инкубирования (50 мМ цитратного буфера с pH 5,0, 0,05% PEG) в присутствии соединения или DMSO. Далее величину протеолиза непосредственно измеряли путем измерения флуоресценции (возбуждение при 320 нм и излучение при 405 нм) в различные моменты времени инкубирования (0, 30, 60, 90, 120 и 450 мин.). Для каждого эксперимента кривую времени (каждые 30 мин. от 0 мин. до 120 мин.) применяли для определения времени обнаружения наиболее низкого фонового сигнала высокого контроля. Уровень сигнала в данный момент времени (Tx) применяли для вычитания из сигнала в момент времени 450 мин. Результаты выражали в RFU в виде разницы между T450 и Tx.

Кривую наилучшего приближения подбирали при помощи метода наименьших квадратов для графика зависимости % мин. контроля от концентрации соединения. На его основании можно получать значение IC₅₀ (ингибирующей концентрации, вызывающей 50% ингибирование активности).

LC=медиана значений низкого контроля

= Низкий контроль: реакция без фермента

HC=медиана значений высокого контроля

= Высокий контроль: реакция с ферментом

% эффекта = $100 - [(\text{образец} - LC) / (HC - LC) * 100]$

% контроля = $(\text{образец} / HC) * 100$

% мин. контроля = $(\text{образец} - LC) / (HC - LC) * 100$

Приведенные в качестве примера следующие соединения тестировали главным образом как описано выше, и они проявляли следующую активность.

Таблица 8

Соед. №	Биохимический анализ на основе FRET, pIC ₅₀
1	6,4

Соед. №	Биохимический анализ на основе FRET, pIC ₅₀
2	6,8

Соед. №	Биохимический анализ на основе FRET, pIC ₅₀
3	5,06
4	6,78
5	6,79
6	6,63
7	6,84
8	6,66
9	6,88
10	7,45
11	7,66
12	7,04
13	7,15
15	7,52
16	7,26
17	7,51
19	6,79
20	7,61
21	6,87
22	6,75
23	7,12
24	7,86
25	8,23
26	7,6
27	7,93
28	6,84
29	7,45
30	6,16
31	7,16
32	7,3
33	6,85
34	5,22
35	7,46

Соед. №	Биохимический анализ на основе FRET, pIC ₅₀
36	6,86
37	7,37
38	7,81
39	8,3
41	7,57
42	7,56
43	7,43
44	7,91
45	8,56
46	8,64
47	7,99
49	8,81
52	8,38
53	7,97
55	8,45
60	8,26
66	8,22
76	8,22
77	8,35
79	8,17
80	9,01
81	7,3
82	6,19
87	8,42
88	8,08
89	7,88
90	7,06
91	7,27
92	8,15
93	7,25
94	7,79

Соед. №	Биохимический анализ на основе FRET, pIC ₅₀
95	7,94
102	8,16
103	6,68
104	7,95
105	7,44
106	8,06
107	8,5
108	8,11
109	7,81
110	6,69
111	7,76
112	7,83
57	6,6
134	8,06
135	7,6
136	7,83
137	7,97
151a	7,44
171a	6,94

Соед. №	Биохимический анализ на основе FRET, pIC ₅₀
174a	7,86
180a	5,91
181a	7,14
182	5,32
183	5,35
184	<5
185	<5
186	<5
189	<5
193	5,26
194	<5
195	6,9
196	<5
197	7,02
198	5,97
199	7,79
200	7,75
201	5,19

Клеточный анализ α Lisa на клетках SKNBE2

В двух анализах α Lisa количественно определяли уровни общего Abeta и Abeta 1-42, продуцируемых и секретируемых в среду с клетками SKNBE2 нейробластомы человека. В анализе используются нейробластома человека из клеток SKNBE2, экспрессирующих белок-предшественник амилоида дикого типа (hAPP695). Соединения разбавляли и добавляли к этим клеткам, инкубировали в течение 18 часов, а затем осуществляли измерения количества Abeta 1-42 и общего Abeta. Общий Abeta и Abeta 1-42 измеряли с помощью сэндвич- α Lisa. α Lisa представляет собой сэндвич-анализ с использованием биотинилированного антитела AbN/25, присоединенного к покрытым стрептавидином гранулам, и антитела Ab4G8 или cAb42/26, конъюгированного с акцепторными гранулами, для выявления соответственно общего Abeta и Abeta 1-42. В

присутствии общего Abeta или Abeta 1-42 гранулы сближаются друг с другом. Возбуждение донорных гранул вызывает высвобождение молекул синглетного кислорода, что запускает каскад переноса энергии на акцепторные гранулы, приводящий в результате к излучению света. Излучение света измеряли после 1 часа инкубирования (возбуждение при 650 нм и излучение при 615 нм).

Кривую наилучшего приближения подбирали при помощи метода наименьших квадратов для графика зависимости % мин. контроля от концентрации соединения. На его основании можно получать значение IC_{50} (ингибирующей концентрации, вызывающей 50% ингибирование активности).

LC=медиана значений низкого контроля

= Низкий контроль: клетки, предварительно инкубированные без соединения, без биотинилированного Ab в α Lisa

HC=медиана значений высокого контроля

= высокий контроль: клетки, предварительно инкубированные без соединения

% эффекта = $100 - [(образец - LC) / (HC - LC) * 100]$

% контроля = $(образец / HC) * 100$

% мин. контроля = $(образец - LC) / (HC - LC) * 100$

Приведенные в качестве примера следующие соединения тестировали главным образом как описано выше, и они проявляли следующую активность.

Таблица 9

Соед. №	Клеточный анализ α Lisa на клетках SKNBE2 Abeta 42 pIC ₅₀	Клеточный анализ α Lisa на клетках SKNBE2 Общий Abeta pIC ₅₀
1	7,16	7,13
2	7,27	7,33
3	5,39	5,33
4	6,73	n.t.
5	7,58	7,49
6	6,7	n.t.
7	7,15	n.t.
8	6,87	n.t.
9	7,68	n.t.
10	8,07	n.t.

11	8,53	n.t.
12	7,65	n.t.
13	8,84	n.t.
15	7,76	n.t.
16	6,86	6,86
17	6,88	6,84
18		n.t.
19	6,38	n.t.
20	7,63	7,63
21	6,45	6,52
22	7,38	7,31
23	7,58	7,53
24	8,16	8,18
25	8,77	8,72
26	7,37	n.t.
27	8,41	n.t.
28	7,38	7,32
29	7,87	7,9
30	6,77	n.t.
31	8,05	n.t.
32	8,14	n.t.
33	7,79	n.t.
34	5,85	5,82
35	7,86	7,92
36	7,78	7,8
37	7,77	n.t.
38	8,45	n.t.
39	8,78	8,71
41	7,35	n.t.
42	6,81	n.t.
43	8	n.t.
44	8,6	n.t.
45	8,65	8,68
46	9,21	n.t.

