



(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.01.22

(21) Номер заявки
201890748

(22) Дата подачи заявки
2016.02.29

(51) Int. Cl. **C07D 409/04** (2006.01)
C07D 407/04 (2006.01)
C07D 407/14 (2006.01)
C07D 409/14 (2006.01)
C07D 405/04 (2006.01)
C07D 311/16 (2006.01)
A61K 31/37 (2006.01)
A61K 31/4709 (2006.01)
A61K 31/55 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)

(54) 4-ЗАМЕЩЕННЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ КУМАРИНА, СПОСОБЫ ИХ ПОЛУЧЕНИЯ И ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

(31) **201510618234.7**

(32) **2015.09.24**

(33) **CN**

(43) **2018.11.30**

(86) **PCT/CN2016/074796**

(87) **WO 2017/049871 2017.03.30**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ГУЙЧЖОУ БЭЙЛИНГ ГРУП
ФАРМАСЬЮТИКАЛ КО., ЛТД. (CN)**

(72) Изобретатель:
Чэнь Лицзюань, Вэй Юйцзюань (CN)

(74) Представитель:
**Осипов К.В., Ильмер Е.Г., Пантелеев
А.С., Хмара М.В., Дощечкина В.В.,
Новоселова С.В., Липатова И.И. (RU)**

(56) WO-A1-2012136910
WO-A2-2005103705
DE-A1-2331438
CN-A-101657443
CN-A-102627638
WO-A1-2014153533
US-A-5527827
CN-A-102746281

Manjunath Ghate et al. "Synthesis of vanillin ethers from 4-(bromomethyl) coumarins as anti inflammatory agents" European Journal of Medicinal Chemistry, column 38, 31 December 2003 (31.12.2003), pages 297-302

Olga G. Ganina et al. "Synthesis and biological evaluation of polymethoxylated 4-heteroaryl coumarins as tubulin assembly inhibitor" Bioorganic & Medicinal Chemistry, column 16, 05 September 2008 (05.09.2008), pages 8806-8812

Demetris Vrakas et al. "Retention of substituted coumarins using immobilized artificial membrane (IAM) chromatography: A comparative study with n-octanol partitioning and reversed-phase HPLC and TLC" Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, column 39, 11 July 2005 (11.07.2005), pages 908-913

Krishnamoorthy Sivakumar et al. "A Fluorogenic 1,3-Dipolar Cycloaddition Reaction of 3-Azidocoumarins and Acetylenes" ORGANIC LETTERS, column 6, number 24, 04 November 2004 (04.11.2004), pages 4603-4606

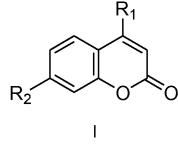
Demetrios N. Nicolaides et al. "Synthesis and biological evaluation of several coumarin-4-carboxamidoxime and 3-(coumarin-4-yl)-1,2,4-oxadiazole derivatives" J. Med. Chem., volume 33, 31 December 1998 (31.12.1998), pages 715-724

Deborah D. Soto-Ortega et al. "Inhibition of amyloid-b aggregation by coumarin analogs can be manipulated by functionalization of the aromatic center" Bioorganic & Medicinal Chemistry, volume 19, 12 March 2011 (12.03.2011), pages 2596-2602

Jie Sheng et al. "Generation of 4-substituted coumarins via CeH bond activation under palladium bromidecopper(I) bromide cooperative catalysis" Tetrahedron, volume 69, 21 October 2013 (21.10.2013), pages 10230-10234

Kota Sasano et al. "Palladium(II)-Catalyzed Direct Carboxylation of Alkenyl C H Bonds with CO₂" Journal of the American Chemical Society, volume 135, number 30, 18 July 2013 (18.07.2013), pages 10954-10957

(57) Изобретение относится к области медицинской химии, в частности к 4-замещенным кумаринам, к способам их получения и применениям. В изобретении предложены 4-замещенные производные кумарина структурной формулы, представленной формулой I. В изобретении также предложены способы получения и применения указанных выше 4-замещенных производных кумарина. Соединения, предложенные в изобретении, обладают сильной противоопухолевой активностью, где значение IC₅₀ для множественных линий опухолевых клеток составляет 0,01-5 нмоль/л, а также обладают лучшими характеристиками ингибирования полимеризации микротрубочек, разнообразными видами биологической активности и низкой токсичностью, что обеспечивает новые варианты лечения в отношении чувствительных и резистентных к лекарственным средствам опухолевых клеток



036984 B1

036984 B1

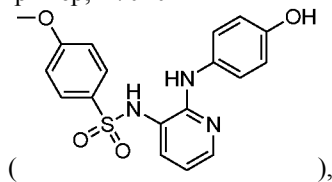
Область изобретения

Изобретение относится к области медицинской химии, в частности, к 4-замещенным кумаринам и к их применениям.

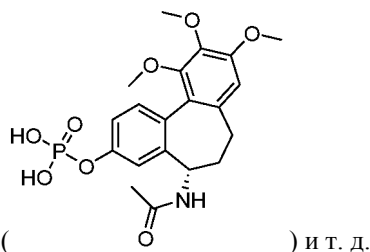
Предшествующий уровень техники

Микротрубочки как основной компонент цитоскелета обладают динамическими характеристиками полимеризации и деполимеризации и играют важную роль в поддержании морфологии клеток, делении и пролиферации клеток, составе и транспорте органелл и состоянии химических сигнальных веществ. При нацеливании противоопухолевых лекарственных средств на микротрубочки используют их динамические характеристики, либо посредством стимуляции, либо посредством ингибирования их полимеризации, что непосредственно влияет на митоз клеток и остановку деления клеток в фазе G2/M. Исследователи показали, что микротрубочка имеет по меньшей мере 3 различных сайта связывания лекарственных средств: сайт таксола, сайт винкристина и сайт колхицина. Таксол может ингибировать деполимеризацию тубулина и стабилизировать структуру микротрубочки, а винбластин и колхицин могут ингибировать полимеризацию тубулина посредством соответствующих сайтов их действия.

Лекарственные средства, применяемые для деполимеризации микротрубочки, в качестве представителя которых рассматривают таксол, в настоящее время широко применяются для лечения рака молочной железы, рака яичника, рака легкого, немелкоклеточного рака легкого и т.д. Лекарственные средства, применяемые для ингибирования полимеризации микротрубочки, имеют два различных сайта связывания: сайт винкристина и сайт колхицина. Лекарственные средства, действующие на сайт винкристина, рассматривая в качестве представителей винкристина и т.д., в настоящее время применяются клинически для лечения лейкоза, лимфомы, немелкоклеточного рака легкого и т.д. Лекарственные средства, действующие на сайт колхицина, представлены колхицином, подофиллотоксином и комбретастатином (CA-4). Поскольку объем полости сайта колхицина относительно мал, а структура его соответствующего ингибитора относительно проста, в недавнее время исследователи стали уделять значительное внимание этим ингибиторам, и такие производные для лечения опухолей поступили в клинические исследования и показали перспективу применения, например, E7010



ZD6126



() и т. д.

При лечении воспалительных заболеваний колхицин применяется клинически для лечения острой подагры и подагрического артрита. Благодаря успехам, достигнутым в результате применения соединений таксола и винбластина для лечения опухолей, ученые достаточно уверены в разработке ингибиторов микротрубочек, нацеленных на сайт колхицина.

По сравнению с противоопухолевыми лекарственными средствами, нацеленными на сайт таксола и сайт винкристина, противоопухолевые лекарственные средства, нацеленные на сайт колхицина, обладают, в основном, двумя важными преимуществами. Одно из преимуществ состоит в том, что химиотерапевтические лекарственные средства, нацеленные на сайт колхицина, могут не только ингибировать полимеризацию тубулина, но также в целом ингибировать образование новых сосудов опухоли. Таким образом, этот вид лекарственных средств может способствовать ингибированию образования сосудов солидных опухолей, вызывающему недостаточное кровоснабжение опухолевых тканей и эффективное ингибирование опухолей. В последние годы эти ингибиторы все больше признают специалисты в данной области техники. Важнее, что антиангиогенная функция не будет подвергаться влиянию множественной лекарственной резистентности и может эффективно проявлять долгосрочную противоопухолевую активность.

Другое преимущество состоит в том, что химиотерапевтические лекарственные средства, нацеленные на сайт колхицина, позволяют эффективно преодолевать лекарственную резистентность. Даже несмотря на то что нацеливание на микротрубочки проявляет сильную активность как при отдельном введении, так и при комбинированном введении, множественная лекарственная резистентность ограничивает его действие при химиотерапии для лечения опухолей. В настоящее время механизм резистентности к таксолу относят к трем аспектам: гиперэкспрессии гена MDR-1, точечным мутациям в генах микротрубочек α , β и экспрессии мономера β -III тубулина. Недавно Управлением по санитарному надзору за ка-

чеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA) США одобрен для продажи эпотилон, для которого доказана необходимость для преодоления механизма лекарственной резистентности мономера β -III тубулина. Данная клиническая фармакотерапия продемонстрировала, что основными механизмами лекарственной резистентности, вызывающими отсутствие успеха лечения таксоловыми и винбластиновыми лекарственными средствами в связи с лекарственной резистентностью, являются гиперэкспрессия Р-гликопротеина и измененная экспрессия мономера β -III тубулина.

Соединение кумарина, структуру которого рассматривают как соединение лактона, образованное посредством дегидратации цис-орто-гидрокси-коричной кислоты, является обычным термином для обозначения вида натуральных продуктов, содержащих исходное ядро бензопирона. С того момента, когда был впервые открыт воклен, соединение кумарина дафнии из растения *Daphne alpeina*, в 1812 г., получены сотни соединений кумарина. Эти соединения широко представлены в царстве растений и, в частности, широко представлены в растениях семейств Umbelliferae, Rutaceae, Asteraceae, Leguminosae, Solanaceae и т.д. Этот компонент содержится в растениях Китая, таких как растения семейств Fructus Cnidii, Radix Angelicae Pubescentis, Radix Angelicae Dahuricae, Fructus Aurantii, Radix Peucedani, Ash Bark, Herba Artemisiae Scopariae, Fructus Psoraleae и Euphorbia Lathyrus. Некоторые соединения обладают высокой противовирусной, противоопухолевой, антимикробной, противораковой и противовоспалительной активностью, и как местные, так и иностранные ученые считают их обладающими высокой значимостью. На основании различий групп заместителей на исходном ядре и их расположения они могут быть разделены на четыре категории: простые кумарины, фурукумарины, пиранокумарины и другие кумарины. Кумарин обладает ароматом, и его соединения включают ангеликалактон, ангеликон, ксантоксилетин, армилларизин А и т.д.

Подтверждено, что среди множества описанных в литературе химиотерапевтических лекарственных средств кумарин обладает слабой или не обладает токсической активностью во всех тестах. Поэтому механизм его действия вызывает интерес многих фармацевтов. В настоящее время в литературе описано, что кумарин в области противоопухолевого применения обладает активностью ингибирования ферментов, остановки клеточного цикла, антиангиогенной активностью, активностью ингибирования белков теплового шока (HSP90), активностью ингибирования теломеразы, антимитотической активностью, активностью ингибирования карбоангидразы, активностью ингибирования транспортных белков, активностью ингибирования ароматазы и активностью ингибирования сульфатазы. Кроме того, ученые провели углубленное исследование взаимосвязи структуры и активности производных кумарина.

Tsyganov и соавт. исследовали антимитотическую активность соединений кумарина. Они получили полусинтетический 3-(4-метоксифенил)кумарин, замещенный множественными заместителями алкокси, и показали, что эти соединения обладают антимитотической активностью в фенотипическом тесте эмбрионального развития морского ежа. Этими авторами также описано соединение А и отмечено, что источник антимитотической активности соединения А связан с метоксильной группой в положениях C5, C6, C7 исходного ядра кумарина. Триметокси-структура действительно встречается во многих ингибиторах микротрубочек, таких как колхицин и SA4. В то же время на основании исследования авторы пришли к выводу, что кумарин с замещенной ароматической группой в положении 3 является характеристическим среди антимитотических лекарственных средств на основе кумаринов.

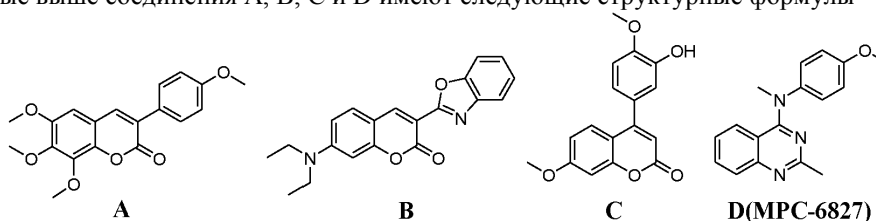
В статье Biochemical Pharmacology, 2009, 77, 1773-1779 описано соединение В кумарина. В данном документе выявлено, что соединение В может осуществлять деполимеризацию микротрубочек и, очевидно, вызывать остановку клеточного цикла в фазе G2/M, что соответствует химиотерапевтическим лекарственным средствам, нацеленным на сайт колхицина. В то же время IC_{50} ингибирования опухолевых клеток составляет 44,8-475,2 нмоль/л, а для ингибирования нормальных клеток этот показатель составляет более 5 мкмоль/л. Соединение В также проявляет явное ингибирование линии опухолевых клеток, резистентных к лекарственным средствам. В структуре соединения В имеется группа диэтиламино в положении C7, замещающая метоксил. Кроме того, как и соединение А, соединение В также обладает ароматической структурой замещения в положении C3. Производное с подзаместителем в положении C3 считают характеристическим среди лекарственных средств-ингибиторов микротрубочек.

В J. Med. Chem. 2011, 54, 3153-3162 описано соединение-производное кумарина С. В этом документе выявлено, что соединение С обладает сильной противоопухолевой активностью, характеризующейся значением IC_{50} в наномолярном диапазоне. Кроме того, обнаружено, что соединение С может осуществлять деполимеризацию микротрубочек подобно колхицину и SA4. Важнее, что соединение С все же проявляет явное ингибирование в отношении резистентной к лекарственным средствам линии с гиперэкспрессией Р-гликопротеина. Описание соединения С привлекло внимание к кумарину с замещенной ароматической группой в положении C4 и позволило расширить модифицируемый объем производных кумарина.

В J. Med. Chem. 2009, 52, 2341-2351 описано соединение D (MPC-6827, Azixa), значение IC_{50} которого для множественных опухолевых клеток составляет 1-10 нмоль/л. Соединение D поступило во II фазу клинических исследований лечения множественной нейроглиомы и фазу I клинических исследований лечения меланомы. В Cancer Res. 2007, Jun 15, 67(12): 5865-71 описано, что механизм функционирования

соединения D состоит в нацеливании на сайт колхицина и в ингибировании полимеризации тубулина таким образом, что оно останавливает митоз и индуцирует апоптоз клеток. В этом документе результаты компьютерного моделирования указывают на то, что 2-замещенная функциональная группа соединения D занимает углубление, значимое для сайта колхицина, и чем больше размер 2-замещенной группы, тем меньше активность, направленная против микротрубочек, при этом заместитель, представляющий собой метил или атом галогена (такой как атом хлора), вносит значительный вклад в поддержании активности соединения D, направленной против микротрубочек. Отсутствие замещения в положении 2 соединения D приведет к полной утрате активности против микротрубочек. Кроме того, ароматический атом азота в 1-м положении и ароматический атом азота хиназолина в 3-м положении обладают различными функциями в сохранении активности против микротрубочек, где ароматический атом азота в 1-м положении образует водородную связь с донором водородной связи в тубулине, которая вносит вклад в сохранение активности тубулина, при этом ароматический атом азота в 3-положении не обладает такой функцией. В то же время заместитель метил атома азота в 4-м положении хиназолина также важен при ингибировании активности тубулина. Если заменить метил другими группами, такими как атом водорода, активность против микротрубочек также будет утрачена. Хотя соединение D показало высокую противоопухолевую активность, в клинических исследованиях I и II фазы выявлена его значительная токсичность, которая может ограничивать его эффективность.

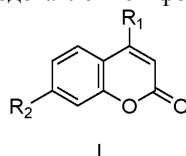
Описанные выше соединения A, B, C и D имеют следующие структурные формулы



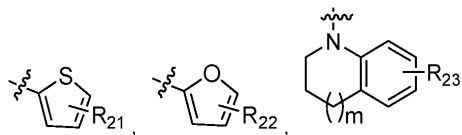
В настоящее время существует неотложная потребность в разработке безопасных и малотоксичных соединений, которые могут эффективно препятствовать лекарственной резистентности.