47	8,25	n.t.
49	8,56	8,75
52	7,96	7,88
53	7,84	7,9
55	7,99	n.t.
60	7,25	n.t.
66	7,64	n.t.
76	8,39	n.t.
77	8,26	8,31
79	8,13	7,96
80	8,84	n.t.
81	7,22	n.t.
82	6,32	n.t.
87	9,19	9,2
88	8,74	n.t.
89	8,7	8,7
90	7,76	n.t.
91	7,83	n.t.
92	8,45	8,46
93	8,3	8,2
94	8,46	8,51
95	8,36	8,24
102	8,46	n.t.
103	7,86	n.t.
104	8,42	n.t.
105	8,19	n.t.
106	8,23	n.t.
107	9,04	n.t.
108	8,88	n.t.
109	8,25	n.t.
110	7,21	n.t.
111	8,01	n.t.
112	7,78	n.t.
57	7,44	7,37

134	7,6	n.t.
135	7,6	7,62
136	7,73	n.t.
137	7,74	7,82
151a	7,1	n.t.
171a	6,81	n.t.
174a	6,89	n.t.
180a	5,57	n.t.
181a	6,4	n.t.
182	5,89	5,88
183	5,51	5,46
184	5,27	n.t.
185	<5,05	n.t.
186	<5,05	n.t.
189	5,16	n.t.
193	6,01	5,9
194	<5,05	5,16
195	7,09	7,09
196	<5,05	<5,05
197	7,31	7,33
198	6,58	n.t.
199	8,36	n.t.
200	8,09	8,05
201	5,64	5,69

n.t. означает не тестировали

Биохимический анализ на основе FRET для BACE2

Данный анализ представляет собой анализ на основе резонансного переноса энергии флуоресценции (FRET). Субстрат для данного анализа содержит "шведскую" мутацию Lys-Met/Asn-Leu сайта расщепления белка-предшественника амилоида (APP) бета-секретазой. Данный субстрат также содержит два флуорофора: (7-метоксикумарин-4-ил)уксусную кислоту (Mca), которая является донором флуоресценции с длиной волны возбуждения 320 нм и излучением при 405 нм, и 2,4-динитрофенил (Dnp), который является фирменным акцептором-гасителем. Расстояние между этими двумя группами выбирали таким образом, чтобы при световом

возбуждении энергия флуоресценции донора в значительной степени гасилась акцептором посредством резонансного переноса энергии. При расщеплении бета-секретазой флуорофор Mca отделяется от гасящей группы Dnp, восстанавливая полный выход флуоресценции донора. Увеличение флуоресценции линейно зависит от скорости протеолиза.

Вкратце, рекомбинантный белок BACE2 в конечной концентрации 0,4 мкг/мл инкубировали в 384-луночном формате в течение 450 минут при комнатной температуре с 10 мкМ субстрата в буфере для инкубирования (50 мМ цитратного буфера, pH 5,0, 0,05% PEG, без DMSO) в отсутствие или в присутствии соединения. Далее величину протеолиза непосредственно измеряли путем измерения флуоресценции в моменты T=0 и T=450 (возбуждение при 320 нм и излучение при 405 нм). Результаты выражали в RFU (относительных единицах флуоресценции) в виде разницы между T450 и T0.

Кривую наилучшего приближения подбирали при помощи метода наименьших квадратов для графика зависимости % мин. контроля от концентрации соединения. На его основании можно получать значение IC₅₀ (ингибирующей концентрации, вызывающей 50% ингибирование активности).

LC=медиана значений низкого контроля

= Низкий контроль: реакция без фермента

HC=медиана значений высокого контроля

= Высокий контроль: реакция с ферментом

% эффекта = $100 - [(образец - LC) / (HC - LC) * 100]$

% контроля = $(образец / HC) * 100$

% мин. контроля = $(образец - LC) / (HC - LC) * 100$

Приведенные в качестве примера следующие соединения тестировали главным образом как описано выше, и они проявляли следующую активность.

Таблица 10

Соед. №	Биохимический анализ на основе FRET, pIC ₅₀
1	6,33
2	6,76
3	5,02
4	6,48

Соед. №	Биохимический анализ на основе FRET, pIC ₅₀
5	7,2
6	6,66
7	6,81
8	6,27

Соед. №	Биохимический анализ на основе FRET, pIC ₅₀
9	6,66
10	6,34
11	6,66
12	6,6
13	7,4
15	6,94
16	7,11
17	7,17
19	6,55
20	7,85
21	7,01
22	6,62
23	6,81
24	7,91
25	7,92
26	6,32
27	5,4
28	5,92
29	7,45
30	5,94
31	6,75
32	5,95
33	5,21
34	5,22
35	7,35
36	7,34
37	6,91
38	6,64
39	5,78
41	7,32
42	7,53

Соед. №	Биохимический анализ на основе FRET, pIC ₅₀
43	6,7
44	7,55
45	8,56
46	8,44
47	8,18
49	8,43
52	7,35
53	6,84
55	7,4
60	6,9
66	7,45
76	8,06
77	7,27
79	6,4
80	8,6
81	6,3
82	5,34
87	8,15
88	7,91
89	6,67
90	6,78
91	6,34
92	7,03
93	6,08
94	6,56
95	6,65
102	7,86
103	5,59
104	7,69
105	5,83
106	6,71

Соед. №	Биохимический анализ на основе FRET, pIC ₅₀
107	7,16
109	7,32
110	5,23
111	6,31
112	5,76
57	<5
134	7,91
135	7,55
136	7,83
137	7,72
151a	6,65
171a	5,2
174a	6,48
180a	5,69
181a	5,24
182	5,21
183	5,16
184	<5
185	<5
186	<5
189	<5
193	<5
194	<5
195	6,85
196	<5
197	7
198	6,3
199	8,15
200	6,36
201	<5

Биохимический анализ – автоматизированный

Общие способы

Если не указано иное, все биохимические реагенты приобретали у Sigma-Aldrich Chemical Company, Пул, Дорсет, Великобритания, а неводные растворители аналитической или более высокой степени чистоты приобретали у ThermoFisher Scientific, Лафборо, Великобритания. Воду MilliQ (очищенную с помощью градиентной системы Elix 5 & MilliQ; Merck Millipore) использовали в качестве основного водного растворителя для приготовления биологических буферов. Основной аналитический буфер получали путем добавления 50 мМ раствора лимонной кислоты (1.00244; Merck Biosciences) к перемешиваемому раствору 50 мМ цитрата тринатрия (1.06448; Merck Biosciences) до достижения конечного рН 5,0. К этому добавляли 40% раствор полиэтиленгликоля ("PEG") (P1458; Sigma Aldrich) до конечной концентрации 0,05%; таким образом, основной буфер содержал 50 мМ цитрата натрия, рН 5,0, содержащего 0,05% PEG. Все анализы проводили согласно обычной практике в 384-луночных аналитических планшетах (Costar 4514; Corning Life Sciences) с инкубированием при $37 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение 60 мин. перед считыванием интенсивности флуоресценции в конечной точке. Субстрат VI, представляющий собой субстрат для β -секретазы на основе (7-метоксикумарин-4-ил)уксусной кислоты (M2465; Bachem), получали в виде 1 мМ исходного раствора в 100% DMSO (D/4121/PB08; ThermoFisher). Аналитический буфер получали путем добавления DMSO к основному буферу до конечной концентрации 1% (об./об.). β -секретазу I (18,64 мкМ; "BACE1") и β -секретазу II (4,65 мкМ; "BACE2") получали от Janssen Pharmaceutica, Берсе, Бельгия, хранили в виде замороженных аликвот (~20 мкл) и размораживали при необходимости.