Краткое изложение сущности изобретения

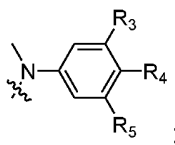
В целях разрешения описанных выше проблем в изобретении предложены 4-замещенные производные кумарина структурной формулы, представленной формулой I



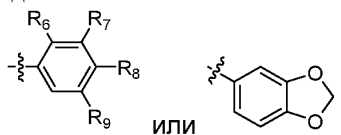
где R_1 представляет собой



где m равно 1-2, или

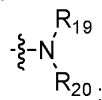


R_{21} и R_{22} каждый независимо представляет собой

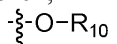


R_{23} представляет собой C_1 - C_4 -алкокси;

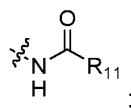
R_2 представляет собой C_1 - C_8 -алкокси, -H или



R_3 представляет собой -H, -OH, C_1 - C_8 -алкокси,

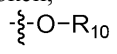


- NH_2 или

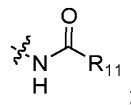


R₄ представляет собой C₁-C₈-алкокси;

R₅ представляет собой -H, -OH, C₁-C₈-алкокси,

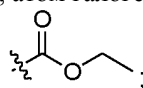


-NH₂ или

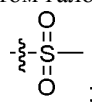


R₆ представляет собой -H, C₁-C₈-алкокси или атом галогена;

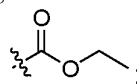
R₇ представляет собой -H, C₁-C₈-алкокси, атом галогена или



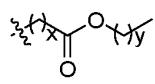
R₈ представляет собой -H, C₁-C₈-алкокси, атом галогена, C₁-C₈-алкил или



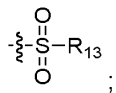
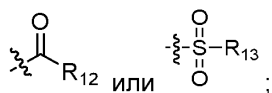
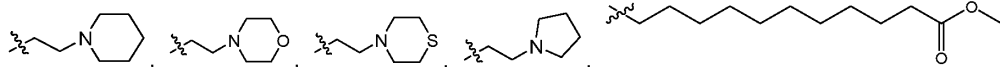
R₉ представляет собой -H, C₁-C₈-алкокси, атом галогена или



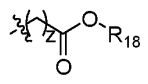
R₁₀ представляет собой



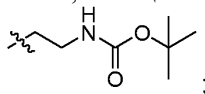
где x равен 1-4, y равен 1-4



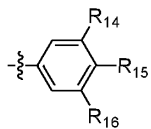
R₁₁ представляет собой C₁-C₁₀-алкил,



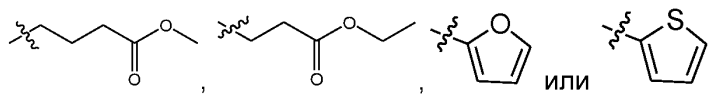
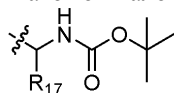
где z равен 1-10, C₂-C₈-алкенил, C₁-C₈-алкил, замещенный атомом галогена, C₃-C₈-циклоалкил или



R₁₂ представляет собой C₁-C₁₀-алкил,



C₂-C₈-алкенил, C₁-C₈-алкил, замещенный атомом галогена, C₃-C₈-циклоалкил



R₁₃ представляет собой C₁-C₈-алкил, фенил, замещенный C₁-C₈-алкилом, или фенил, замещенный атомом галогена;

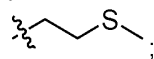
R₁₄ представляет собой атом галогена или -H;

R₁₅ представляет собой C₁-C₈-алкил, -H или C₁-C₈-алкокси;

R₁₆ представляет собой атом галогена или -H;

где R_{14} - R_{16} не представляют собой -H одновременно;

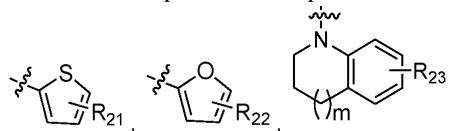
R_{17} представляет собой C_1 - C_8 -алкил, -H или



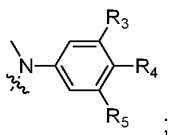
R_{18} представляет собой C_1 - C_8 -алкил или -H;

R_{19} и R_{20} каждый независимо представляет собой C_1 - C_8 -алкил.

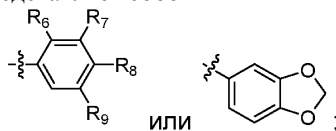
В качестве предпочтительной схемы изобретения R_1 представляет собой



где m равно 1-2, или

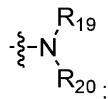


R_{21} и R_{22} каждый независимо представляет собой

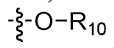


R_{23} представляет собой C_1 - C_4 -алкокси;

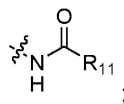
R_2 представляет собой C_1 - C_4 -алкокси, -H или



R_3 представляет собой -H, -OH, C_1 - C_4 -алкокси,

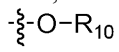


-NH₂ или

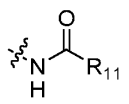


R_4 представляет собой C_1 - C_4 -алкокси;

R_5 представляет собой -H, -OH, C_1 - C_4 -алкокси,

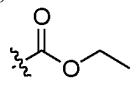


-NH₂ или



R_6 представляет собой -H, C_1 - C_4 -алкокси или атом галогена;

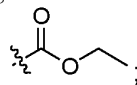
R_7 представляет собой -H, C_1 - C_4 -алкокси, атом галогена или



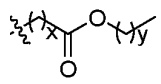
R_8 представляет собой -H, C_1 - C_4 -алкокси, атом галогена, C_1 - C_4 -алкил или



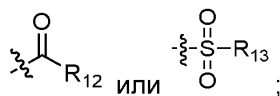
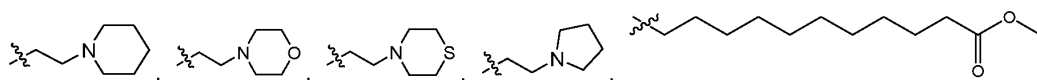
R_9 представляет собой -H, C_1 - C_4 -алкокси, атом галогена или



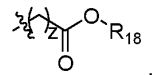
R_{10} представляет собой



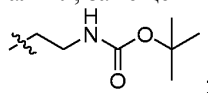
где x равен 1-4, y равен 1-4,



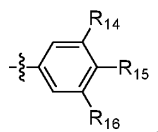
R_{11} представляет собой C_1 - C_{10} -алкил,



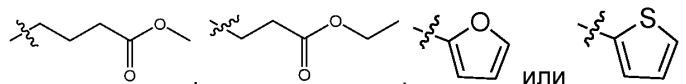
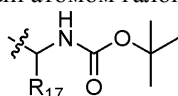
где z равен 1-10, C_2 - C_8 -алкенил, C_1 - C_4 -алкил, замещенный атомом галогена, C_3 - C_8 -циклоалкил или



R_{12} представляет собой C_1 - C_{10} -алкил,



C_2 - C_8 -алкенил, C_1 - C_4 -алкил, замещенный атомом галогена, C_3 - C_8 -циклоалкил,



R_{13} представляет собой C_1 - C_4 -алкил, фенил, замещенный C_1 - C_4 -алкилом, или фенил, замещенный атомом галогена;

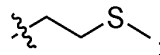
R_{14} представляет собой атом галогена или -H;

R_{15} представляет собой C_1 - C_4 -алкил, -H или C_1 - C_4 -алкокси;

R_{16} представляет собой атом галогена или -H;

где R_{14} - R_{16} не представляют собой -H одновременно;

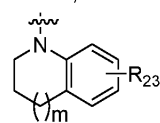
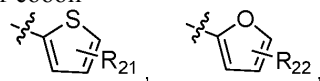
R_{17} представляет собой C_1 - C_4 -алкил, -H или



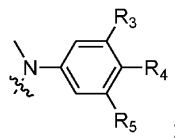
R_{18} представляет собой C_1 - C_4 -алкил или -H;

R_{19} и R_{20} каждый независимо представляет собой C_1 - C_4 -алкил.

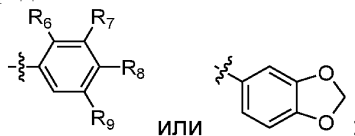
Предпочтительно R_1 представляет собой



где m равно 1-2, или

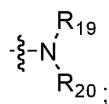


R_{21} и R_{22} каждый независимо представляет собой

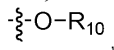


R_{23} представляет собой C_1 - C_4 -алкокси;

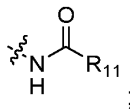
R_2 представляет собой C_1 - C_4 -алкокси, -H или



R₃ представляет собой -H, -OH, C₁-C₄-алкокси,

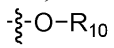


-NH₂ или

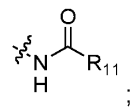


R₄ представляет собой C₁-C₄-алкокси;

R₅ представляет собой -H, -OH, C₁-C₄-алкокси,

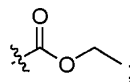


-NH₂ или

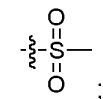


R₆ представляет собой -H, C₁-C₄-алкокси или атом галогена;

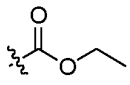
R₇ представляет собой -H, C₁-C₄-алкокси, атом галогена или



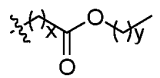
R₈ представляет собой -H, C₁-C₄-алкокси, атом галогена, C₁-C₄-алкил или



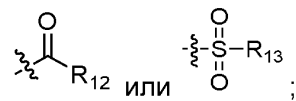
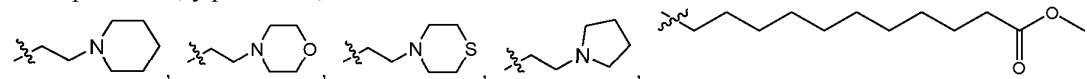
R₉ представляет собой -H, C₁-C₄-алкокси, атом галогена или



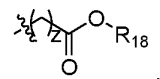
R₁₀ представляет собой



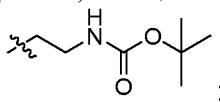
где x равен 1-2, y равен 1-2,



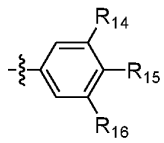
R₁₁ представляет собой C₁-C₁₀-алкил,



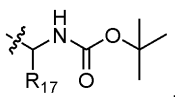
где z равен 1-10, C₂-C₈-алкенил, C₁-C₄-алкил, замещенный атомом галогена, C₃-C₈-циклоалкил или

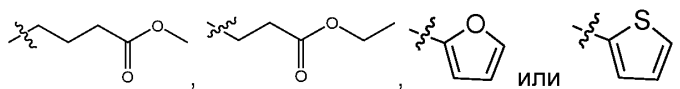


R₁₂ представляет собой C₁-C₁₀-алкил,



C₂-C₈-алкенил, C₁-C₄-алкил, замещенный атомом галогена, C₃-C₈-циклоалкил,





R_{13} представляет собой C_1 - C_4 -алкил, фенил, замещенный C_1 - C_4 -алкилом, или фенил, замещенный атомом галогена;

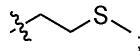
R_{14} представляет собой атом галогена или -H;

R_{15} представляет собой C_1 - C_4 -алкил, -H или C_1 - C_4 -алкокси;

R_{16} представляет собой атом галогена или -H;

где R_{14} - R_{16} не представляют собой -H одновременно;

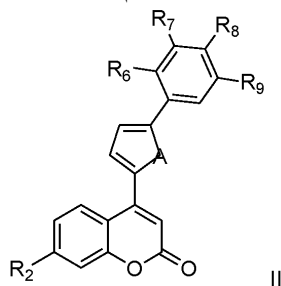
R_{17} представляет собой C_1 - C_4 -алкил, -H или



R_{18} представляет собой C_1 - C_4 -алкил или -H;

R_{19} и R_{20} каждый независимо представляет собой C_1 - C_4 -алкил.

Более предпочтительно структурная формула производных кумарина представлена формулой II, когда R_1 представляет собой замещенный ненасыщенный 5-членный гетероцикл



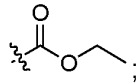
где A представляет собой O или S;

R_2 представляет собой C_1 - C_8 -алкокси, -H или



R_6 представляет собой -H, C_1 - C_8 -алкокси или атом галогена;

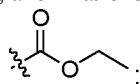
R_7 представляет собой -H, C_1 - C_8 -алкокси, атом галогена или



R_8 представляет собой -H, C_1 - C_8 -алкокси, атом галогена, C_1 - C_8 -алкил или

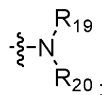


R_9 представляет собой -H, C_1 - C_8 -алкокси, атом галогена или



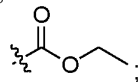
R_{19} и R_{20} каждый независимо представляет собой C_1 - C_8 -алкил. В предпочтительном воплощении изобретения A представляет собой O или S;

R_2 представляет собой C_1 - C_4 -алкокси, -H или



R_6 представляет собой -H, C_1 - C_4 -алкокси или атом галогена;

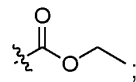
R_7 представляет собой -H, C_1 - C_4 -алкокси, атом галогена или



R_8 представляет собой -H, C_1 - C_4 -алкокси, атом галогена, C_1 - C_4 -алкил или



R_9 представляет собой -H, C_1 - C_4 -алкокси, атом галогена или

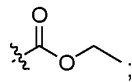


R₁₉ и R₂₀ каждый независимо представляет собой C₁-C₄-алкил. В более предпочтительном воплощении изобретения А представляет собой О или S;

R₂ представляет собой C₁-C₄-алкокси или -H;

R₆ представляет собой -H, C₁-C₄-алкокси или атом галогена;

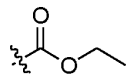
R₇ представляет собой -H, C₁-C₄-алкокси, атом галогена или



R₈ представляет собой -H, C₁-C₄-алкокси, атом галогена, C₁-C₄-алкил или

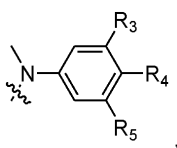


R₉ представляет собой -H, C₁-C₄-алкокси, атом галогена или



R₁₉ и R₂₀ каждый независимо представляет собой C₁-C₄-алкил.

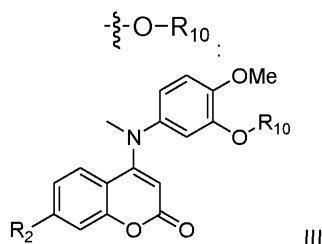
Более предпочтительно структурная формула производных кумарина представлена формулой III, когда R₁ представляет собой



R₃ представляет собой -H,

R₄ представляет собой метоксил, и

R₅ представляет собой

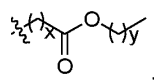


III

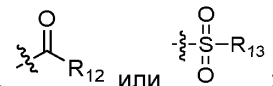
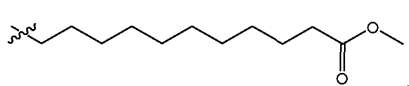
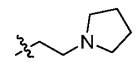
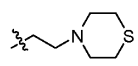
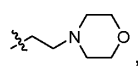
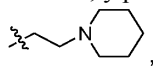
где R₂ представляет собой C₁-C₈-алкокси, -H или



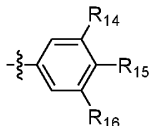
R₁₀ представляет собой



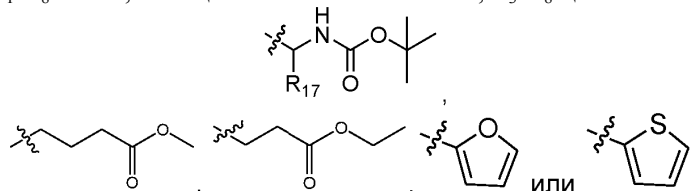
где x равен 1-4, y равен 1-4,



R₁₂ представляет собой C₁-C₁₀-алкил,



C₂-C₈-алкенил, C₁-C₈-алкил, замещенный атомом галогена, C₃-C₈-циклоалкил,



R_{13} представляет собой C_1 - C_8 -алкил, фенил, замещенный C_1 - C_8 -алкилом, или фенил, замещенный атомом галогена;

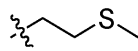
R_{14} представляет собой атом галогена или -H;

R_{15} представляет собой C_1 - C_8 -алкил, -H или C_1 - C_8 -алкокси;

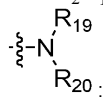
R_{16} представляет собой атом галогена или -H;

где R_{14} - R_{16} не представляют собой -H одновременно;

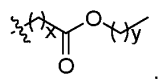
R_{17} представляет собой C_1 - C_8 -алкил, -H или



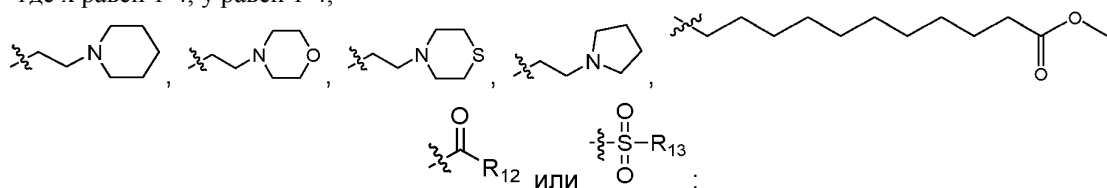
В предпочтительном воплощении изобретения R_2 представляет собой C_1 - C_4 -алкокси, -H или



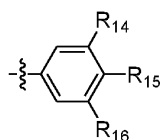
R_{10} представляет собой



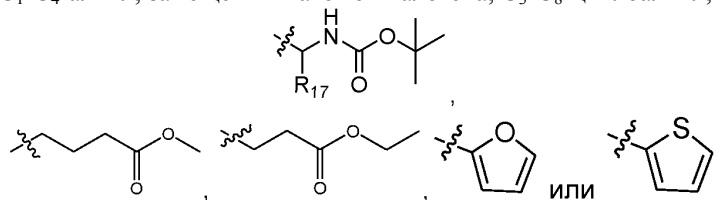
где x равен 1-4, y равен 1-4,



R_{12} представляет собой C_1 - C_{10} -алкил,



C_2 - C_8 -алкенил, C_1 - C_4 -алкил, замещенный атомом галогена, C_3 - C_8 -циклоалкил,



R_{13} представляет собой C_1 - C_4 -алкил, фенил, замещенный C_1 - C_4 -алкилом или фенил, замещенный атомом галогена;

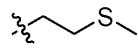
R_{14} представляет собой атом галогена или -H;

R_{15} представляет собой C_1 - C_4 -алкил, -H или C_1 - C_4 -алкокси;

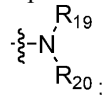
R_{16} представляет собой атом галогена или -H;

где R_{14} - R_{16} не представляют собой -H одновременно;

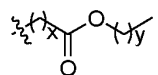
R_{17} представляет собой C_1 - C_4 -алкил, -H или



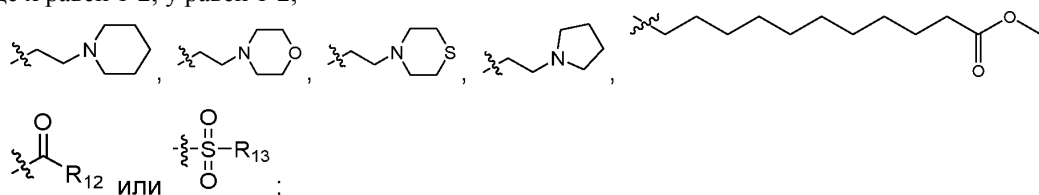
В более предпочтительном воплощении изобретения R_2 представляет собой C_1 - C_4 -алкокси, -H или



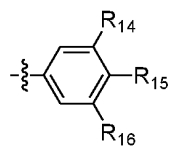
R_{10} представляет собой



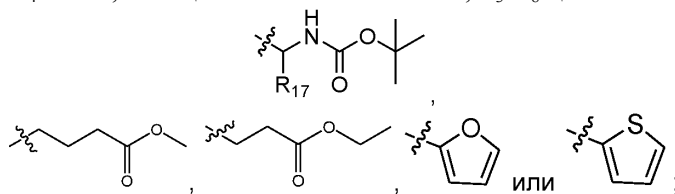
где x равен 1-2, y равен 1-2,



R₁₂ представляет собой C₁-C₁₀-алкил,



С₂-С₈-алкенил, С₁-С₄-алкил, замещенный атомом галогена, С₃-С₈-циклоалкил,



R₁₃ представляет собой C₁-C₄-алкил, фенил, замещенный C₁-C₄-алкилом, или фенил, замещенный атомом галогена;

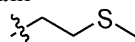
R₁₄ представляет собой атом галогена или -H;

R₁₅ представляет собой C₁-C₄-алкил, -Н или C₁-C₄-алкокси;

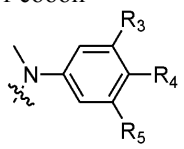
R₁₆ представляет собой атом галогена или -H;

где R_{14} - R_{16} не представляют собой -Н одновременно;

R₁₇ представляет собой C₁-C₄-алкил, -H или



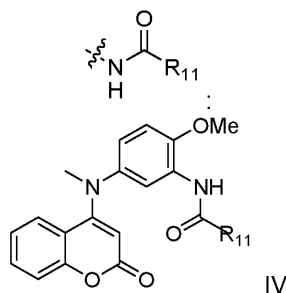
В предпочтительном воплощении изобретения структурная формула производных кумарина представлена формулой IV, когда R₁ представляет собой



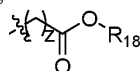
R₃ представляет собой -H,

R₄ представляет собой метоксил, и

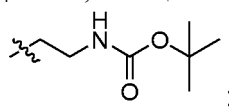
R_5 представляет собой



где R₁₁ представляет собой C₁-C₁₀-алкил,

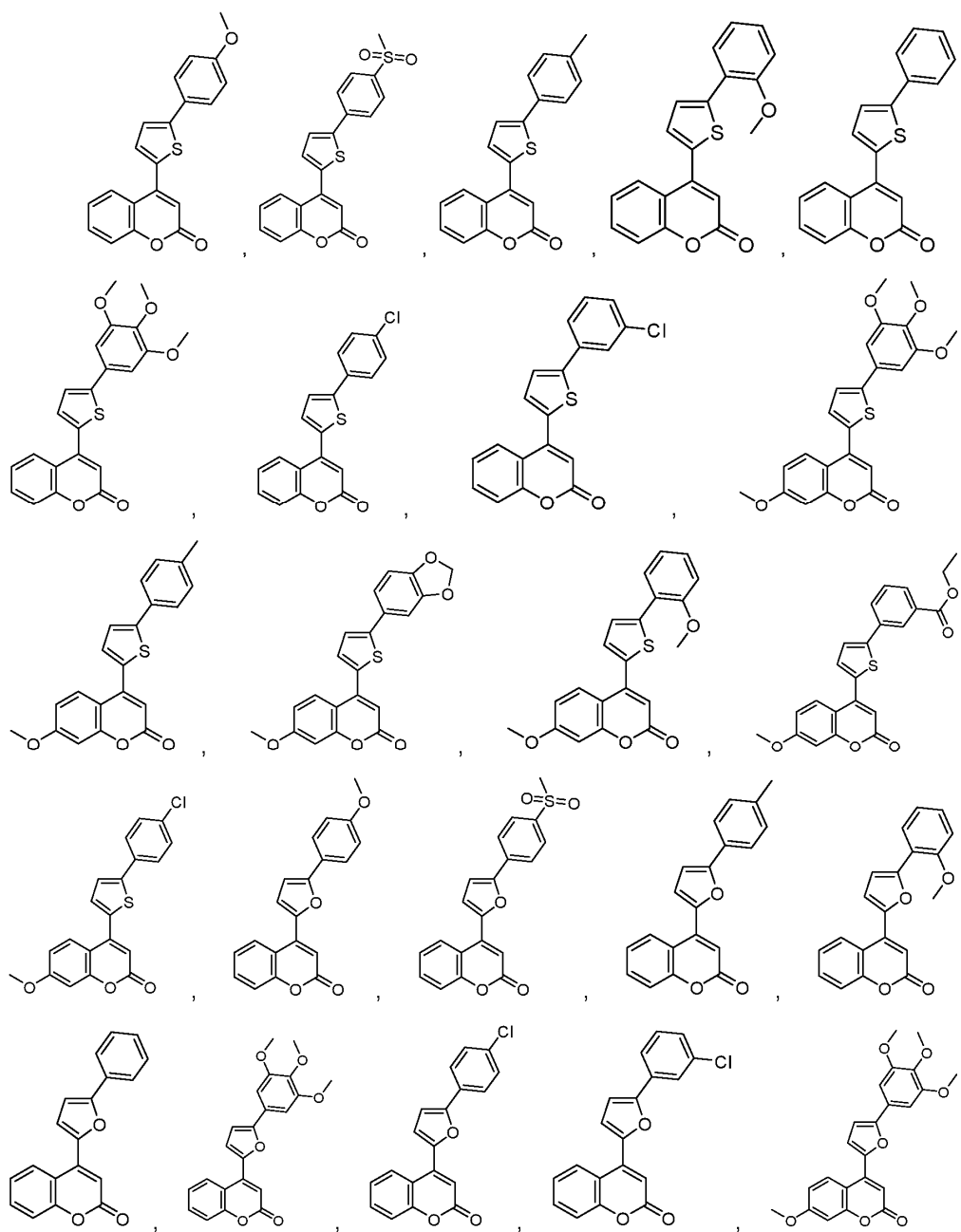


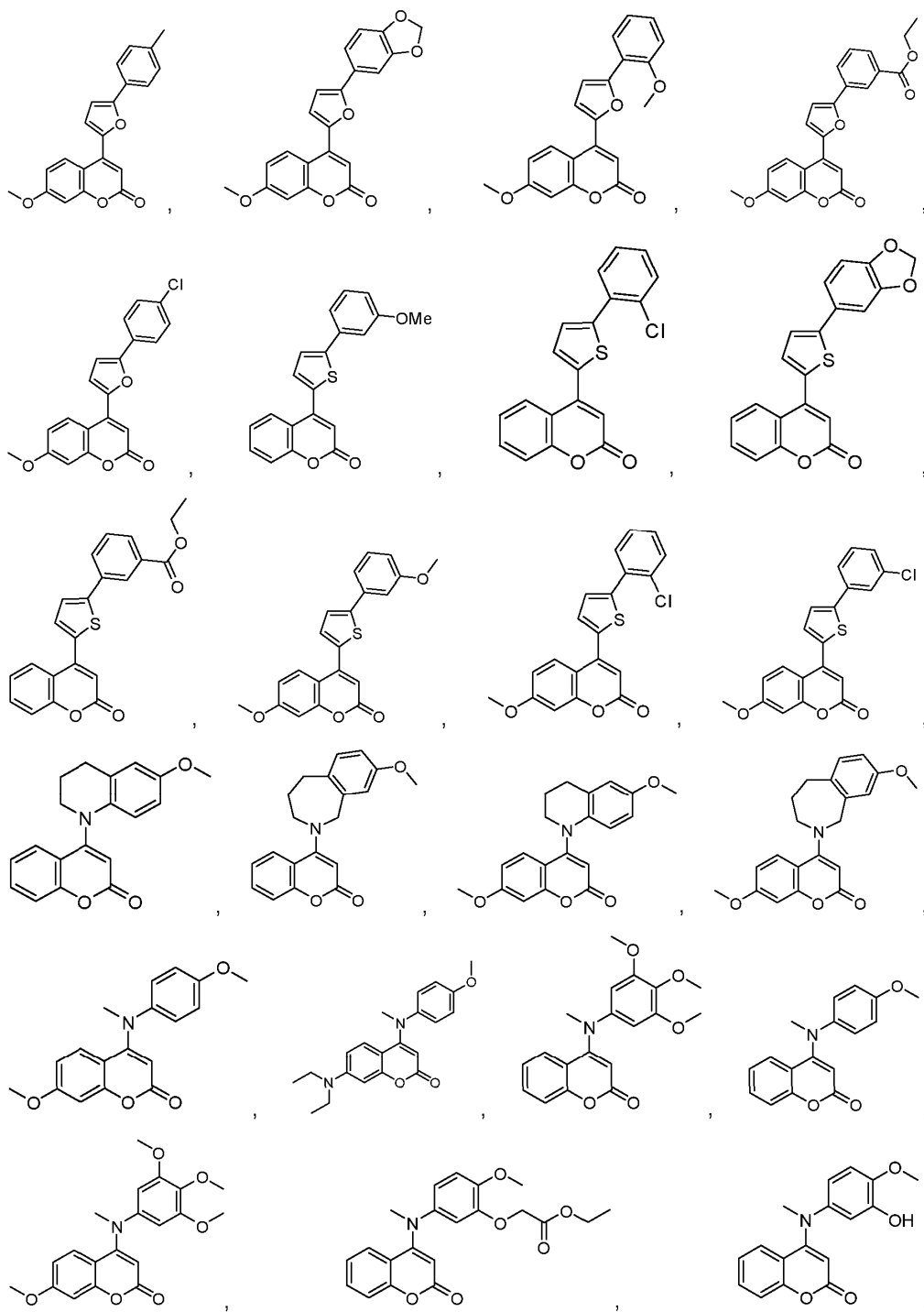
где z равен 1-10, C₂-C₈-алкенил, C₁-C₄-алкил, замещенный атомом галогена, C₃-C₈-циклоалкил или

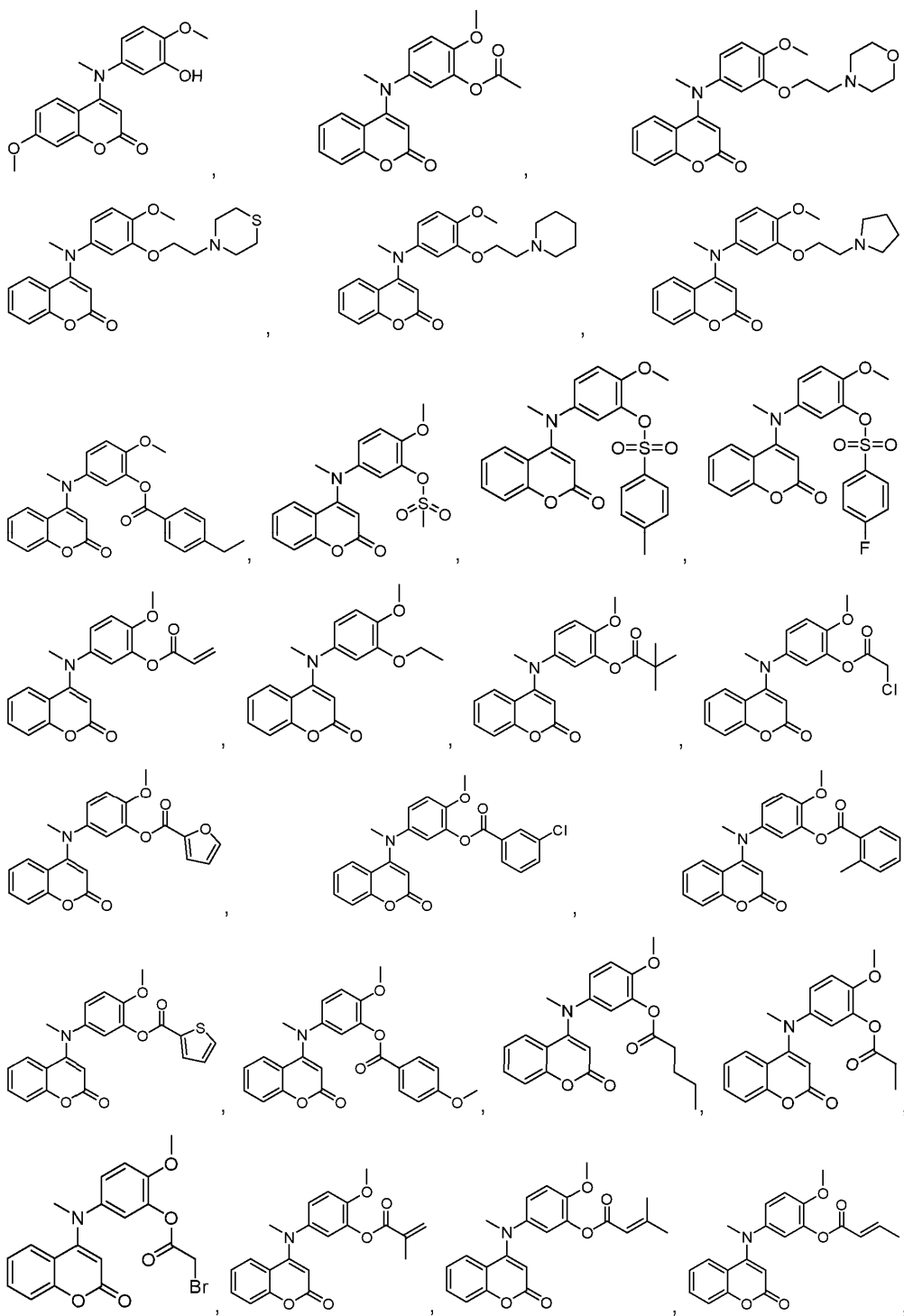


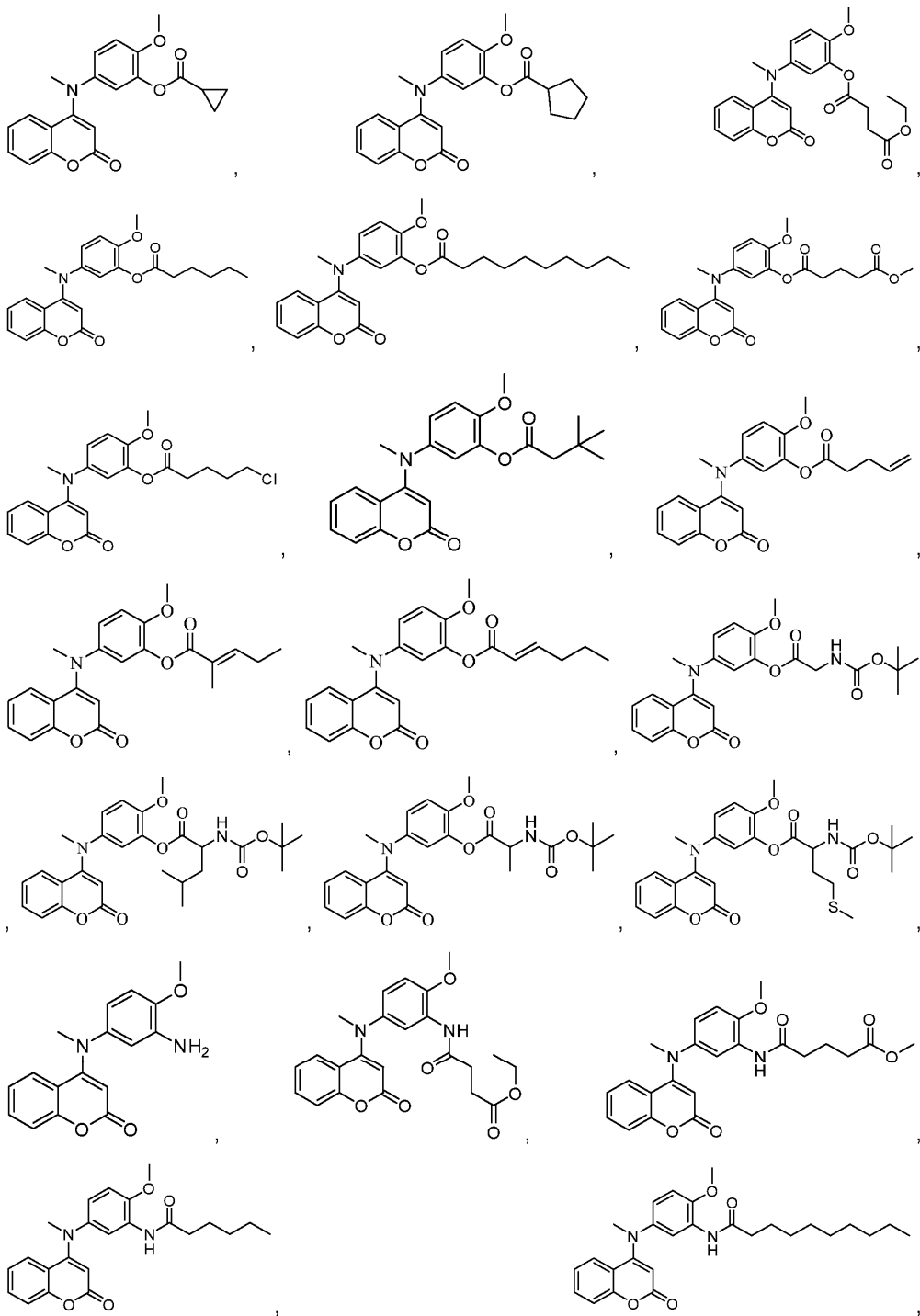
R₁₈ представляет собой C₁-C₄-алкил или -H.