Анализ, выполненный вручную

Как правило, в ряды В-Р аналитического планшета вносили по 12,5 мкл аналитического буфера. В ряд А добавляли 18,75 мкл тестируемого соединения, разбавленного соответствующим образом в аналитическом буфере. Аликвоту образца объемом 6,25 мкл переносили из ряда А в ряд В и образец перемешивали три раза с помощью пипетки. Процесс повторяли, перенося образец вниз по планшету, и после перемешивания из ряда N сливали 6,25 мкл раствора. Ряды О и Р обозначали как положительный и отрицательный контроли. В ряд Р добавляли 6,25 мкл основного

буфера. В ряды А-О добавляли 6,25 мкл фермента (свежеполученного 40 нМ BACE1 или 40 нМ BACE2), разбавленного в основном буфере. Для начала анализа во все лунки добавляли по 6,25 мкл свежеполученного 80 мкМ субстрата, приготовленного путем разбавления 1 мМ в 100% растворе DMSO в воде, чистой для HPLC (Optima W6-212; ThermoFisher). Аналитический планшет закрывали и инкубировали при $37 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение 60 мин. Интенсивность флуоресценции в лунках считывали при 360/405 нм (возбуждение/излучение) с использованием протокола с девятью считываниями на лунку (время интеграции 50 мс; плотность 3, расстояние 0,25 мм; планшет-ридер SpectraMAX Paradigm; картридж TUNE; программное обеспечение SoftMax Pro v 6.3; Molecular Devices UK Ltd., Уокингем, Беркшир, Великобритания) и выводом медианного значения для девяти считываний в виде текстового файла. Анализ данных проводили с помощью программного обеспечения Prism v 6.3 (GraphPad Inc., Сан-Диего, Калифорния, США) с применением моделей нелинейного регрессионного анализа, предоставленных поставщиком. Для определения IC_{50} использовали четырехпараметрическую логистическую модель с переменным угловым коэффициентом для аппроксимации необработанных данных об интенсивности флуоресценции, при этом "нижний сигнал" фиксировали в качестве отрицательного контроля.

Аппаратное обеспечение автоматизированного биологического анализа

Модуль CysclOps для биологического анализа состоял из станции сбора фракций, станции дозирования реагентов, роботизированного устройства для манипуляций с жидкостями, хранилища планшетов и встроенного планшет-ридера (SpectraMAX Paradigm, картридж TUNE, SoftMax Pro v 6.3; Molecular Devices). Станция сбора фракций состояла из 384-луночного планшета для сбора материала (P-384-240SQ-C; Axugen, Юнион-Сити, Калифорния, США), установленного на H-образной портальной раме (Festo AG & Co. KG, Эслинген, Германия), шприцевой помпы и двухходового шестипортового клапана впрыска, снабженного петлей объемом 200 мкл (VICI AG International, Шенкон, Швейцария). Выход клапана впрыска был доступен для всех положений 384-луночного планшета для сбора материала. Станция дозирования реагентов состояла из гидравлически охлаждаемых ($10-12^\circ\text{C}$) алюминиевых сегментов; каждый из них был изготовлен с возможностью размещения в нем титрационного микропланшета стандартного формата SBS. В этих

отсеках размещались станции дозирования реагентов с независимым доступом. При необходимости использовали специально изготовленные алюминиевые корпуса для расположения стандартных лабораторных пластмассовых изделий (*например, пробирок Eppendorf, пробирок Falcon и т. д.*). В случае необходимости резервуары с реагентами закрывали, а крышки содержали отверстия, через которые зонд с тефлоновым покрытием мог достигать растворов. Реагенты, присутствующие в системе для манипуляций с жидкостями, представляли собой:

Раствор для промывки зондов (~150 мл; смесь вода:пропан-2-ол (P/7508/17; ThermoFisher):метанол (M/4058/17; ThermoFisher) 33,3:33,3:33,3, содержащаяся в закрытом резервуаре для реагентов (390007; Porvair Sciences Ltd., Лезерхед, Великобритания)

Аналитический буферный раствор

Вода, чистая для HPLC

40 нМ BACE1, разбавленного в основном буфере, содержащемся в пробирке Eppendorf объемом 5 мл (0030 119.401; Eppendorf)

400 нМ BACE2, разбавленного в 25 мМ триса (648311; Merck Biosciences, Ноттингем, Великобритания), pH 7,5, содержащего 100 мМ хлорида натрия и 20% глицерин (16374; USB Corp., Кливленд, Огайо, США), содержащегося в пробирке Eppendorf объемом 1,5 мл (0030 000.919; Eppendorf)

1 мМ субстрата в 100% DMSO, содержащемся в пробирке Eppendorf объемом 1,5 мл (выдерживаемой при температуре окружающей среды)

Две пустые пробирки Eppendorf объемом 1,5 мл

Система для манипуляций с жидкостями состояла из системы LISSY (Zinsser Analytik GmbH, Франкфурт, Германия), оснащенной захватной рукой и одним зондом из нержавеющей стали с тефлоновым покрытием. Между каждыми двумя последовательными стадиями манипуляции с жидкостями зонд из нержавеющей стали с тефлоновым покрытием промывали раствором для промывки зондов, а затем жидкостью системы (водой). Управление системой для биологического анализа осуществляли с помощью программного обеспечения WinLISSY (Zinsser Analytik) и SoftMax Pro (которое находилось под автоматизированным командным управлением WinLISSY). В хранилище планшетов был размещен вертикальный ряд аналитических планшетов (Costar 4514). Входные и выходные реле обеспечивали контроль замыкания контактов и обратную связь между модулем для биологического анализа и управляющим программным

обеспечением CyslOps. Хранилище планшетов представляло собой алюминиевую стойку, на которой располагался вертикальный ряд аналитических планшетов, которые могли быть доступны для системы для манипуляций с жидкостями.

Способ автоматизированного биологического анализа

Материал, выходящий из модуля разбавления, пропускали через клапан впрыска станции сбора, установленный в положение "загрузки". Протокол биологического анализа начинался с установки WinLISSY в режим опроса входного сигнала замыкания контактов под контролем управляющего программного обеспечения CyslOps. Первое действие переводило клапан впрыска в положение "впрыска" с отделением содержимого петли, и система сбора фракций вносила содержимое петли в доступную лунку в планшете для сбора материала. Одновременно с этим система для манипуляций с жидкостями доставляла аналитический планшет к станции анализа на установке для манипуляции с жидкостями. В колонки аналитического планшета система для манипуляций с жидкостями вносила по 12,5 мкл аналитического буфера в две колонки вниз по аналитическому планшету от ряда В до ряда Р. В ряд А добавляли 18,75 мкл тестируемого соединения из соответствующей лунки планшета для сбора материала. Аликвоту образца объемом 6,25 мкл переносили из ряда А в ряд В. Процесс повторяли, перенося образец вниз по планшету в обеих колонках, и из ряда N сливали 6,25 мкл реагента. Ряды О и Р обозначали как положительный и отрицательный контроли. В ряд Р добавляли 6,25 мкл аналитического буфера. В ряды А-О первой колонки добавляли по 6,25 мкл 40 нМ BACE1, хранящегося в основном буфере. Что касается добавления фермента BACE2, 17,5 мкл 400 нМ BACE2 разбавляли с помощью 157,5 мкл основного буфера. Эти вещества смешивали путем пятикратного пипетирования 175 мкл раствора в предназначенной для этого приемной пробирке Eppendorf, и затем 6,25 мкл разбавленного BACE2 добавляли в соответствующую колонку. Что касается субстрата MCA, 30,8 мкл 1 мМ субстрата MCA в 100% DMSO разбавляли с помощью 385 мкл воды для HPLC. Эти вещества смешивали путем пятикратного пипетирования 400 мкл в предназначенной для этого приемной пробирке Eppendorf, и по 6,25 мкл добавляли в соответствующие колонки. Аналитический планшет затем переносили на раму планшет-ридера, выдвижной ящик закрывали, и начинали аналитическое инкубирование. Через 60 мин. WinLISSY исполнял подпрограмму, которая давала команду планшет-

ридеру загрузить и исполнить файл протокола, с помощью которого считывалась интенсивность флуоресценции. В данном файле протокола содержались параметры, необходимые для прочитывания титрационного микропланшета и записи соответствующих данных в виде текстового файла. Интенсивность флуоресценции считывали при 360/405 нм (возбуждение/излучение) с использованием протокола с девятью считываниями на лунку (время интеграции 50 мс; плотность 3, расстояние 0,25 мм) и выводили медианное значение для девяти считываний в виде текстового файла.

Анализ данных биологического анализа с помощью CysOps

Программное обеспечение CysOps было установлено на опрос совместно используемой папки с файлами данных биологического анализа. При сохранении данных WinLISSY отправлял выходной сигнал замыкания контактов, уведомляющий программное обеспечение CysOps о завершении биологического анализа. Программное обеспечение CysOps открывало, обрабатывало и анализировало данные. Обработка данных заключалась в добавлении информации о соответствующей концентрации тестируемого препарата к соответствующим рядам (при этом данные были получены из модуля разбавления). После этого данные анализировали (MATLAB; MathWorks, Кембридж, Великобритания) с помощью нелинейного регрессионного анализа с использованием четырехпараметрической логистической модели для определения IC_{50} . Фиксировали разницу между исходным уровнем (т. е. в ряду Р) и максимальным наблюдаемым показателем положительного контроля (т. е. в ряду О). Для поддержания качества данных устанавливали правила для управления автоматизированным анализом данных биологического анализа. В первом случае данные исключали, если наблюдалась не менее чем семидесятипятипроцентная активность или не более чем двадцатипятипроцентная активность. Это обеспечивало наличие достаточного количества подобранных данных для проведения надлежащего анализа. После этого качество аппроксимации оценивали с помощью значения R-квадрата. Если данное значение падало ниже 0,85, то данные исключали. Во всех случаях исключение приводило к появлению идентификатора неудачи биологического анализа, сообщаемого системе. Анализ выпадающих значений проводили, как описано ранее (Motulsky, H.J. and Brown, R.E., (2006), *BMC Bioinformatics*, 7, 123), при значении Q-критерия 10%. В автоматизированном анализе IC_{50} можно было исключить максимум три выпадающих значения до генерирования

метки ошибки аппроксимации. Перекрестную проверку данных биологического анализа осуществляли посредством их анализа с помощью программного обеспечения Prism v 6.3 (GraphPad Inc.) с использованием четырехпараметрической логистической модели нелинейного регрессионного анализа с переменным угловым коэффициентом для аппроксимации необработанных данных об интенсивности флуоресценции, при этом "нижний сигнал" фиксировали в качестве отрицательного контроля.

Таблица 11

Соед. №	Автоматизированный анализ pIC ₅₀ BACE1	Автоматизированный анализ pIC ₅₀ BACE2
47	8,01	8,23
48	7,76	7,63
49	8,6	9,02
50	8,28	7,96
51	7,34	6,83
54	8,54	8,42
55	7,77	7,3
56	8,11	7,63
57	5,87	5,74
58	7,77	6,99
59	7,68	7,15
60	7,65	6,73
62	8,77	8,08
64	6,15	5,2
65	7,84	7,29
66	7,5	6,68
67	7,64	7,15
70	6,88	5,76
71	6,41	5,66
72	7,99	7,11
73	6,55	5,47
74	7,52	6,72
78	7,85	6,75
81	7,24	6,24
83	6,59	6,06

84	8, 28	8, 51
86	8, 44	8, 33
96	7, 2	6, 41
97	7, 96	7, 6
98	7, 66	7, 38
99	7, 27	6, 99
100	7, 68	7, 31
106	8, 33	7, 12
112	7, 795	6, 18
113	8, 41	8, 92
114	8, 52	8, 64
115	7, 92	7, 57
116	7, 6	6, 28
117	7, 68	6, 34
119	6, 77	6, 17
122	7, 62	7, 3
123	7, 59	6, 81
124	7, 4	6, 64
125	7, 13	6, 59
126	8, 05	7, 18
127	6, 77	5, 6
128	7, 01	6, 19
130	7, 4	7, 03
131	6, 84	5, 57
132	7, 82	7, 16
133	8, 6	7, 67
138	7, 21	7, 49
139	5, 55	4, 97
140	5, 52	5, 52
141	6, 24	6, 24
142	8, 4	7, 28
143	6, 43	4, 78
144	7, 42	6, 43
145	6, 89	5, 52

146	6, 74	6, 63
147	7, 7	6, 64
148	6	5, 19
149	5, 09	5, 17
150	6, 12	5, 3
151	7, 77	6, 02
152	7, 52	5, 65
153	6, 73	6, 64
154	7, 51	7, 88
155	7, 77	6, 12
156	6, 32	6, 36
157	7, 1	6, 13
158	6, 6	5, 49
159	7, 37	6, 29
160	5, 39	4, 82
161	9	8, 4
162	6, 85	5, 96
163	7, 29	7, 2
164	8, 3	8, 22
165	7, 62	6, 61
166	7, 54	6, 79
167	7, 21	7, 6
168	7, 6	7, 54
169	7, 33	7, 16
170	6, 88	5, 6
171	7, 07	6, 21
172	6, 53	5, 34
173	7, 77	7, 03
174	8, 26	6, 29
175	9	6, 56
177	8, 05	6, 84
178	8, 22	7, 49
179	6, 47	4, 86
180	7, 72	6, 19

181	7,215	4,893
-----	-------	-------

ДЕМОНСТРАЦИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ IN VIVO

Средства, снижающие уровень А β , по настоящему изобретению могут применяться для лечения AD у млекопитающих, как, например, у людей, или, в качестве альтернативы, могут демонстрировать эффективность в животных моделях, таких как, без ограничения, мышь, крыса или морская свинка. У млекопитающего может не быть диагностирована AD, или оно может не иметь генетической предрасположенности к AD, но может быть трансгенным таким образом, что у него происходит избыточное продуцирование и в конечном счете отложение А β подобно тому, как это наблюдается у людей, пораженных AD.

Средства, снижающие уровень А β , можно вводить в любой стандартной форме с помощью любого стандартного способа. Например, без ограничения, средства, снижающие уровень А β , могут быть представлены в форме жидкости, таблеток или капсул, которые можно принимать перорально или путем инъекции. Средства, снижающие уровень А β , можно вводить в любой дозе, достаточной для значительного снижения уровней А β в крови, плазме крови, сыворотке крови, цереброспинальной жидкости (CSF) или головном мозге.