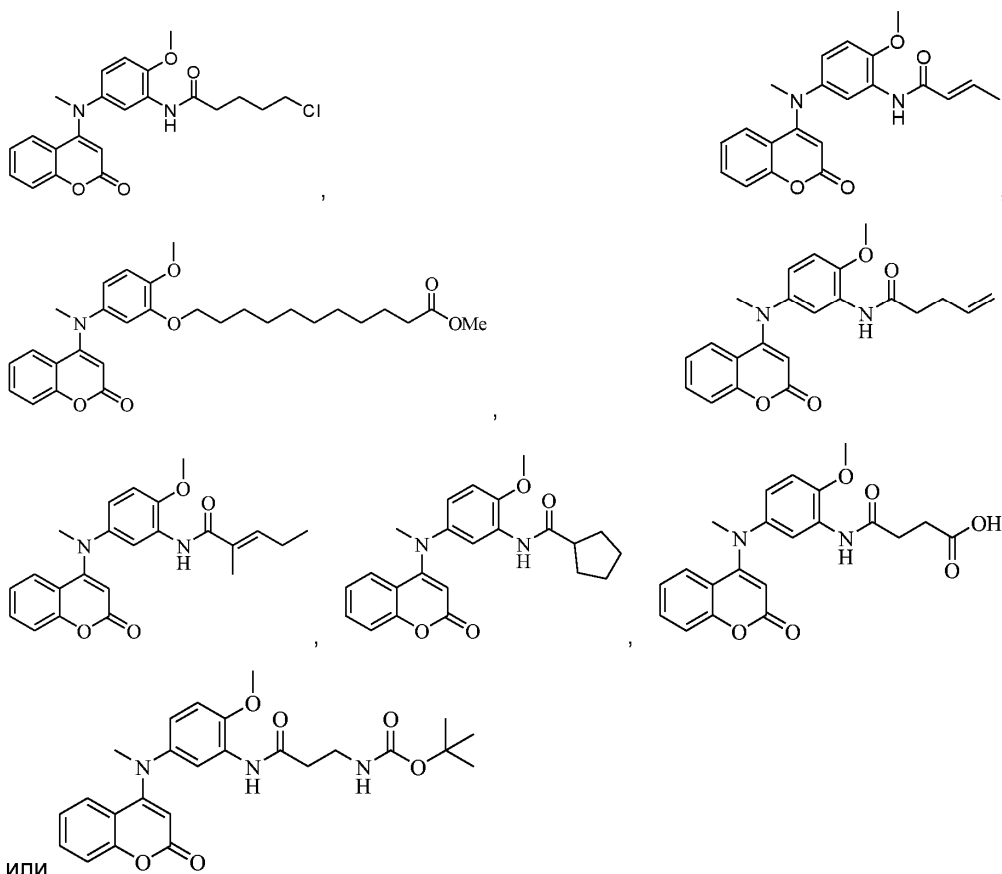
Описанные выше 4-замещенные производные кумарина имеют структурную формулу











или

В изобретении также предложены фармацевтически приемлемые соли описанных выше 4-замещенных производных кумарина.

В изобретении также предложена комбинация лекарственных средств, обладающая противоопухолевой активностью, состоящая из активных ингредиентов, представляющих собой 4-замещенные производные кумарина по изобретению или соли по изобретению, и фармацевтически приемлемого носителя.

В изобретении также предложен фармацевтически приемлемый препарат, обладающий противоопухолевой активностью, содержащий 4-замещенные производные кумарина по изобретению или соли по изобретению, имеющий форму таблеток, пероральных средств, суппозитория, микропилюль, инфузионных растворов, инъекционных растворов, лиофилизированных порошков для инъекций, капсул, аэрозолей, диспергируемых таблеток и мазей.

В изобретении также предложено применение 4-замещенных производных кумарина по изобретению или солей по изобретению в получении лекарственных средств для лечения опухолей, где опухоли относятся к любому из: лейкоза, рака яичника, рака предстательной железы, рака яичка, меланомы, рака поджелудочной железы, лимфомы, рака молочной железы, рака желудка, рака головного мозга, рака легкого, рака печени или рака ободочной кишки.

В изобретении также предложено применение 4-замещенных производных кумарина по изобретению или солей по изобретению в получении лекарственных средств для лечения опухолей, состоящих из чувствительных и лекарственно-резистентных опухолевых клеток.

В изобретении также предложено применение 4-замещенных производных кумарина по изобретению или солей по изобретению в получении лекарственных средств для лечения воспалений.

Мишенями противоопухолевых лекарственных средств являются линии клеток немелкоклеточной карциномы легкого человека NCI-H460, мелкоклеточного рака легкого человека NCI-H446, гепатоцеллюлярной карциномы человека HepG2, карциномы ободочной кишки человека HCT116, рака предстательной железы человека PC-3 и меланомы человека A375.

Описанные выше таблетки и капсулы могут содержать связующее вещество (такое как гуммиарабик, кукурузный крахмал или желатин), вспомогательное вещество (такой как дикальцийфосфат); разрыхлитель (такой как кукурузный крахмал, картофельный крахмал, альгиновая кислота и т.д.), смазывающее вещество (такое как стеарат магния), подсластитель (такой как сахароза, фруктоза, лактоза и т.д.) или корригент (такой как мята и т.д.). Препарат, представляющий собой капсулу, может также содержать жидкий носитель (такой как растительное масло или полиэтиленгликоль).

Кроме того, активные соединения на основе 4-замещенных производных кумарина и их соли, предложенные в изобретении, можно включать в препараты и устройства пролонгированного высвобождения.

Активные соединения на основе 4-замещенных производных кумарина и их соли, предложенные в

изобретении, можно также вводить посредством инфузии или инъекции в вены или брюшную полость.

Активные соединения на основе 4-замещенных производных кумарина и их соли, предложенные в изобретении, можно также применять для приготовления их водных растворов или смешивать с нетоксичными поверхностно-активными веществами (ПАВ), а также можно применять для приготовления по меньшей мере одного из дисперсий из глицерина, жидкого макрогола и триглицерида. Описанные выше препараты могут также содержать консерванты для предотвращения роста микроорганизмов.

Лекарственные препараты для инъекции или инфузии могут содержать асептический водный раствор, дисперсию или стерильный порошок активных соединений на основе 4-замещенных производных кумарина и их солей, предложенных в изобретении. Жидким носителем для дисперсии может быть растворитель или жидкая дисперсионная среда, в том числе, по меньшей мере, выбранные из воды, этилового спирта, полиола (такого как глицерин, пропиленгликоль, жидкий макрогол и т.д.), растительного масла или нетоксичного глицерида.

Кроме того, эти препараты также включают лекарственные средства, приготовленные путем применения новых лекарственных препаратов, таких как липосома, жировая эмульсия, микросфера и наносфера, например, путем применения дисперсионной системы, состоящей из частиц, включающей полимерные мицеллы, наноэмульсию, субмикроэмульсию, микрокапсулу, микросферу, липосому и нисомы и т.д.

Предложенные в изобретении соединения обладают высокой противоопухолевой активностью, характеризующейся значением IC_{50} для множественных линий опухолевых клеток, равным 0,01-5 нмоль/л, а также обладают относительно хорошим эффектом при ингибировании полимеризации микротрубочек и обладают разнообразными видами биологической активности и низкой токсичности, что обеспечивает новые возможности приготовления лекарственных средств для лечения рака, состоящего из чувствительных и резистентных к лекарственным средствам раковых клеток.

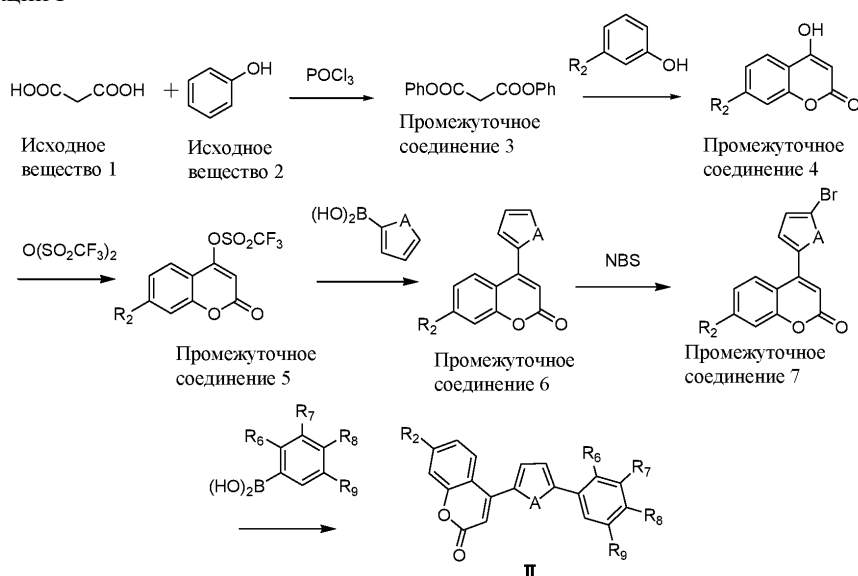
Краткое описание графических материалов

- Фиг. 1 - действие некоторых соединений на деполимеризацию микротрубочек;
 фиг. 2 - действие некоторых соединений на деполимеризацию микротрубочек;
 фиг. 3 - диаграмма в виде кривой опухолевого роста в модели карциномы ободочной кишки C26 для каждого соединений;
 фиг. 4 - диаграмма в виде кривой опухолевого роста в модели карциномы легкого H460 для каждого соединений;
 фиг. 5 - кривая полимеризации микротрубочек *in vitro*. Степень полимеризации микротрубочек определяют путем применения считывающего устройства для микропланшетов для мониторинга оптической плотности при длине волны 340 нм при 37°C;
 фиг. 6 - тест на заживление раны и тест на ангиогенез. Тест на заживление раны и тест на ангиогенез, основанные на клетках HUVEC, проводят для доказательства антиангиогенной активности соединений по изобретению.

Подробное описание

Способы получения 4-замещенных производных кумарина.

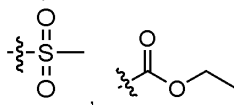
Путь реакции I



где А представляет собой О или S; R₂ представляет собой C₁-C₈-алкокси, -H,



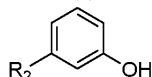
C_1 - C_8 -алкил, атом галогена или C_3 - C_8 -циклоалкил; R_6 - R_9 каждый независимо представляет собой -H, C_1 - C_8 -алкокси, атом галогена, C_1 - C_8 -алкил,



или C_1 - C_8 -алкил, замещенный атомом галогена; R_{19} и R_{20} каждый независимо представляет собой C_1 - C_8 -алкил, атом галогена или -H.

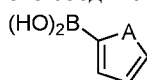
Конкретные стадии описанного выше пути реакции I являются такими, как описано ниже:

- 1) сначала подвергают взаимодействию 10-20 эквивалентов оксихлорида фосфора и 1 эквивалент исходного вещества 1 (малоновой кислоты) в течение по меньшей мере 2 ч при 80-100°C, удаляют не прореагировавший оксихлорид фосфора, затем подвергают взаимодействию с 2-3 эквивалентами исходного вещества 2 (фенола) в течение 6-8 ч при 25-50°C в органическом растворителе с получением промежуточного соединения 3; органический растворитель представляет собой любой растворитель, выбранный из N,N-диметилформамида (ДМФА), метилового спирта, этилового спирта, метилбензола, этилацетата, пиридина, тетрагидрофурана, дихлорметана или тетрахлорида углерода;
- 2) помещают 1 эквивалент промежуточного соединения 3, 1-2 эквивалента



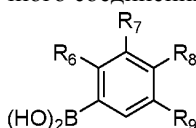
и 3-5 эквивалентов основания в органическом растворителе и подвергают взаимодействию путем кипячения с обратным холодильником в течение 6-12 ч с получением промежуточного соединения 4; основание представляет собой любое основание, выбранное из триэтиламина, диизопропилэтиламина (DIPEA), пиридина, карбоната калия, карбоната натрия, гидроксида калия, гидроксида натрия или гидрида натрия; органический растворитель представляет собой любой растворитель, выбранный из N,N-диметилформамида (ДМФА), метилового спирта, этилового спирта, метилбензола, этилацетата, пиридина, тетрагидрофурана, дихлорметана или тетрахлорида углерода;

- 3) растворяют 1 эквивалент промежуточного соединения 4 и 2-4 эквивалента трифторметансульфонового ангидрида в органическом растворителе и подвергают взаимодействию в течение 2-8 ч при 0-50°C с получением промежуточного соединения 5; органический растворитель представляет собой любой растворитель, выбранный из N,N-диметилформамида (ДМФА), метилового спирта, этилового спирта, метилбензола, этилацетата, пиридина, тетрагидрофурана, дихлорметана или тетрахлорида углерода;
- 4) растворяют 1 эквивалент промежуточного соединения 5 и 1 эквивалент



в органическом растворителе, добавляют 2-5 эквивалентов основания и 0,3-0,8% эквивалентов катализатора и подвергают взаимодействию путем кипячения с обратным холодильником с получением промежуточного соединения 6; основание представляет собой любое основание, выбранное из триэтиламина, диизопропилэтиламина (DIPEA), пиридина, карбоната калия, карбоната натрия, гидроксида калия, гидроксида натрия или гидрида натрия; органический растворитель представляет собой любой растворитель, выбранный из N,N-диметилформамида (ДМФА), метилового спирта, этилового спирта, метилбензола, этилацетата, пиридина, тетрагидрофурана, дихлорметана или тетрахлорида углерода; катализатор представляет собой любой катализатор, выбранный из ацетата палладия, дихлорида палладия, палладия на активированном углеороде (10% Pd) и тетраакис(трифенилфосфин)палладия;

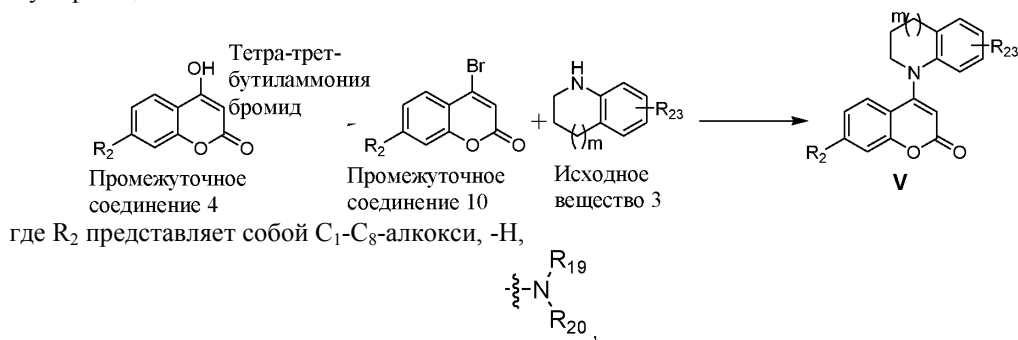
- 5) растворяют 1 эквивалент промежуточного соединения 6 в органическом растворителе и подвергают взаимодействию с 1-2 эквивалентами NBS (N-бромсукцинимид) с получением промежуточного соединения 7; органический растворитель представляет собой любой растворитель, выбранный из N,N-диметилформамида (ДМФА), метилового спирта, этилового спирта, метилбензола, этилацетата, пиридина, тетрагидрофурана, дихлорметана или тетрахлорида углерода; температура реакции составляет 0-50°C, и время реакции составляет 2-8 ч;
- 6) растворяют 1 эквивалент промежуточного соединения 7 и 1 эквивалент



в органическом растворителе, добавляют 2-5 эквивалентов основания и 0,3-0,8% эквивалентов катализатора и подвергают взаимодействию путем кипячения с обратным холодильником с получением соединения формулы II; основание представляет собой любое основание, выбранное из триэтиламина,

диизопропилэтиламина (DIPEA), пиридина, карбоната калия, карбоната натрия, гидроксида калия, гидроксида натрия или гидрида натрия; органический растворитель представляет собой любой растворитель, выбранный из N,N-диметилформамида (ДМФА), метилового спирта, этилового спирта, метилбензола, этилацетата, пиридина, тетрагидрофурана, дихлорметана или тетрахлорида углерода; катализатор представляет собой любой катализатор, выбранный из ацетата палладия, дихлорида палладия, палладия на активированном углеводе (10% Pd) и тетракис(трифенилфосфин)палладия; время реакции составляет 2-24 ч.