Для определения того, будет ли однократное введение средства, снижающего уровень А β , обеспечивать снижение уровней А β in vivo, использовали нетрансгенных грызунов, например, мышей или крыс. Животных, которые подвергались обработке средством, снижающим уровень А β , обследовали и сравнивали с теми, которые не подвергались обработке или подвергались обработке средой, и уровни растворимого А β ₄₂, А β ₄₀, А β ₃₈ и А β ₃₇ в головном мозге количественно определяли с помощью технологии электрохемилюминесцентной детекции Meso Scale Discovery (MSD). Периоды обработки варьировали от нескольких часов (ч.) до нескольких дней, и их корректировали, исходя из результатов исследования снижения уровня А β , после того, как можно было установить динамику наступления эффекта.

Представлен типичный протокол для измерения снижения уровня А β in vivo, но он представляет собой только один из многих вариантов, которые можно применять для оптимизации уровней выявляемого А β . Например, соединения, снижающие уровень А β , были составлены в 20% Captisol® (сульфобутиловом

эфире β -циклодекстрина) в воде или 20% гидроксипропил- β -

циклодекстрине. Средства, снижающие уровень А β , вводили в виде однократной пероральной дозы или любым приемлемым путем введения животным, которых подвергали голоданию в течение ночи. Через 4 часа животных умерщвляли и анализировали уровни А β .

Кровь собирали посредством декапитации и кровопускания в пробирки для сбора образцов, обработанные EDTA. Кровь центрифугировали при 1900 g в течение 10 минут (мин.) при 4°C, и плазму крови отделяли и подвергали мгновенной заморозке для дальнейшего анализа. Головной мозг отделяли от черепа и заднего мозга. Отделяли мозжечок и разделяли левое и правое полушария. Левое полушарие хранили при -18°C для количественного анализа уровней тестируемых соединений. Правое полушарие промывали буфером на основе фосфатно-солевого буферного раствора (PBS), и моментально замораживали на сухом льду, и хранили при -80°C до гомогенизации для биохимических анализов.

Образцы мышинного головного мозга от нетрансгенных животных повторно суспендировали в 8 объемах 0,4% DEA (диэтиламина)/50 mM NaCl, содержащих ингибиторы протеазы (Roche-11873580001 или 04693159001), на грамм ткани, например, к 0,158 г головного мозга добавляли 1,264 мл 0,4% DEA. Все образцы гомогенизировали в системе FastPrep-24 (MP Biomedicals) с использованием лизирующей матрицы D (MPBio №6913-100) при 6 м/с в течение 20 секунд. Гомогенаты центрифугировали при 20800 x g в течение 5 минут и собирали образцы надосадочной жидкости. Образцы надосадочной жидкости центрифугировали при 221300 x g в течение 50 минут. Полученные в результате высокоскоростного центрифугирования образцы надосадочной жидкости затем переносили в свежие пробирки Eppendorf. Девять частей надосадочной жидкости нейтрализовали 1 частью 0,5 M Tris-HCl, pH 6,8, и использовали для определения количества А β . Для определения количества А β 42, А β 40, А β 38 и А β 37 в растворимой фракции гомогенатов головного мозга выполняли одновременное специфичное выявление А β 42, А β 40, А β 38 и А β 37 с использованием технологии мультиплексной электрохемилюминесцентной детекции MSD. В данном анализе очищенными моноклональными антителами, специфичными к Abeta37 (JRD/A β 37/3), Abeta38 (J&JPRD/A β 38/5), Abeta40 (JRF/cA β 40/28) и Abeta42 (JRF/cA β 42/26) покрывали квадруплексные планшеты MSD. Вкратце, готовили стандарты (разведение синтетических А β 42, А β 40, А β 38 и А β 37) в пробирках Eppendorf объемом 1,5 мл в Ultraculture с конечными концентрациями в диапазоне от 10000 до

0,3 пг/мл. Образцы и стандарты совместно инкубировали с меченым SULFO-TAG антителом JRF/rA β /2 к N-концу A β в качестве детекторного антитела. Затем в покрытый антителами планшет добавляли 50 мкл смесей конъюгат/образец или конъюгат/стандарты. Обеспечивали инкубирование планшета в течение ночи при 4°C для обеспечения возможности образования комплекса антитело-амилоид. После этого инкубирования и последующих стадий промывки анализ заканчивали путем добавления буфера для считывания согласно инструкциям изготовителя (Meso Scale Discovery, Гейтерсберг, Мэриленд).

SULFO-TAG излучает свет в результате электрохимической стимуляции, инициируемой на электроде. Для считывания сигнала использовали устройство MSD Sector SI6000.

В данной модели было бы преимущественным снижение уровня A β по сравнению с необработанными животными, в частности, снижение уровня A β на по меньшей мере 10%, более конкретно снижение уровня A β на по меньшей мере 20%.

Результаты

Результаты показаны в таблице 12 (значение для необработанных животных в качестве контроля (контр.) устанавливали равным 100).

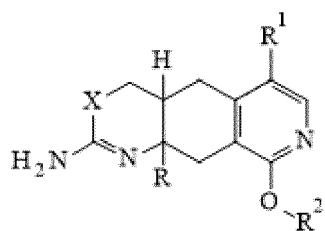
Таблица 12

Соед. №	A β 40 (% от контроля), среднее значение	A β 42 (% от контроля), среднее значение	Доза (мг/кг)	Путь введения	Время после введения
22	39	32	10	s.c.	4 h

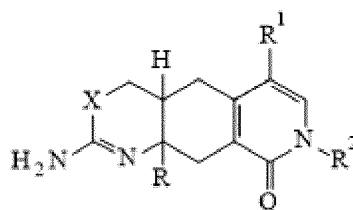
s.c. означает подкожный; p.o. означает пероральный

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы (I) или (II),



(I) или



(II),

или его таутомер или стереоизомерная форма, где

X представляет собой S или O;

R представляет собой фенил, необязательно замещенный 1, 2 или 3 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена; гидроксила; C₁₋₃алкила; циано; нитро; Het; Ar; (C₁₋₃алкилокси) C₁₋₃алкил-NH-C₁₋₃алкил-; C₁₋₆алкилокси, необязательно замещенного циано или C₁₋₃алкилокси; C₂₋₆алкинилокси; тетрагидро-2Н-пиранилокси; Ar-окси-; Het-окси-;

Ar-CH(OH)-; -NR^aR^b; двухвалентного заместителя в виде -NH-CH₂CH₂-O-, необязательно замещенного 1 или 2 заместителями, каждый из которых независимо выбран из галогена и оксо;

C₁₋₄алкил(C=O)-; Ar(C=O)- и R³-C₁₋₆алкилокси-; где

Het выбран из пиридинила и пиримидинила, каждый из которых может быть необязательно замещен галогеном, циано, C₁₋₃алкилом, C₁₋₃алкилокси, -CF₃ и -OCF₃;

Ar представляет собой фенил, необязательно замещенный галогеном, циано, C₁₋₃алкилом, C₁₋₃алкилокси, -CF₃,

-OCF₃;

R^a выбран из H или C₁₋₃алкила; и

R^b выбран из C₁₋₃алкила, (C₁₋₃алкилокси) C₁₋₃алкил(C=O)- или Het¹(C=O)-;

R³ выбран из группы, состоящей из C₃₋₆циклоалкила; Het¹; Ar¹; тетрагидро-2Н-пиранила; C₃₋₆циклоалкилокси; тетрагидро-2Н-пиранилокси; Het¹-окси- и Ar¹-окси-; где

Ar¹ представляет собой фенил, необязательно замещенный галогеном, циано, C₁₋₃алкилом, C₁₋₃алкилокси, циано-

C₁₋₃алкилокси -CF₃ или -OCF₃;

Het¹ выбран из группы, состоящей из пиридила, пиримидинила, пиазинила, пиридазинила, тиенила, пиазолила, изоксазолила, 1Н-имидазолила, тиазолила, оксазолила,

1Н-индолила и 1Н-индазолила, каждый из которых необязательно замещен 1 или 2 заместителями, каждый из которых независимо выбран

из группы, состоящей из галогена, циано,

C_{1-3} алкила, C_{1-3} алкилокси, $-CF_3$ и $-OCF_3$;

R^1 выбран из группы, состоящей из водорода; галогена; циано; C_{1-3} алкила, необязательно замещенного гидроксильной группой или C_{1-3} алкилокси; C_{3-6} циклоалкила; C_{3-6} циклоалкиленила; $(C_{3-6}$ циклоалкил) C_{1-3} алкила; C_{1-3} алкилокси; $-NR^xR^y$; C_{1-3} алкилокси- $(C=O)-$; C_{1-3} алкилокси-

C_{2-3} алкиленила; (галоген-фенил)- C_{2-3} алкиленил-; гетероциклила; гомоарила; гетероарила;

C_{3-6} циклоалкилокси; гомоарилокси; гетероарилокси; гомоарил- CH_2 -окси и гетероарил- CH_2 -окси; где

R^x представляет собой водород или C_{1-3} алкил;

R^y представляет собой C_{1-3} алкил или фенил, необязательно замещенный 1, 2 или 3 заместителями, каждый из которых независимо выбран из галогена, C_{1-3} алкила и C_{1-3} алкилокси;

гетероциклил выбран из группы, состоящей из пиперидинила, морфолинила,

3,4-дигидро-2Н-пиранила и тетрагидро-2Н-пиранила, каждый из которых необязательно замещен 1, 2 или 3 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из C_{1-3} алкила, C_{3-6} циклоалкила и оксо;

гомоарил представляет собой фенил, необязательно замещенный 1, 2 или 3 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена, гидроксильной группы, циано, C_{1-3} алкила, моногалоген-

C_{1-3} алкила, поли-галоген- C_{1-3} алкила, циано- C_{1-3} алкила, C_{1-3} алкилокси, моногалоген- C_{1-3} алкилокси, поли-галоген- C_{1-3} алкилокси, C_{1-3} алкилокси- $(C=O)-$, фенилокси-, $NR^{1a}R^{1b}$, $-(C=O)NR^{1a}R^{1b}$, 1Н-пиразолила, необязательно замещенного 1 или 2 заместителями в виде метила; или представляет собой нафталенил, необязательно замещенный C_{1-3} алкилом или C_{1-3} алкилокси; где R^{1a} представляет собой водород или

C_{1-3} алкил, и R^{1b} представляет собой C_{1-3} алкил, или $NR^{1a}R^{1b}$ образуют вместе 1-пирролидинил, 1-пиперидинил, 4-пиперазинил или 4-морфолинил;

гетероарил выбран из группы, состоящей из пиридила, 2-оксо-1,2-дигидропиридинила, 6-оксо-1,6-дигидропиридинила, пиримидинила, пиразинила, пиридазинила, пиразолила, изоксазолила, оксазолила, тиофенила, индолила, индазолила, 1-бензотиенила, 1-бензофуранила, изохинолинила, 5,6,7,8-тетрагидрохинолинила, 3,4-дигидро-2Н-хроменила и 3,4-дигидро-2Н-пиридо[3,2-

b) [1,4]оксазинила, каждый из которых необязательно замещен 1, 2 или 3 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена, циано,

C_{1-3} алкила, моно-галоген- C_{1-3} алкила, поли-галоген- C_{1-3} алкила, C_{1-3} алкилокси, C_{3-6} циклоалкила, тетрагидро-2Н-пиранила, фенила, необязательно замещенного C_{1-3} алкилом, и $-NR^{1c}R^{1d}$; где

R^{1c} представляет собой водород или C_{1-3} алкил, R^{1d} представляет собой C_{1-3} алкил, или $NR^{1c}R^{1d}$ образуют вместе 1-пирролидинил, 1-пиперидинил, 4-пиперазинил, 4-морфолинил или 1Н-имидазолил, каждый из которых необязательно замещен C_{1-3} алкилом; и

R^2 представляет собой водород или C_{1-3} алкил;

или его фармацевтически приемлемая соль присоединения или сольват.

2. Соединение по п. 1, где

X представляет собой S или O;

R представляет собой фенил, необязательно замещенный 1, 2 или 3 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена; гидроксила; C_{1-3} алкила; циано; нитро; Het; Ar; (C_{1-3} алкилокси) C_{1-3} алкил-NH- C_{1-3} алкил-; C_{1-6} алкилокси, необязательно замещенного циано или C_{1-3} алкилокси; C_{2-6} алкинилокси; тетрагидро-2Н-пиранилокси; Ar-окси-; Het-окси-;

$-NR^aR^b$; двухвалентного заместителя в виде $-NH-CH_2CH_2-O-$, необязательно замещенного 1 или 2 заместителями, каждый из которых независимо выбран из галогена и оксо; и R^3-C_{1-6} алкилокси-; где

Het выбран из пиридинила и пиримидинила, каждый из которых может быть необязательно замещен циано;

Ar представляет собой фенил;

R^a выбран из H или C_{1-3} алкила; и

R^b выбран из C_{1-3} алкила и (C_{1-3} алкилокси) C_{1-3} алкил (C=O) -;

R^3 выбран из группы, состоящей из C_{3-6} циклоалкила; Het¹; Ar¹; тетрагидро-2Н-пиранила; C_{3-6} циклоалкилокси; тетрагидро-2Н-пиранилокси; Het¹-окси- и Ar¹-окси-; где

Ar¹ представляет собой фенил, необязательно замещенный галогеном, циано, C_{1-3} алкилом и C_{1-3} алкилокси;

Het¹ выбран из группы, состоящей из пиридила, пиримидинила, пиазинила, пиридазинила, тиенила, пиазолила, изоксазолила, 1Н-имидазолила, тиазолила, оксазолила, 1Н-индолила и 1Н-индазолила, каждый из которых необязательно замещен 1 или 2 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена, циано и C_{1-3} алкила;

R^1 выбран из группы, состоящей из водорода; галогена; циано; C_{1-3} алкила, необязательно замещенного гидроксильной группой или C_{1-3} алкилокси; C_{3-6} циклоалкила; C_{1-3} алкилокси; C_{1-3} алкилокси- $(C=O)-$; C_{1-3} алкилокси- C_{2-3} алкенила; (галоген-фенил)- C_{2-3} алкенил-; гетероциклила; гомоарила; гетероарила; гомоарил- CH_2 -окси и гетероарил- CH_2 -окси; где

гетероциклил представляет собой 3,4-дигидро-2H-пиранил;

гомоарил представляет собой фенил, необязательно замещенный 1, 2 или 3 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена, гидроксильной группы, циано, C_{1-3} алкила, моногалоген-