Путь реакции II

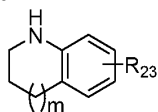


C_1 - C_8 -алкил, атом галогена или C_3 - C_8 -циклоалкил; R_{19} и R_{20} каждый независимо представляет собой C_1 - C_8 -алкил, атом галогена или -H; R_{23} представляет собой C_1 - C_4 -алкокси.

Конкретные стадии описанного выше пути реакции II являются такими, как описано ниже:

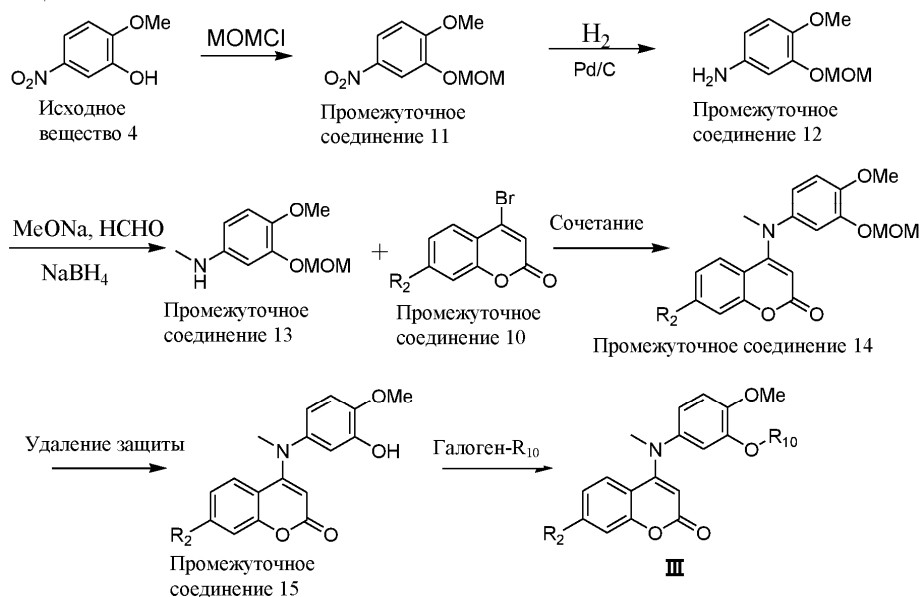
1) помещают 1 эквивалент промежуточного соединения 4 и 2-3 эквивалента тетра-трет-бутиламмония бромида в органический растворитель и подвергают взаимодействию путем кипячения с обратным холодильником с получением промежуточного соединения 10; органический растворитель представляет собой любой растворитель, выбранный из N,N-диметилформамида (ДМФА), метилового спирта, этилового спирта, метилбензола, этилацетата, пиридина, тетрагидрофурана, дихлорметана или тетрахлорида углерода; время реакции составляет 2-8 ч;

2) растворяют 1 эквивалент промежуточного соединения 10 в органическом растворителе, добавляют 2-5 эквивалентов основания и 1 эквивалент



и подвергают взаимодействию путем кипячения с обратным холодильником с получением соединения формулы V; основание представляет собой любое основание, выбранное из триэтиламина, диизопропилэтиламина (DIPEA), пиридина, карбоната калия, карбоната натрия, гидроксида калия, гидроксида натрия или гидрида натрия; органический растворитель представляет собой любой растворитель, выбранный из N,N-диметилформамида (ДМФА), метилового спирта, этилового спирта, метилбензола, этилацетата, пиридина, тетрагидрофурана, дихлорметана или тетрахлорида углерода; время реакции составляет 2-24 часа.

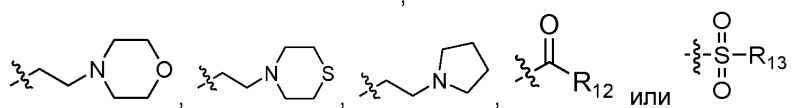
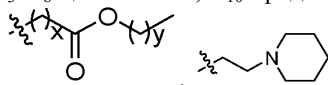
Путь реакции III



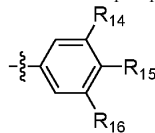
где R_2 представляет собой C_1 - C_8 -алкокси, -H,



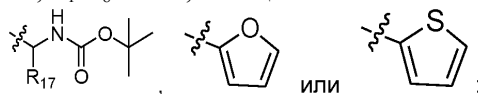
C_1 - C_8 -алкил, атом галогена или C_3 - C_8 -циклоалкил; R_{10} представляет собой



x равен 1-4, y равен 1-4; R_{12} представляет собой C_1 - C_{10} -алкил,

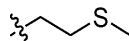


атом галогена, C_2 - C_8 -алкенил, C_1 - C_8 -алкил, замещенный атомом галогена, C_3 - C_8 -циклоалкилом,



R_{13} представляет собой C_1 - C_8 -алкил, фенил, замещенный C_1 - C_8 -алкилом, или фенил, замещенный атомом галогена;

R_{14} - R_{16} каждый независимо представляет собой C_1 - C_8 -алкил, атом галогена, -H, C_1 - C_8 -алкокси или $-NH_2$, и они не представляют собой -H одновременно; R_{17} представляет собой C_1 - C_8 -алкил, атом галогена, -H или



Конкретные стадии описанного выше пути реакции III являются такими, как описано ниже:

1) растворяют 1 эквивалент исходного вещества 4 в органическом растворителе, добавляют по каплям 3-5 эквивалентов хлорметилметилового эфира (МОМСИ) и подвергают взаимодействию с получением промежуточного соединения 11; органический растворитель представляет собой любой растворитель, выбранный из N,N-диметилформамида (ДМФА), метилового спирта, этилового спирта, метилбензола, этилацетата, пиридина, тетрагидрофурана, дихлорметана или тетрахлорида углерода; температура реакции составляет 0-80°C, и время реакции составляет 2-12 ч;

2) растворяют 1 эквивалент промежуточного соединения 11 в органическом растворителе, добавляют 1-2% эквивалента катализатора палладия на активированном углероде, подают 5-20 эквивалентов водорода и подвергают реакции восстановления с получением промежуточного соединения 12; палладиевый катализатор представляет собой палладий на активированном углероде, содержащий 10% Pd; органический растворитель представляет собой любой растворитель, выбранный из N,N-диметилформамида (ДМФА), метилового спирта, этилового спирта, метилбензола, этилацетата, пиридина, тетрагидрофурана, дихлорметана или тетрахлорида углерода; температура реакции составляет 0-40°C, и время реакции составляет 2-12 ч;

3) растворяют 1 эквивалент промежуточного соединения 12 в органическом растворителе, добавляют 3-5 эквивалентов метилата натрия, добавляют 1-3 эквивалента параформальдегида, перемешивают для взаимодействия в течение ночи, добавляют 1-2 эквивалента боргидрида натрия в субстрате реакции и подвергают взаимодействию путем кипячения с обратным холодильником с получением соединения 13; органический растворитель представляет собой любой растворитель, выбранный из N,N-диметилформамида (ДМФА), метилового спирта, этилового спирта, метилбензола, этилацетата, пиридина, тетрагидрофурана, дихлорметана или тетрахлорида углерода; температура образования флегмы составляет 0-80°C, и время кипячения с обратным холодильником составляет 2-12 ч;

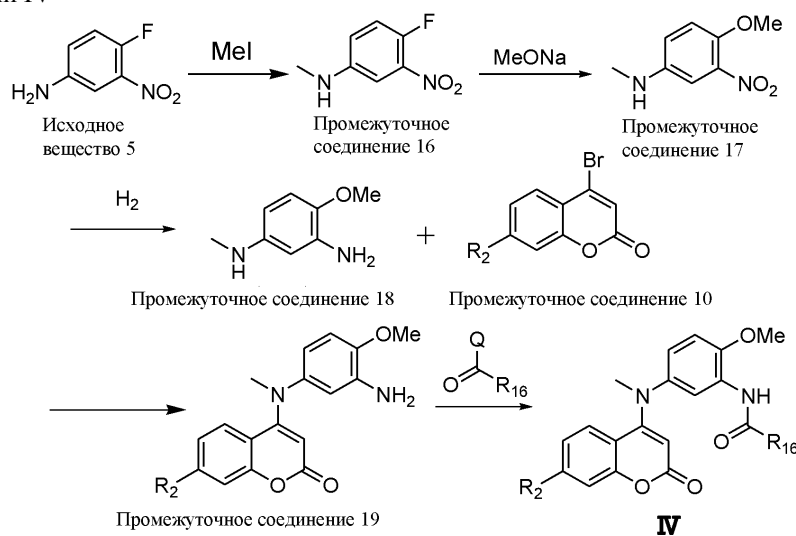
4) растворяют 1 эквивалент соединения 13 и 1 эквивалент промежуточного соединения 10 в органическом растворителе, добавляют 2-3 эквивалента основания подвергают взаимодействию путем кипячения с обратным холодильником с получением промежуточного соединения 14; основание представляет собой любое основание, выбранное из триэтиламина, диизопропилэтиламина (DIPEA), пиридина, карбоната калия, карбоната натрия, гидроксида калия, гидроксида натрия или гидрида натрия; органический растворитель представляет собой любой растворитель, выбранный из N,N-диметилформамида (ДМФА), метилового спирта, этилового спирта, метилбензола, этилацетата, пиридина, тетрагидрофурана, дихлорметана или тетрахлорида углерода; время реакции составляет 2-24 ч;

5) растворяют 1 эквивалент промежуточного соединения 14 в органическом растворителе, добавляют 2-3 эквивалента кислот и подвергают взаимодействию с получением промежуточного соединения 15; кислота представляет собой любую кислоту, выбранную из концентрированной хлористоводородной

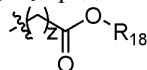
кислоты, раствора хлорида водорода в этилацетате, трифторуксусной кислоты, метансульфоновой кислоты или серной кислоты; органический растворитель представляет собой любой растворитель, выбранный из N,N-диметилформамида (ДМФА), метилового спирта, этилового спирта, метилбензола, этилацетата, пиридина, тетрагидрофурана, дихлорметана или тетрахлорида углерода; температура реакции составляет 40-100°C, и время реакции составляет 2-24 ч;

6) растворяют 1 эквивалент промежуточного соединения 15 в органическом растворителе, добавляют 2-3 эквивалента основания, добавляют 1-3 эквивалента галоген- R_{10} и подвергают взаимодействию с получением соединения формулы III; используемое в реакции основание представляет собой любое основание, выбранное из триэтиламина, диизопропилэтиламина (DIPEA), пиридина, карбоната калия, карбоната натрия, гидроксида калия, гидроксида натрия или гидрида натрия; органический растворитель представляет собой любой растворитель, выбранный из N,N-диметилформамида (ДМФА), метилового спирта, этилового спирта, метилбензола, этилацетата, пиридина, тетрагидрофурана, дихлорметана или тетрахлорида углерода; температура реакции составляет 0-60°C, и время реакции составляет 1-12 ч.

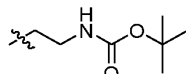
Путь реакции IV



где Q представляет собой атом галогена; R_1 представляет собой C_1 - C_{10} -алкил,



C_2 - C_8 -алкенил, C_1 - C_4 -алкил, замещенный атомом галогена, C_3 - C_8 -циклоалкил,



или $-NH_2$; z равен 1-10; R_{18} представляет собой C_1 - C_4 -алкил, атом галогена или -H.

Конкретные стадии описанного выше пути IV являются такими, как описано ниже:

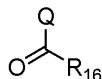
1) растворяют 1 эквивалент исходного вещества 5 в органическом растворителе, добавляют 2-3 эквивалента основания, добавляют по каплям 2-3 эквивалента йодметана и подвергают взаимодействию с получением промежуточного соединения 16; основание представляет собой любое основание, выбранное из триэтиламина, диизопропилэтиламина (DIPEA), пиридина, карбоната калия, карбоната натрия, гидроксида калия, гидроксида натрия или гидрида натрия; органический растворитель представляет собой любой растворитель, выбранный из N,N-диметилформамида (ДМФА), метилового спирта, этилового спирта, метилбензола, этилацетата, пиридина, тетрагидрофурана, дихлорметана или тетрахлорида углерода; температура реакции составляет 0-60°C, и время реакции составляет 1-12 ч;

2) растворяют 1 эквивалент промежуточного соединения 16 в органическом растворителе, добавляют 3-5 эквивалента метилата натрия и подвергают взаимодействию путем кипячения с обратным холодильником с получением промежуточного соединения 17; органический растворитель представляет собой любой растворитель, выбранный из N,N-диметилформамида (ДМФА), метилового спирта, этилового спирта, метилбензола, этилацетата, пиридина, тетрагидрофурана, дихлорметана или тетрахлорида углерода; время реакции составляет 2-24 ч;

3) растворяют 1 эквивалент промежуточного соединения 17 в органическом растворителе, добавляют 1-2% эквивалента палладия на активированном углеводе, подают 5-20 эквивалентов водорода и подвергают реакции восстановления с получением промежуточного соединения 18; органический растворитель представляет собой любой растворитель, выбранный из N,N-диметилформамида (ДМФА), метилового спирта, этилового спирта, метилбензола, этилацетата, пиридина, тетрагидрофурана, дихлорметана или тетрахлорида углерода; температура реакции может составлять 20-100°C, и время реакции составляет 2-24 ч;

4) растворяют 1 эквивалент промежуточного соединения 18 и 1 эквивалент промежуточного соединения 10 в органическом растворителе, добавляют 2-5 эквивалентов основания и подвергают взаимодействию путем кипячения с обратным холодильником с получением промежуточного соединения 19; основание представляет собой любое основание, выбранное из триэтиламина, диизопропилэтиламина (DIPEA), пиридина, карбоната калия, карбоната натрия, гидроксида калия, гидроксида натрия или гидрида натрия; органический растворитель представляет собой любой растворитель, выбранный из N,N-диметилформамида (ДМФА), метилового спирта, этилового спирта, метилбензола, этилацетата, пиридина, тетрагидрофурана, дихлорметана или тетрахлорида углерода; время реакции составляет 2-24 ч;

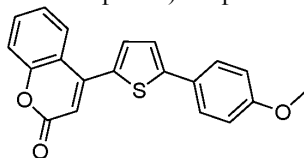
5) растворяют промежуточное соединение 19 в органическом растворителе, добавляют 2-5 эквивалента основания, добавляют 1-3 эквивалента



и подвергают взаимодействию путем кипячения с обратным холодильником с получением соединения формулы IV; основание представляет собой любое основание, выбранное из триэтиламина, диизопропилэтиламина (DIPEA), пиридина, карбоната калия, карбоната натрия, гидроксида калия, гидроксида натрия или гидрида натрия; органический растворитель представляет собой любой растворитель, выбранный из N,N-диметилформамида (ДМФА), метилового спирта, этилового спирта, метилбензола, этилацетата, пиридина, тетрагидрофурана, дихлорметана или тетрахлорида углерода; температура реакции может составлять 0-60°C, и время реакции составляет 1-12 ч.

Последующее подробное описание предпочтительных воплощений изобретения предназначено для дополнительной, более подробной, но не имеющей ограничительного характера иллюстрации описанного выше содержания изобретения.

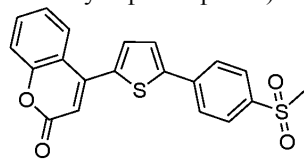
Воплощение 1: получение 4-(5-(4-метоксифенил)тиофен-2-ил)-кумарина (COUM-1)



В защитной атмосфере азота растворяют соответствующее промежуточное соединение 7a (4-(5-бромтиофен-2-ил)кумарин), 4-метоксифенилбороновую кислоту, тетракис(трифенилфосфин)палладий и безводный карбонат цезия в безводном растворе ДМФА. Кипятят с обратным холодильником в течение 12 ч в безводных и анаэробных условиях. После завершения реакции охлаждают раствор до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, последовательно промывают водой и насыщенным раствором соли, высушивают над безводным сульфатом натрия в течение 30 мин и удаляют органический растворитель с получением неочищенного продукта. Проводят флэш-хроматографию со смесью этилацетат:петролейный эфир 1:10 с получением светло-желтого продукта при выходе 58%.

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО) δ 7.65 (dd, J=11.0, 3.9 Гц, 2H), 7.51 (d, J=8.0 Гц, 1H), 7.36 (dt, J=14.3, 6.8 Гц, 2H), 7.18-7.08 (m, 4H), 6.81 (d, J=8.7 Гц, 2H), 3.72 (s, 3H). Масс-спектрометрия (МС) (ионизация электрораспылением (ИЭР), m/z): 357,1 [M + Na]⁺.

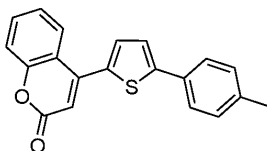
Воплощение 2: получение 4-(5-(4-метилсульфонилфенил)тиофен-2-ил)кумарина (COUM-2)



В защитной атмосфере азота растворяют соответствующее промежуточное соединение 7a (4-(5-бромтиофен-2-ил)кумарин), 4-метилсульфонилфенилбороновую кислоту, тетракис(трифенилфосфин)палладий и безводный карбонат цезия в безводном растворе ДМФА. Кипятят с обратным холодильником в течение 12 ч в безводных и анаэробных условиях. После завершения реакции раствор охлаждают до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, последовательно промывают водой и насыщенным раствором соли, высушивают над безводным сульфатом натрия в течение 30 мин и удаляют органический растворитель с получением неочищенного продукта. Проводят флэш-хроматографию со смесью этилацетат:петролейный эфир 1:10 с получением светло-желтого продукта при выходе 56%.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7.84 (d, J=8.4 Гц, 2H), 7.61 (t, J=7.8 Гц, 1H), 7.59-7.54 (m, 1H), 7.50-7.39 (m, 4H), 7.29 (t, J=7.7 Гц, 1H), 7.03 (dd, J=5.0, 3.7 Гц, 1H), 6.99-6.95 (m, 1H), 3.04 (s, 3H). МС (ИЭР, m/z): 405,0 [M + Na]⁺.

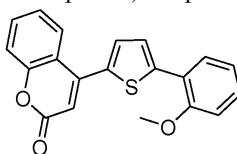
Воплощение 3: получение 4-(5-(4-метилфенил)тиофен-2-ил)кумарина (COUM-3)



В защитной атмосфере азота растворяют соответствующее промежуточное соединение 7a, 4-метилфенилбороновую кислоту, тетраakis(трифенилфосфин)палладий и безводный карбонат цезия в безводном растворе ДМФА. Кипятят с обратным холодильником в течение 12 ч в безводных и анаэробных условиях. После завершения реакции раствор охлаждают до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, последовательно промывают водой и насыщенным раствором соли, высушивают над безводным сульфатом натрия в течение 30 мин и удаляют органический растворитель с получением неочищенного продукта. Проводят флэш-хроматографию со смесью этилацетат:петролейный эфир 1:10 с получением светло-желтого продукта при выходе 59%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.58-7.50 (m, 2H), 7.42 (d, $J=8.2$ Гц, 1H), 7.37 (dd, $J=5.0, 1.0$ Гц, 1H), 7.23 (d, $J=7.1$ Гц, 1H), 7.08 (q, $J=8.3$ Гц, 4H), 7.05-7.01 (m, 1H), 7.01-6.97 (m, 1H), 2.30 (s, 3H). МС (ИЭР, m/z): 341,1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

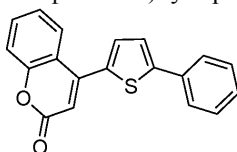
Воплощение 4: получение 4-(5-(2-метоксифенил)тиофен-2-ил)кумарина (COUM-4)



В защитной атмосфере азота растворяют соответствующее промежуточное соединение 7a, 2-метоксифенилбороновую кислоту, тетраakis(трифенилфосфин)палладий и безводный карбонат цезия в безводном растворе ДМФА. Кипятят с обратным холодильником в течение 12 ч в безводных и анаэробных условиях. После завершения реакции раствор охлаждают до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, последовательно промывают водой и насыщенным раствором соли, высушивают над безводным сульфатом натрия в течение 30 мин и удаляют органический растворитель с получением неочищенного продукта. Проводят флэш-хроматографию со смесью этилацетат:петролейный эфир 1:10 с получением светло-желтого продукта, при выходе 52%.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 7.73-7.65 (m, 1H), 7.63 (dd, $J=4.9, 1.2$ Гц, 1H), 7.52 (d, $J=8.3$ Гц, 1H), 7.44-7.33 (m, 2H), 7.29-7.23 (m, 1H), 7.11-7.01 (m, 3H), 6.96 (d, $J=8.3$ Гц, 1H), 6.83 (t, $J=7.4$ Гц, 1H), 3.68 (s, 3H). МС (ИЭР, m/z): 357,1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

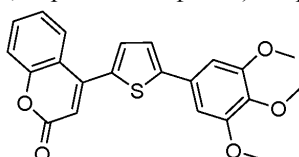
Воплощение 5: получение 4-(5-фенилтиофен-2-ил)кумарина (COUM-5)



В защитной атмосфере азота растворяют соответствующее промежуточное соединение 7a, фенилбороновую кислоту, тетраakis(трифенилфосфин)палладий и безводный карбонат цезия в безводном растворе ДМФА. Кипятят с обратным холодильником в течение 12 ч в безводных и анаэробных условиях. После завершения реакции раствор охлаждают до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, последовательно промывают водой и насыщенным раствором соли, высушивают над безводным сульфатом натрия в течение 30 мин и удаляют органический растворитель с получением неочищенного продукта. Проводят флэш-хроматографию со смесью этилацетат:петролейный эфир 1:10 с получением светло-желтого продукта при выходе 62%.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 7.68 (d, $J=7.0$ Гц, 1H), 7.65 (dd, $J=5.0, 1.0$ Гц, 1H), 7.52 (d, $J=8.2$ Гц, 1H), 7.43-7.39 (m, 1H), 7.35 (t, $J=7.5$ Гц, 1H), 7.29-7.19 (m, 5H), 7.15-7.12 (m, 1H), 7.08 (dd, $J=4.9, 3.6$ Гц, 1H). МС (ИЭР, m/z): 327,1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Воплощение 6: получение 4-(5-(3,4,5-триметоксифенил)тиофен-2-ил)кумарина (COUM-6)

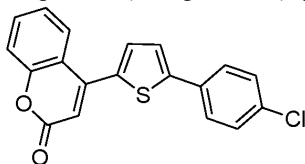


В защитной атмосфере азота растворяют соответствующее промежуточное соединение 7a, 3,4,5-триметоксифенилбороновую кислоту, тетраakis(трифенилфосфин)палладий и безводный карбонат цезия

в безводном растворе ДМФА. Кипятят с обратным холодильником в течение 12 ч в безводных и анаэробных условиях. После завершения реакции раствор охлаждают до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, последовательно промывают водой и насыщенным раствором соли, высушивают над безводным сульфатом натрия в течение 30 мин и удаляют органический растворитель с получением неочищенного продукта. Проводят флэш-хроматографию со смесью этилацетат:петролейный эфир 1:10 с получением светло-желтого продукта при выходе 48%.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО) δ 7.70 (d, $J=4.9$ Гц, 1H), 7.68-7.64 (m, 1H), 7.52 (d, $J=7.9$ Гц, 1H), 7.42 (d, $J=6.8$ Гц, 1H), 7.36 (t, $J=7.3$ Гц, 1H), 7.17 (d, $J=2.4$ Гц, 1H), 7.15-7.11 (m, 1H), 6.55 (s, 2H), 6.05 (s, 1H), 3.64 (s, 3H), 3.61 (s, 5H). МС (ИЭР, m/z): 417,1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

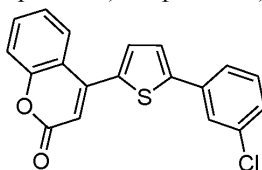
Воплощение 7: получение 4-(5-(4-хлорбензол)тиофен-2-ил)кумарина (COUM-7)



В защитной атмосфере азота растворяют соответствующее промежуточное соединение 7a, 4-хлорфенилбороновую кислоту, тетраakis(трифенилфосфин)палладий и безводный карбонат цезия в безводном растворе ДМФА. Кипятят с обратным холодильником в течение 12 ч в безводных и анаэробных условиях. После завершения реакции раствор охлаждают до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, последовательно промывают водой и насыщенным раствором соли, высушивают над безводным сульфатом натрия в течение 30 мин и удаляют органический растворитель с получением неочищенного продукта. Проводят флэш-хроматографию со смесью этилацетат:петролейный эфир 1:10 с получением светло-желтого продукта при выходе 52%.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО) δ 7.72-7.64 (m, 2H), 7.53 (d, $J=8.2$ Гц, 1H), 7.40 (dd, $J=8.7, 7.4$ Гц, 2H), 7.37-7.30 (m, 3H), 7.25 (d, $J=8.5$ Гц, 2H), 7.17-7.14 (m, 1H), 7.13-7.09 (m, 1H). МС (ИЭР, m/z): 361,1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

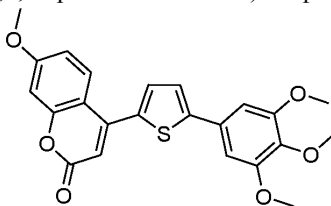
Воплощение 8: получение 4-(5-(3-хлорбензол)тиофен-2-ил)кумарина (COUM-8)



В защитной атмосфере азота растворяют соответствующее промежуточное соединение 7a, 3-хлорфенилбороновую кислоту, тетраakis(трифенилфосфин)палладий и безводный карбонат цезия в безводном растворе ДМФА. Кипятят с обратным холодильником в течение 12 ч в безводных и анаэробных условиях. После завершения реакции раствор охлаждают до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, последовательно промывают водой и насыщенным раствором соли, высушивают над безводным сульфатом натрия в течение 30 мин и удаляют органический растворитель с получением неочищенного продукта. Проводят флэш-хроматографию со смесью этилацетат:петролейный эфир 1:10 с получением светло-желтого продукта при выходе 53%.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО) δ 7.72-7.64 (m, 2H), 7.56-7.50 (m, 1H), 7.45-7.39 (m, 1H), 7.37 (d, $J=7.8$ Гц, 1H), 7.36-7.26 (m, 3H), 7.18 (dd, $J=12.5, 5.1$ Гц, 2H), 7.12 (dd, $J=4.9, 3.6$ Гц, 1H). МС (ИЭР, m/z): 361,1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Воплощение 9: получение 4-(5-(3,4,5-триметоксибензол)тиофен-2-ил)-7-метоксикумарина (COUM-9)

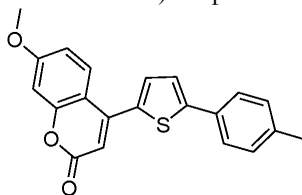


В защитной атмосфере азота растворяют соответствующее промежуточное соединение 7b (4-(5-бромтиофен-2-ил)-7-метоксикумарин), 3,4,5-триметоксифенилбороновую кислоту, тетраakis(трифенилфосфин)палладий и безводный карбонат цезия в безводном растворе ДМФА. Кипятят с обратным холодильником в течение 12 ч в безводных и анаэробных условиях. После завершения реакции раствор охлаждают до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, последовательно промывают водой и насыщенным

раствором соли, высушивают над безводным сульфатом натрия в течение 30 мин и удаляют органический растворитель с получением неочищенного продукта. Проводят флэш-хроматографию со смесью этилацетат:петролейный эфир 1:10 с получением светло-желтого продукта, при выходе 51%.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО) δ 7.71-7.66 (m, 1H), 7.32 (d, $J=8.9$ Гц, 1H), 7.17-7.09 (m, 3H), 6.96 (dd, $J=8.9, 2.4$ Гц, 1H), 6.51 (s, 2H), 3.89 (s, 3H), 3.63 (s, 3H), 3.60 (s, 5H). МС (ИЭР, m/z): 447,1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

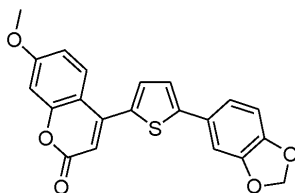
Воплощение 10: получение 4-(5-(4-метилбензол)тиофен-2-ил)-7-метоксилкумарина (COUM-10)



В защитной атмосфере азота растворяют соответствующее промежуточное соединение 7b, 4-метилфенилбороновую кислоту, тетракис(трифенилфосфин)палладий и безводный карбонат цезия в безводном растворе ДМФА. Кипятят с обратным холодильником в течение 12 ч в безводных и анаэробных условиях. После завершения реакции раствор охлаждают до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, последовательно промывают водой и насыщенным раствором соли, высушивают над безводным сульфатом натрия в течение 30 мин и удаляют органический растворитель с получением неочищенного продукта. Проводят флэш-хроматографию со смесью этилацетат:петролейный эфир 1:10 с получением светло-желтого продукта при выходе 59%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.64 (d, $J=4.4$ Гц, 1H), 7.28 (d, $J=8.9$ Гц, 1H), 7.15-7.01 (m, 7H), 6.95 (dd, $J=8.9, 2.0$ Гц, 1H), 3.88 (s, 3H), 2.50 (s, 2H). МС (ИЭР, m/z): 371,1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

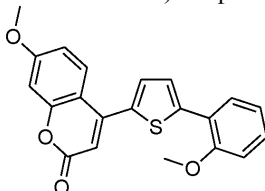
Воплощение 11: получение 4-(5-(3,4-(метилендиокси)бензол)тиофен-2-ил)-7-метоксилкумарин (COUM-11)



В защитной атмосфере азота растворяют соответствующее промежуточное соединение 7b, 3,4-(метилендиокси)фенилбороновую кислоту, тетракис(трифенилфосфин)палладий и безводный карбонат цезия в безводном растворе ДМФА. Кипятят с обратным холодильником в течение 12 ч в безводных и анаэробных условиях. После завершения реакции раствор охлаждают до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, последовательно промывают водой и насыщенным раствором соли, высушивают над безводным сульфатом натрия в течение 30 мин и удаляют органический растворитель с получением неочищенного продукта. Проводят флэш-хроматографию со смесью этилацетат:петролейный эфир 1:10 с получением светло-желтого продукта при выходе 50%.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО) δ 7.72-7.65 (m, 1H), 7.29 (d, $J=8.9$ Гц, 1H), 7.17-7.13 (m, 1H), 7.11 (d, $J=4.8$ Гц, 2H), 6.95 (dd, $J=8.9, 2.3$ Гц, 1H), 6.81-6.74 (m, 2H), 6.62 (dd, $J=8.0, 1.3$ Гц, 1H), 5.99 (s, 2H), 3.88 (s, 3H). МС (ИЭР, m/z): 401,1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Воплощение 12: получение 4-(5-(2-метоксибензол)тиофен-2-ил)-7-метоксилкумарина (COUM-12)

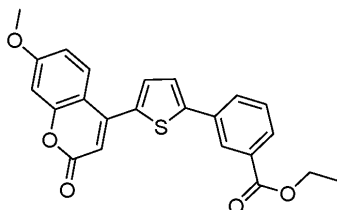


В защитной атмосфере азота растворяют соответствующее промежуточное соединение 7b, 2-метоксифенилбороновую кислоту, тетракис(трифенилфосфин)палладий и безводный карбонат цезия в безводном растворе ДМФА. Кипятят с обратным холодильником в течение 12 ч в безводных и анаэробных условиях. После завершения реакции раствор охлаждают до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, последовательно промывают водой и насыщенным раствором соли, высушивают над безводным сульфатом натрия в течение 30 мин и удаляют органический растворитель с получением неочищенного продукта. Проводят флэш-хроматографию со смесью этилацетат:петролейный эфир 1:10 с получением светло-желтого продукта при выходе 55%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.61 (dd, $J=3.7, 2.3$ Гц, 1H), 7.31 (d, $J=8.9$ Гц, 1H), 7.25 (t, $J=7.8$ Гц, 1H),

7.12 (d, $J=2.1$ Гц, 1H), 7.05 (d, $J=2.3$ Гц, 2H), 7.01 (d, $J=7.4$ Гц, 1H), 6.95 (dd, $J=8.3, 3.3$ Гц, 2H), 6.81 (t, $J=7.4$ Гц, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.67 (s, 3H). МС (ИЭР, m/z): 387,1 $[M + Na]^+$.