C_{1-3} алкила, полигалоген- C_{1-3} алкила, циано- C_{1-3} алкила, C_{1-3} алкилокси, моногалоген- C_{1-3} алкилокси, полигалоген- C_{1-3} алкилокси, C_{1-3} алкилокси- $(C=O)-$, фенилокси-, $NR^{1a}R^{1b}$ и

$-(C=O)NR^{1a}R^{1b}$; или представляет собой нафталенил, необязательно замещенный C_{1-3} алкилом или

C_{1-3} алкилокси; где R^{1a} представляет собой водород или C_{1-3} алкил, и R^{1b} представляет собой C_{1-3} алкил, или $NR^{1a}R^{1b}$ образуют вместе 4-морфолинил;

гетероарил выбран из группы, состоящей из пиридила, 2-оксо-1,2-дигидропиридинила, 6-оксо-1,6-дигидропиридинила, пиримидинила, пиразинила, пиридазинила, пирозолила, изоксазолила, оксазолила, тиофенила, индолила, индазолила, 1-бензотиенила, 1-бензофуранила, изохинолинила, 5,6,7,8-тетрагидрохинолинила, 3,4-дигидро-2H-хроменила и 3,4-дигидро-2H-пиридо[3,2-b][1,4]оксазинила, каждый из которых необязательно замещен 1, 2 или 3 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена, циано,

C_{1-3} алкила, моногалоген- C_{1-3} алкила, полигалоген- C_{1-3} алкила, C_{1-3} алкилокси, тетрагидро-2H-пиранила, фенила, необязательно замещенного C_{1-3} алкилом, и $-NR^{1c}R^{1d}$; где

R^{1c} представляет собой водород или C_{1-3} алкил, R^{1d} представляет собой C_{1-3} алкил, или $NR^{1c}R^{1d}$ образуют вместе 1-пирролидинил, 1-пиперидинил, 4-пиперазинил, 4-морфолинил или 1H-имидазолил, каждый из которых необязательно замещен C_{1-3} алкилом; и

R^2 представляет собой водород или C_{1-3} алкил.

3. Соединение по п. 1 или п. 2, где

X представляет собой S или O;

R представляет собой фенил, необязательно замещенный 1, 2 или 3 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы,

состоящей из галогена; гидроксила; нитро; Het; C₁₋₆алкилокси, необязательно замещенного циано или C₁₋₃алкилокси; C₂₋₆алкинилокси; тетрагидро-2Н-пиранилокси; Het-окси-; -NR^aR^b; двухвалентного заместителя в виде -NH-CH₂CH₂-O-, необязательно замещенного 1 или 2 заместителями, каждый из которых независимо выбран из галогена и оксо; и R³-C₁₋₆алкилокси-; где

Het выбран из пиридинила и пиримидинила, каждый из которых может быть необязательно замещен циано;

Ar представляет собой фенил;

R^a представляет собой H; и

R^b представляет собой (C₁₋₃алкилокси)C₁₋₃алкил(C=O)-;

R³ выбран из группы, состоящей из C₃₋₆циклоалкила; Het¹; Ar¹; тетрагидро-2Н-пиранила; C₃₋₆циклоалкилокси; тетрагидро-2Н-пиранилокси; Het¹-окси- и Ar¹-окси-; где

Ar¹ представляет собой фенил, необязательно замещенный галогеном, циано, C₁₋₃алкилом и C₁₋₃алкилокси;

Het¹ выбран из группы, состоящей из пиридила, пиримидинила, изоксазолила, 1Н-имидазолила, тиазолила и 1Н-индазолила; каждый из которых необязательно замещен 1 или 2 заместителями, каждый из которых независимо выбран из C₁₋₃алкила;

R¹ выбран из группы, состоящей из водорода; галогена; циано; C₁₋₃алкила, необязательно замещенного гидроксилом или C₁₋₃алкилокси; C₃₋₆циклоалкила; C₁₋₃алкилокси; C₁₋₃алкилокси-(C=O)-; C₁₋₃алкилокси-C₂₋₃алкенила; (галоген-фенил)-C₂₋₃алкенил-; гетероциклила; гомоарила; гетероарила; гомоарил-CH₂-окси и гетероарил-CH₂-окси; где

гетероциклил представляет собой 3,4-дигидро-2Н-пиранил;

гомоарил представляет собой фенил, необязательно замещенный 1, 2 или 3 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена, гидроксила, циано, C₁₋₃алкила, моно-галоген-

C₁₋₃алкила, поли-галоген-C₁₋₃алкила, циано-C₁₋₃алкила, C₁₋₃алкилокси, моно-галоген-C₁₋₃алкилокси, поли-галоген-C₁₋₃алкилокси, C₁₋₃алкилокси-(C=O)-, фенилокси-, NR^{1a}R^{1b} и -(C=O)NR^{1a}R^{1b}; или представляет собой нафталенил, необязательно замещенный C₁₋₃алкилом или C₁₋₃алкилокси; где R^{1a} представляет собой водород или C₁₋₃алкил, и R^{1b} представляет собой C₁₋₃алкил, или NR^{1a}R^{1b} образуют вместе 4-морфолинил;

гетероарил выбран из группы, состоящей из пиридила, 2-оксо-1,2-дигидропиримидинила, 6-оксо-1,6-дигидропиримидинила,

пиримидинила, пиразинила, пиридазинила, пиразолила, изоксазолила, оксазолила, тиофенила, индолила, индазолила, 1-бензотиенила, 1-бензофуранила, изохинолинила, 5,6,7,8-тетрагидрохинолинила, 3,4-дигидро-2Н-хроменила и 3,4-дигидро-2Н-пиридо[3,2-b][1,4]оксазинила, каждый из которых необязательно замещен 1, 2 или 3 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена, циано,

C_{1-3} алкила, моно-галоген- C_{1-3} алкила, поли-галоген- C_{1-3} алкила, C_{1-3} алкилокси, тетрагидро-2Н-пиранила, фенила, необязательно замещенного C_{1-3} алкилом, и $-NR^{1c}R^{1d}$; где

R^{1c} представляет собой водород или C_{1-3} алкил, R^{1d} представляет собой C_{1-3} алкил, или $NR^{1c}R^{1d}$ образуют вместе 1-пирролидинил, 4-пиперазинил или 1Н-имидазолил, каждый из которых необязательно замещен C_{1-3} алкилом; и

R^2 представляет собой водород или C_{1-3} алкил.

4. Соединение по любому из пп. 1-3, где

R представляет собой фенил, необязательно замещенный 1, 2 или 3 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена и Het; где

Het выбран из пиридинила и пиримидинила, каждый из которых может быть необязательно замещен циано.