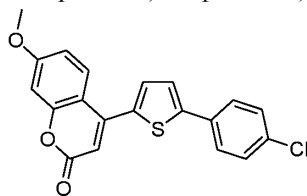
Воплощение 13: получение 4-(5-(3-этоксикарбонилбензол)тиофен-2-ил)-7-метоксилкумарина (COUM-13)



В защитной атмосфере азота растворяют соответствующее промежуточное соединение 7b, 3-этоксикарбонилфенилбороновую кислоту, тетраakis(трифенилфосфин)палладий и безводный карбонат цезия в безводном растворе ДМФА. Кипятят с обратным холодильником в течение 12 ч в безводных и анаэробных условиях. После завершения реакции раствор охлаждают до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, последовательно промывают водой и насыщенным раствором соли, высушивают над безводным сульфатом натрия в течение 30 мин и удаляют органический растворитель с получением неочищенного продукта. Проводят флэш-хроматографию со смесью этилацетат:петролейный эфир 1:10 с получением светло-желтого продукта при выходе 52%.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО) δ 7.82 (d, $J=7.1$ Гц, 2H), 7.65 (d, $J=4.5$ Гц, 1H), 7.45 (d, $J=7.7$ Гц, 1H), 7.40 (d, $J=7.8$ Гц, 1H), 7.32 (d, $J=9.0$ Гц, 1H), 7.13 (dd, $J=6.4, 2.5$ Гц, 2H), 7.10-7.05 (m, 1H), 6.97 (dd, $J=8.9, 2.3$ Гц, 1H), 4.28 (q, $J=7.1$ Гц, 2H), 3.90 (s, 3H), 1.30 (t, $J=7.1$ Гц, 3H). МС (ИЭР, m/z): 429,1 $[M + Na]^+$.

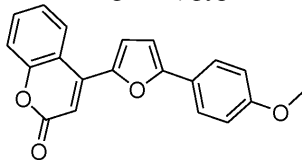
Воплощение 14: получение 4-(5-(4-хлорбензол)тиофен-2-ил)-7-метоксилкумарина (COUM-14)



В защитной атмосфере азота растворяют соответствующее промежуточное соединение 7b, 4-хлорфенилбороновую кислоту, тетраakis(трифенилфосфин)палладий и безводный карбонат цезия в безводном растворе ДМФА. Кипятят с обратным холодильником в течение 12 ч в безводных и анаэробных условиях. После завершения реакции раствор охлаждают до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, последовательно промывают водой и насыщенным раствором соли, высушивают над безводным сульфатом натрия в течение 30 мин и удаляют органический растворитель с получением неочищенного продукта. Проводят флэш-хроматографию со смесью этилацетат:петролейный эфир 1:10 с получением светло-желтого продукта при выходе 55%.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО) δ 3.93 (s, 3H), 7.72-7.64 (m, 2H), 7.53 (d, $J=8.2$ Гц, 1H), 7.40 (dd, $J=8.7, 7.4$ Гц, 2H), 7.37-7.30 (m, 2H), 7.25 (d, $J=8.5$ Гц, 2H), 7.17-7.14 (m, 1H), 7.13-7.09 (m, 1H). МС (ИЭР, m/z): 391,1 $[M + Na]^+$.

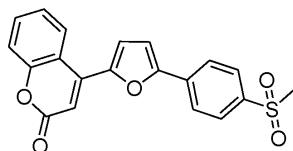
Воплощение 15: получение 4-(5-(4-метоксифенил)фуран-2-ил)кумарина (COUM-15)



В защитной атмосфере азота растворяют соответствующее промежуточное соединение 7c (4-(5-бромфуран-2-ил)кумарин), 4-метоксифенилбороновую кислоту, тетраakis(трифенилфосфин)палладий и безводный карбонат цезия в безводном растворе ДМФА. Кипятят с обратным холодильником в течение 12 ч в безводных и анаэробных условиях. После завершения реакции раствор охлаждают до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, последовательно промывают водой и насыщенным раствором соли, высушивают над безводным сульфатом натрия в течение 30 мин и удаляют органический растворитель с получением неочищенного продукта. Проводят флэш-хроматографию со смесью этилацетат:петролейный эфир 1:10 с получением светло-желтого продукта при выходе 58%.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО) δ 7.65 (dd, $J=11.0, 3.9$ Гц, 2H), 7.51 (d, $J=8.0$ Гц, 1H), 7.36 (dt, $J=14.3, 6.8$ Гц, 2H), 7.18-7.08 (m, 4H), 6.81 (d, $J=8.7$ Гц, 2H), 3.72 (s, 3H). МС (ИЭР, m/z): 341,1 $[M + Na]^+$.

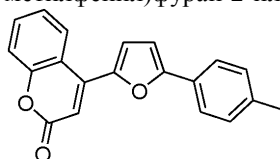
Воплощение 16: получение 4-(5-(4-метилсульфонилфенил)фуран-2-ил)кумарина (COUM-16)



В защитной атмосфере азота растворяют соответствующее промежуточное соединение 7с, 4-метилсульфонилфенилбороновую кислоту, тетраakis(трифенилфосфин)палладий и безводный карбонат цезия в безводном растворе ДМФА. Кипятят с обратным холодильником в течение 12 ч в безводных и анаэробных условиях. После завершения реакции раствор охлаждают до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, последовательно промывают водой и насыщенным раствором соли, высушивают над безводным сульфатом натрия в течение 30 мин и удаляют органический растворитель с получением неочищенного продукта. Проводят флэш-хроматографию со смесью этилацетат:петролейный эфир 1:10 с получением светло-желтого продукта при выходе 56%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.84 (d, $J=8.4$ Гц, 2H), 7.61 (t, $J=7.8$ Гц, 1H), 7.59-7.54 (m, 1H), 7.50-7.39 (m, 4H), 7.29 (t, $J=7.7$ Гц, 1H), 7.03 (dd, $J=5.0, 3.7$ Гц, 1H), 6.99-6.95 (m, 1H), 3.04 (s, 3H). МС (ИЭР, m/z): 489,0 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

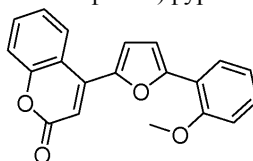
Воплощение 17: получение 4-(5-(4-метилфенил)фуран-2-ил)кумарина (COUM-17)



В защитной атмосфере азота растворяют соответствующее промежуточное соединение 7с, 4-метилфенилбороновую кислоту, тетраakis(трифенилфосфин)палладий и безводный карбонат цезия в безводном растворе ДМФА. Кипятят с обратным холодильником в течение 12 ч в безводных и анаэробных условиях. После завершения реакции раствор охлаждают до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, последовательно промывают водой и насыщенным раствором соли, высушивают над безводным сульфатом натрия в течение 30 мин и удаляют органический растворитель с получением неочищенного продукта. Проводят флэш-хроматографию со смесью этилацетат:петролейный эфир 1:10 с получением светло-желтого продукта при выходе 59%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.58-7.50 (m, 2H), 7.42 (d, $J=8.2$ Гц, 1H), 7.37 (dd, $J=5.0, 1.0$ Гц, 1H), 7.23 (d, $J=7.1$ Гц, 1H), 7.08 (q, $J=8.3$ Гц, 4H), 7.05-7.01 (m, 1H), 7.01-6.97 (m, 1H), 2.30 (s, 3H). МС (ИЭР, m/z): 325,1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

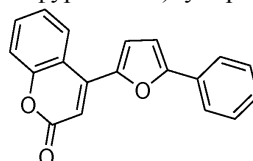
Воплощение 18: получение 4-(5-(2-метоксифенил)фуран-2-ил)кумарина (COUM-18)



В защитной атмосфере азота растворяют соответствующее промежуточное соединение 7с, 2-метоксифенилбороновую кислоту, тетраakis(трифенилфосфин)палладий и безводный карбонат цезия в безводном растворе ДМФА. Кипятят с обратным холодильником в течение 12 ч в безводных и анаэробных условиях. После завершения реакции раствор охлаждают до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, последовательно промывают водой и насыщенным раствором соли, высушивают над безводным сульфатом натрия в течение 30 мин и удаляют органический растворитель с получением неочищенного продукта. Проводят флэш-хроматографию со смесью этилацетат:петролейный эфир 1:10 с получением светло-желтого продукта при выходе 52%.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 7.73-7.65 (m, 1H), 7.63 (dd, $J=4.9, 1.2$ Гц, 1H), 7.52 (d, $J=8.3$ Гц, 1H), 7.44-7.33 (m, 2H), 7.29-7.23 (m, 1H), 7.11-7.01 (m, 3H), 6.96 (d, $J=8.3$ Гц, 1H), 6.83 (t, $J=7.4$ Гц, 1H), 3.68 (s, 3H). МС (ИЭР, m/z): 341,1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Воплощение 19: получение 4-(5-фенилфуран-2-ил)кумарина (COUM-19)

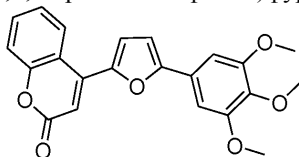


В защитной атмосфере азота растворяют соответствующее промежуточное соединение 7с, фенилбороновую кислоту, тетраakis(трифенилфосфин)палладий и безводный карбонат цезия в безводном рас-

творе ДМФА. Кипятят с обратным холодильником в течение 12 ч в безводных и анаэробных условиях. После завершения реакции раствор охлаждают до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, последовательно промывают водой и насыщенным раствором соли, высушивают над безводным сульфатом натрия в течение 30 мин и удаляют органический растворитель с получением неочищенного продукта. Проводят флэш-хроматографию со смесью этилацетат:петролейный эфир 1:10 с получением светло-желтого продукта при выходе 62%.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО) δ 7.68 (d, $J=7.0$ Гц, 1H), 7.65 (dd, $J=5.0, 1.0$ Гц, 1H), 7.52 (d, $J=8.2$ Гц, 1H), 7.43-7.39 (m, 1H), 7.35 (t, $J=7.5$ Гц, 1H), 7.29-7.19 (m, 5H), 7.15-7.12 (m, 1H), 7.08 (dd, $J=4.9, 3.6$ Гц, 1H). МС (ИЭР, m/z): 311,1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

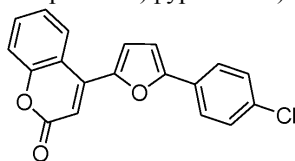
Воплощение 20: получение 4-(5-(3,4,5-триметоксифенил)фуран-2-ил)кумарина (COUM-20)



В защитной атмосфере азота растворяют соответствующее промежуточное соединение 7с, 3,4,5-триметоксифенилбороновую кислоту, тетраakis(трифенилфосфин)палладий и безводный карбонат цезия в безводном растворе ДМФА. Кипятят с обратным холодильником в течение 12 ч в безводных и анаэробных условиях. После завершения реакции раствор охлаждают до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, последовательно промывают водой и насыщенным раствором соли, высушивают над безводным сульфатом натрия в течение 30 мин и удаляют органический растворитель с получением неочищенного продукта. Проводят флэш-хроматографию со смесью этилацетат:петролейный эфир 1:10 с получением светло-желтого продукта при выходе 48%.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО) δ 7.70 (d, $J=4.9$ Гц, 1H), 7.68-7.64 (m, 1H), 7.52 (d, $J=7.9$ Гц, 1H), 7.42 (d, $J=6.8$ Гц, 1H), 7.36 (t, $J=7.3$ Гц, 1H), 7.17 (d, $J=2.4$ Гц, 1H), 7.15-7.11 (m, 1H), 6.55 (s, 2H), 6.05 (s, 1H), 3.64 (s, 3H), 3.61 (s, 5H). МС (ИЭР, m/z): 401,1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

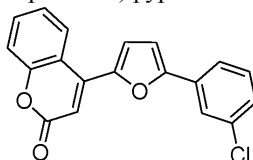
Воплощение 21: получение 4-(5-(4-хлорбензол)фуран-2-ил)кумарина (COUM-21)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 7с, 4-хлорфенилбороновую кислоту, тетраakis(трифенилфосфин)палладий и безводный карбонат цезия в безводном растворе ДМФА. Кипятят с обратным холодильником в течение 12 ч в безводных и анаэробных условиях. После завершения реакции раствор охлаждают до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, последовательно промывают водой и насыщенным раствором соли, высушивают над безводным сульфатом натрия в течение 30 мин и удаляют органический растворитель с получением неочищенного продукта. Проводят флэш-хроматографию со смесью этилацетат:петролейный эфир 1:10 с получением светло-желтого продукта при выходе 52%.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО) δ 7.72-7.64 (m, 2H), 7.53 (d, $J=8.2$ Гц, 1H), 7.40 (dd, $J=8.7, 7.4$ Гц, 2H), 7.37-7.30 (m, 3H), 7.25 (d, $J=8.5$ Гц, 2H), 7.17-7.14 (m, 1H), 7.13-7.09 (m, 1H). МС (ИЭР, m/z): 345,1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

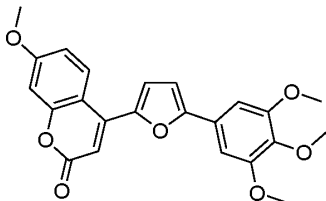
Воплощение 22: получение 4-(5-(3-хлорбензол)фуран-2-ил)кумарина (COUM-22)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 7с, 3-хлорфенилбороновую кислоту, тетраakis(трифенилфосфин)палладий и безводный карбонат цезия в безводном растворе ДМФА. Кипятят с обратным холодильником в течение 12 ч в безводных и анаэробных условиях. После завершения реакции раствор охлаждают до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, последовательно промывают водой и насыщенным раствором соли, высушивают над безводным сульфатом натрия в течение 30 мин и удаляют органический растворитель с получением неочищенного продукта. Проводят флэш-хроматографию со смесью этилацетат:петролейный эфир 1:10 с получением светло-желтого продукта при выходе 53%.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО) δ 7.72-7.64 (m, 2H), 7.56-7.50 (m, 1H), 7.45-7.39 (m, 1H), 7.37 (d, $J=7.8$ Гц, 1H), 7.36-7.26 (m, 3H), 7.18 (dd, $J=12.5, 5.1$ Гц, 2H), 7.12 (dd, $J=4.9, 3.6$ Гц, 1H). МС (ИЭР, m/z): 345,1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

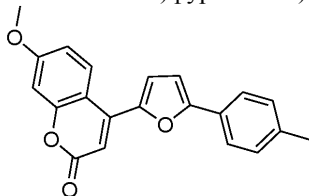
Воплощение 23: получение 4-(5-(3,4,5-триметоксибензол)фуран-2-ил)-7-метоксилкумарина (COUM-23)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 7d (4-(5-бромфуран-2-ил)-7-метоксилкумарин), 3,4,5-триметоксифенилбороновую кислоту, тетраakis(трифенилфосфин)палладий и безводный карбонат цезия в безводном растворе ДМФА. Кипятят с обратным холодильником в течение 12 ч в безводных и анаэробных условиях. После завершения реакции раствор охлаждают до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, последовательно промывают водой и насыщенным раствором соли, высушивают над безводным сульфатом натрия в течение 30 мин и удаляют органический растворитель с получением неочищенного продукта. Проводят флэш-хроматографию со смесью этилацетат:петролейный эфир 1:10 с получением светло-желтого продукта при выходе 51%.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО) δ 7.71-7.66 (m, 1H), 7.32 (d, $J=8.9$ Гц, 1H), 7.17-7.09 (m, 3H), 6.96 (dd, $J=8.9, 2.4$ Гц, 1H), 6.51 (s, 2H), 3.89 (s, 3H), 3.63 (s, 3H), 3.60 (s, 5H). МС (ИЭР, m/z): 431,1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

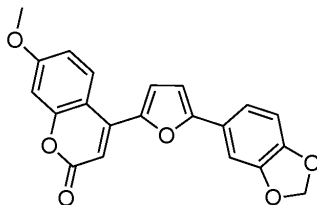
Воплощение 24: получение 4-(5-(4-метилбензол)фуран-2-ил)-7-метоксилкумарина (COUM-24)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 7d, 4-метилфенилбороновую кислоту, тетраakis(трифенилфосфин)палладий и безводный карбонат цезия в безводном растворе ДМФА. Кипятят с обратным холодильником в течение 12 ч в безводных и анаэробных условиях. После завершения реакции раствор охлаждают до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, последовательно промывают водой и насыщенным раствором соли, высушивают над безводным сульфатом натрия в течение 30 мин и удаляют органический растворитель с получением неочищенного продукта. Проводят флэш-хроматографию со смесью этилацетат:петролейный эфир 1:10 с получением светло-желтого продукта при выходе 59%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.64 (d, $J=4.4$ Гц, 1H), 7.28 (d, $J=8.9$ Гц, 1H), 7.15-7.01 (m, 7H), 6.95 (dd, $J=8.9, 2.0$ Гц, 1H), 3.88 (s, 3H), 2.50 (s, 2H). МС (ИЭР, m/z): 355,1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

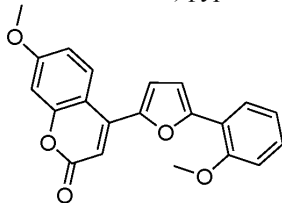
Воплощение 25: получение 4-(5-(3,4-(метилендиокси)бензол)фуран-2-ил)-7-метоксилкумарина (COUM-25)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 7d, 3,4-(метилендиокси)фенилбороновую кислоту, тетраakis(трифенилфосфин)палладий и безводный карбонат цезия в безводном растворе ДМФА. Кипятят с обратным холодильником в течение 12 ч в безводных и анаэробных условиях. После завершения реакции раствор охлаждают до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, последовательно промывают водой и насыщенным раствором соли, высушивают над безводным сульфатом натрия в течение 30 мин и удаляют органический растворитель с получением неочищенного продукта. Проводят флэш-хроматографию со смесью этилацетат:петролейный эфир 1:10 с получением светло-желтого продукта при выходе 50%.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО) δ 7.72-7.65 (m, 1H), 7.29 (d, $J=8.9$ Гц, 1H), 7.17-7.13 (m, 1H), 7.11 (d, $J=4.8$ Гц, 2H), 6.95 (dd, $J=8.9, 2.3$ Гц, 1H), 6.81-6.74 (m, 2H), 6.62 (dd, $J=8.0, 1.3$ Гц, 1H), 5.99 (s, 2H), 3.88 (s, 3H). МС (ИЭР, m/z): 485,1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