5. Соединение по любому из пп. 1-3, где

X представляет собой S или O;

R представляет собой фенил, необязательно замещенный 1, 2 или 3 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена; C_{1-6} алкилокси, необязательно замещенного циано или C_{1-3} алкилокси; C_{2-6} алкинилокси; тетрагидро-2Н-пиранилокси и R^3-C_{1-6} алкилокси-; где

R^3 выбран из группы, состоящей из C_{3-6} циклоалкила; Ar^1 ; тетрагидро-2Н-пиранила; C_{3-6} циклоалкилокси; тетрагидро-2Н-пиранилокси; Het^1 -окси- и Ar^1 -окси-; где

Ar^1 представляет собой фенил, необязательно замещенный галогеном, циано, C_{1-3} алкилом и C_{1-3} алкилокси;

Het^1 выбран из группы, состоящей из пиридила, пиримидинила, изоксазолила,

1Н-имидазолила, тиазолила и 1Н-индазолила, каждый из которых необязательно замещен 1 или 2 заместителями, каждый из которых независимо выбран из C_{1-3} алкила;

R^1 выбран из группы, состоящей из водорода; галогена; гомоарила и гетероарила; где

гомоарил представляет собой фенил, необязательно замещенный 1, или 2, или 3 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена, циано, C_{1-3} алкила и

C_{1-3} алкилокси;

гетероарил выбран из группы, состоящей из пиридила и изоксазолила, каждый из которых необязательно замещен 1 или 2 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена, C_{1-3} алкила и C_{1-3} алкилокси; и

R^2 представляет собой водород или C_{1-3} алкил.

6. Соединение по любому из пп. 1-4, где

X представляет собой S или O;

R^1 представляет собой гомоарил или гетероарил; где

гомоарил представляет собой фенил, необязательно замещенный 1 или 2 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена, циано и C_{1-3} алкила;

гетероарил выбран из группы, состоящей из пиридила и изоксазолила, каждый из которых необязательно замещен 1 или 2 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена, циано и C_{1-3} алкила; и

R^2 представляет собой водород или C_{1-3} алкил.

7. Фармацевтическая композиция, содержащая терапевтически эффективное количество соединения по любому из пп. 1-6 и фармацевтически приемлемый носитель.

8. Способ получения фармацевтической композиции, включающий смешивание фармацевтически приемлемого носителя с терапевтически эффективным количеством соединения по любому из пп. 1-6.

9. Соединение по любому из пп. 1-6 для применения в качестве лекарственного препарата.

10. Соединение по любому из пп. 1-6 для применения в лечении, предупреждении или профилактике болезни Альцгеймера (AD), умеренного когнитивного нарушения, угасания, деменции, деменции с тельцами Леви, синдрома Дауна, деменции, ассоциированной с инсультом, деменции, ассоциированной с болезнью Паркинсона, или деменции, ассоциированной с накоплением бета-амилоида.

11. Способ лечения расстройства, выбранного из группы, состоящей из болезни Альцгеймера, умеренного когнитивного нарушения, угасания, деменции, деменции с тельцами Леви, синдрома Дауна, деменции, ассоциированной с инсультом, деменции, ассоциированной с болезнью Паркинсона, и деменции, ассоциированной с накоплением бета-амилоида, включающий введение субъекту,

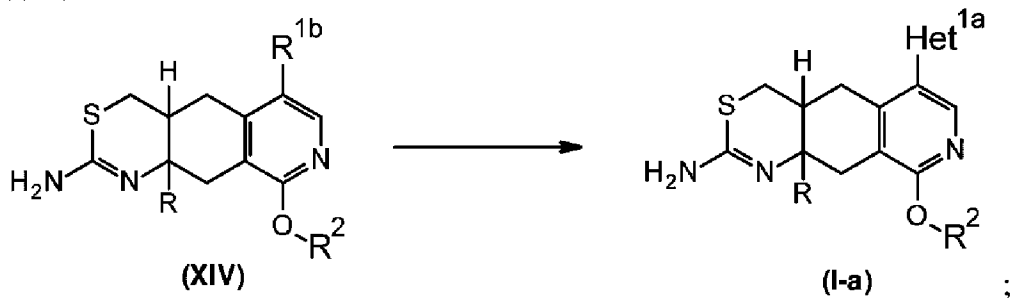
нуждающемся в этом, терапевтически эффективного количества соединения по любому из пп. 1-6 или фармацевтической композиции по п. 7.

12. Способ модулирования активности фермента, расщепляющего амилоид по бета-сайту, включающий введение субъекту, нуждающемся в этом, терапевтически эффективного количества соединения по любому из пп. 1-6 или фармацевтической композиции по п. 7.

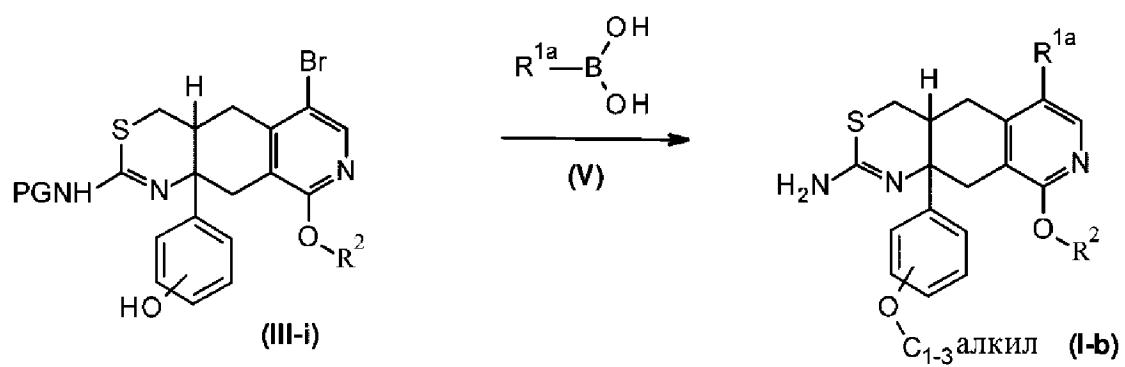
13. Применение соединения по любому из пп. 1-6 или фармацевтической композиции по п. 7 для изготовления лекарственного препарата, предназначенного для лечения или предупреждения болезни Альцгеймера (AD), умеренного когнитивного нарушения, угасания, деменции, деменции с тельцами Леви, синдрома Дауна, деменции, ассоциированной с инсультом, деменции, ассоциированной с болезнью Паркинсона, или деменции, ассоциированной с накоплением бета-амилоида.

14. Способ получения соединения в соответствии с формулой (I-a) или (I-b), где R, Het^{1a}, R^{1a} и R² определены в любом из пп. 1-6, включающий стадии а) или б):

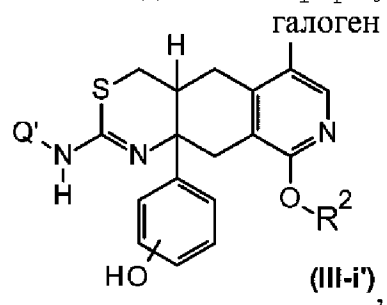
а) подвергание соединения формулы (XIV) реакции по типу реакции Сузуки путем нагревания с соответствующей бороновой кислотой или сложным эфиром в подходящем растворителе с применением соответствующего катализатора в присутствии подходящего основания:



б) подвергание соединения формулы (III-i), где R² определен в любом из пп. 1-6, PG представляет собой неустойчивую к воздействию оснований защитную группу, и R представляет собой фенил, содержащий по меньшей мере заместитель, выбранный из гидроксила, сначала алкилированию по фенолу подходящим алкилирующим средством в присутствии основания, а затем осуществлению реакции Сузуки с применением соответствующего основания, такого как карбонат калия:



15. Соединение формулы (III-i'),



где Q' представляет собой H или защитную группу, гало́ген представляет собой бром или хлор, в частности бром, и R² определен в любом из пп. 1-6.

По доверенности