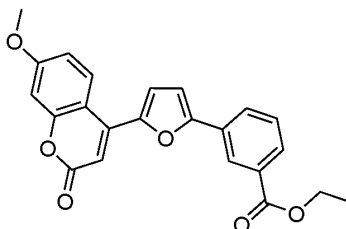
Воплощение 26: получение 4-(5-(2-метоксибензол)фуран-2-ил)-7-метоксикумарина (COUM-26)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 7d, 2-метоксифенилбороновую кислоту, тетраakis(трифенилфосфин)палладий и безводный карбонат цезия в безводном растворе ДМФА. Кипятят с обратным холодильником в течение 12 ч в безводных и анаэробных условиях. После завершения реакции раствор охлаждают до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, последовательно промывают водой и насыщенным раствором соли, высушивают над безводным сульфатом натрия в течение 30 мин и удаляют органический растворитель с получением неочищенного продукта. Проводят флэш-хроматографию со смесью этилацетат:петролейный эфир 1:10 с получением светло-желтого продукта при выходе 55%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.61 (dd, $J=3.7, 2.3$ Гц, 1H), 7.31 (d, $J=8.9$ Гц, 1H), 7.25 (t, $J=7.8$ Гц, 1H), 7.12 (d, $J=2.1$ Гц, 1H), 7.05 (d, $J=2.3$ Гц, 2H), 7.01 (d, $J=7.4$ Гц, 1H), 6.95 (dd, $J=8.3, 3.3$ Гц, 2H), 6.81 (t, $J=7.4$ Гц, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.67 (s, 3H). МС (ИЭР, m/z): 371,1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

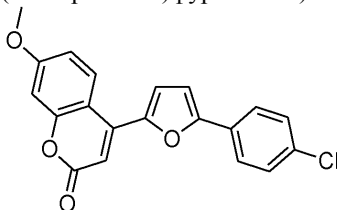
Воплощение 27: получение 4-(5-(3-этоксикарбонилбензол)фуран-2-ил)-7-метоксикумарина (COUM-27)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 7d, 3-этоксикарбонилфенилбороновую кислоту, тетраakis(трифенилфосфин)палладий и безводный карбонат цезия в безводном растворе ДМФА. Кипятят с обратным холодильником в течение 12 ч в безводных и анаэробных условиях. После завершения реакции раствор охлаждают до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, последовательно промывают водой и насыщенным раствором соли, высушивают над безводным сульфатом натрия в течение 30 мин и удаляют органический растворитель с получением неочищенного продукта. Проводят флэш-хроматографию со смесью этилацетат:петролейный эфир 1:10 с получением светло-желтого продукта при выходе 52%.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 7.82 (d, $J=7.1$ Гц, 2H), 7.65 (d, $J=4.5$ Гц, 1H), 7.45 (d, $J=7.7$ Гц, 1H), 7.40 (d, $J=7.8$ Гц, 1H), 7.32 (d, $J=9.0$ Гц, 1H), 7.13 (dd, $J=6.4, 2.5$ Гц, 2H), 7.10-7.05 (m, 1H), 6.97 (dd, $J=8.9, 2.3$ Гц, 1H), 4.28 (q, $J=7.1$ Гц, 2H), 3.90 (s, 3H), 1.30 (t, $J=7.1$ Гц, 3H). МС (ИЭР, m/z): 413,1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

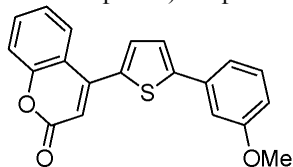
Воплощение 28: получение 4-(5-(4-хлорбензол)фуран-2-ил)-7-метоксикумарина (COUM-28)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 7d, 4-хлорфенилбороновую кислоту, тетраakis(трифенилфосфин)палладий и безводный карбонат цезия в безводном растворе ДМФА. Кипятят с обратным холодильником в течение 12 ч в безводных и анаэробных условиях. После завершения реакции раствор охлаждают до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, последовательно промывают водой и насыщенным раствором соли, высушивают над безводным сульфатом натрия в течение 30 мин и удаляют органический растворитель с получением неочищенного продукта. Проводят флэш-хроматографию со смесью этилацетат:петролейный эфир 1:10 с получением светло-желтого продукта при выходе 55%.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 3.93 (s, 3H), 7.72-7.64 (m, 2H), 7.53 (d, $J=8.2$ Гц, 1H), 7.40 (dd, $J=8.7, 7.4$ Гц, 2H), 7.37-7.30 (m, 2H), 7.25 (d, $J=8.5$ Гц, 2H), 7.17-7.14 (m, 1H), 7.13-7.09 (m, 1H). МС (ИЭР, m/z): 375,1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

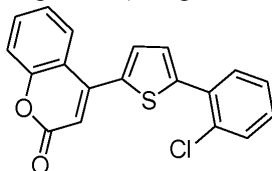
Воплощение 29: получение 4-(5-(3-метоксифенил)тиофен-2-ил)кумарина (COUM-29)



В защитной атмосфере азота растворяют соответствующее промежуточное соединение 7а, 3-метоксифенилбороновую кислоту, тетраakis(трифенилфосфин)палладий и безводный карбонат цезия в безводном растворе ДМФА. Кипятят с обратным холодильником в течение 12 ч в безводных и анаэробных условиях. После завершения реакции раствор охлаждают до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, последовательно промывают водой и насыщенным раствором соли, высушивают над безводным сульфатом натрия в течение 30 мин и удаляют органический растворитель с получением неочищенного продукта. Проводят флэш-хроматографию со смесью этилацетат:петролейный эфир 1:10 с получением светло-желтого продукта при выходе 52%.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО) δ 7.73-7.65 (m, 1H), 7.63 (dd, $J=4.9, 1.2$ Гц, 1H), 7.52 (d, $J=8.3$ Гц, 1H), 7.44-7.33 (m, 2H), 7.29-7.23 (m, 1H), 7.11-7.01 (m, 3H), 6.96 (d, $J=8.3$ Гц, 1H), 6.83 (t, $J=7.4$ Гц, 1H), 3.68 (s, 3H). МС (ИЭР, m/z): 357,1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

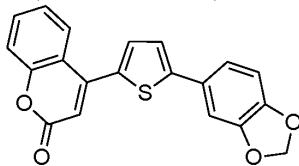
Воплощение 30: получение 4-(5-(2-хлорбензол)тиофен-2-ил)кумарина (COUM-30)



В защитной атмосфере азота растворяют соответствующее промежуточное соединение 7а, 2-хлорфенилбороновую кислоту, тетраakis(трифенилфосфин)палладий и безводный карбонат цезия в безводном растворе ДМФА. Кипятят с обратным холодильником в течение 12 ч в безводных и анаэробных условиях. После завершения реакции раствор охлаждают до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, последовательно промывают водой и насыщенным раствором соли, высушивают над безводным сульфатом натрия в течение 30 мин и удаляют органический растворитель с получением неочищенного продукта. Проводят флэш-хроматографию со смесью этилацетат:петролейный эфир 1:10 с получением светло-желтого продукта при выходе 52%.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО) δ 7.72-7.64 (m, 2H), 7.53 (d, $J=8.2$ Гц, 1H), 7.40 (dd, $J=8.7, 7.4$ Гц, 2H), 7.37-7.30 (m, 3H), 7.25 (d, $J=8.5$ Гц, 2H), 7.17-7.14 (m, 1H), 7.13-7.09 (m, 1H). МС (ИЭР, m/z): 361,1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

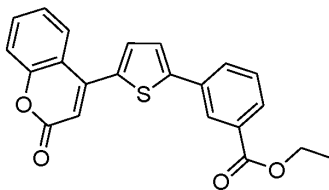
Воплощение 31: получение 4-(5-(3,4-(метилendioкси)бензол)тиофен-2-ил)кумарина (COUM-31)



В защитной атмосфере азота растворяют соответствующее промежуточное соединение 7а, 3,4-(метилendioкси)фенилбороновую кислоту, тетраakis(трифенилфосфин)палладий и безводный карбонат цезия в безводном растворе ДМФА. Кипятят с обратным холодильником в течение 12 ч в безводных и анаэробных условиях. После завершения реакции раствор охлаждают до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, последовательно промывают водой и насыщенным раствором соли, высушивают над безводным сульфатом натрия в течение 30 мин и удаляют органический растворитель с получением неочищенного продукта. Проводят флэш-хроматографию со смесью этилацетат:петролейный эфир 1:10 с получением светло-желтого продукта при выходе 50%.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО) δ 7.72-7.65 (m, 1H), 7.29 (d, $J=8.9$ Гц, 1H), 7.17-7.13 (m, 1H), 7.11 (d, $J=4.8$ Гц, 2H), 6.95 (dd, $J=8.9, 2.3$ Гц, 1H), 6.81-6.74 (m, 2H), 6.62 (dd, $J=8.0, 1.3$ Гц, 1H), 5.99 (s, 2H). МС (ИЭР, m/z): 371,1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

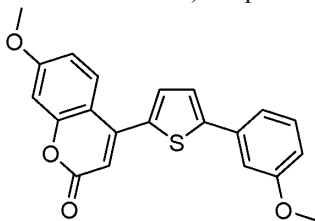
Воплощение 32: получение 4-(5-(3-этоксикарбонилбензол)фуран-2-ил)кумарина (COUM-32)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 7a, 3-этоксикарбонилфенилбороновую кислоту, тетраakis(трифенилфосфин)палладий и безводный карбонат цезия в безводном растворе ДМФА. Кипятят с обратным холодильником в течение 12 ч в безводных и анаэробных условиях. После завершения реакции раствор охлаждают до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, последовательно промывают водой и насыщенным раствором соли, высушивают над безводным сульфатом натрия в течение 30 мин и удаляют органический растворитель с получением неочищенного продукта. Проводят флэш-хроматографию со смесью этилацетат:петролейный эфир 1:10 с получением светло-желтого продукта при выходе 52%.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО) δ 7.82 (d, $J=7.1$ Гц, 2H), 7.65 (d, $J=4.5$ Гц, 1H), 7.45 (d, $J=7.7$ Гц, 1H), 7.40 (d, $J=7.8$ Гц, 1H), 7.32 (d, $J=9.0$ Гц, 1H), 7.13 (dd, $J=6.4, 2.5$ Гц, 2H), 7.10-7.05 (m, 1H), 6.97 (dd, $J=8.9, 2.3$ Гц, 1H), 4.28 (q, $J=7.1$ Гц, 2H), 1.30 (t, $J=7.1$ Гц, 3H). МС (ИЭР, m/z): 399,1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

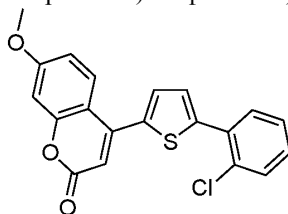
Воплощение 33: получение 4-(5-(3-метоксибензил)тиофен-2-ил)-7-метоксикумарина (COUM-33)



В защитной атмосфере азота растворяют соответствующее промежуточное соединение 7b, 3-метоксифенилбороновую кислоту, тетраakis(трифенилфосфин)палладий и безводный карбонат цезия в безводном растворе ДМФА. Кипятят с обратным холодильником в течение 12 ч в безводных и анаэробных условиях. После завершения реакции раствор охлаждают до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, последовательно промывают водой и насыщенным раствором соли, высушивают над безводным сульфатом натрия в течение 30 мин и удаляют органический растворитель с получением неочищенного продукта. Проводят флэш-хроматографию со смесью этилацетат:петролейный эфир 1:10 с получением светло-желтого продукта при выходе 55%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.61 (dd, $J=3.7, 2.3$ Гц, 1H), 7.31 (d, $J=8.9$ Гц, 1H), 7.25 (t, $J=7.8$ Гц, 1H), 7.12 (d, $J=2.1$ Гц, 1H), 7.05 (d, $J=2.3$ Гц, 2H), 7.01 (d, $J=7.4$ Гц, 1H), 6.95 (dd, $J=8.3, 3.3$ Гц, 2H), 6.81 (t, $J=7.4$ Гц, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.67 (s, 3H). МС (ИЭР, m/z): 387,1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

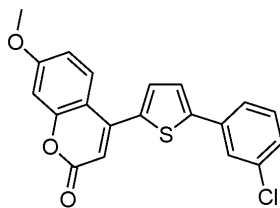
Воплощение 34: получение 4-(5-(2-хлорбензил)тиофен-2-ил)-7-метоксикумарина (COUM-34)



В защитной атмосфере азота растворяют соответствующее промежуточное соединение 7b, 2-хлорфенилбороновую кислоту, тетраakis(трифенилфосфин)палладий и безводный карбонат цезия в безводном растворе ДМФА. Кипятят с обратным холодильником в течение 12 ч в безводных и анаэробных условиях. После завершения реакции раствор охлаждают до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, последовательно промывают водой и насыщенным раствором соли, высушивают над безводным сульфатом натрия в течение 30 мин и удаляют органический растворитель с получением неочищенного продукта. Проводят флэш-хроматографию со смесью этилацетат:петролейный эфир 1:10 с получением светло-желтого продукта при выходе 55%.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО) δ 3.93 (s, 3H), 7.72-7.64 (m, 2H), 7.53 (d, $J=8.2$ Гц, 1H), 7.40 (dd, $J=8.7, 7.4$ Гц, 2H), 7.37-7.30 (m, 2H), 7.25 (d, $J=8.5$ Гц, 2H), 7.17-7.14 (m, 1H), 7.13-7.09 (m, 1H). МС (ИЭР, m/z): 391,1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

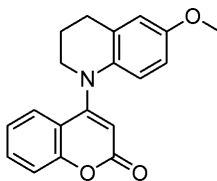
Воплощение 35: получение 4-(5-(3-хлорбензил)тиофен-2-ил)-7-метоксикумарина (COUM-35)



В защитной атмосфере азота растворяют соответствующее промежуточное соединение 7b, 3-хлорфенилбороновую кислоту, тетракис(трифенилфосфин)палладий и безводный карбонат цезия в безводном растворе ДМФА. Кипятят с обратным холодильником в течение 12 ч в безводных и анаэробных условиях. После завершения реакции раствор охлаждают до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, последовательно промывают водой и насыщенным раствором соли, высушивают над безводным сульфатом натрия в течение 30 мин и удаляют органический растворитель с получением неочищенного продукта. Проводят флэш-хроматографию со смесью этилацетат:петролейный эфир 1:10 с получением светло-желтого продукта при выходе 55%.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО) δ 3.93 (s, 3H), 7.72-7.64 (m, 2H), 7.53 (d, $J=8.2$ Гц, 1H), 7.40 (dd, $J=8.7$, 7.4 Гц, 2H), 7.37-7.30 (m, 2H), 7.25 (d, $J=8.5$ Гц, 2H), 7.17-7.14 (m, 1H), 7.13-7.09 (m, 1H). МС (ИЭР, m/z): 391,1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

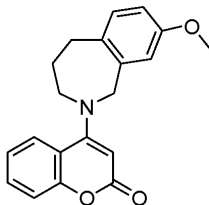
Воплощение 36: получение 4-(6-метокси-3,4-дигидрохинолин-1(2H)-ил) кумарина (COUM-36)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 10a (4-бром-кумарин), 6-метокси-1,2,3,4-тетрагидрохинолин и N,N-диизопропилэтиламин в безводном ДМФА и кипятят с обратным холодильником в течение 24 ч. После завершения реакции раствор охлаждают до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, высушивают над безводным сульфатом натрия, удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 4:1 для отделения остаточного субстрата с получением белого твердого вещества при выходе 70%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.73 (d, $J=7.5$ Гц, 1H), 7.57 (d, $J=7.2$ Гц, 1H), 7.35 (d, $J=7.8$ Гц, 1H), 7.28 (d, $J=7.8$ Гц, 1H), 7.15 (d, $J=8.2$ Гц, 1H), 6.81 (d, $J=2.3$ Гц, 1H), 6.77 (dd, $J=8.2$, 2.5 Гц, 1H), 5.59 (s, 1H), 4.03 (q, $J=7.1$ Гц, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.70 (t, $J=5.6$ Гц, 2H), 2.99-2.85 (m, 2H), 1.99 (s, 4H), 1.17 (t, $J=7.1$ Гц, 3H).

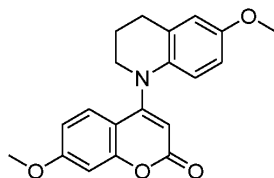
Воплощение 37: получение 4-(8-метокси-1,3,4,5-тетрагидро-2H-бензоазепин-2-ил)кумарина (COUM-37)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 10a, промежуточное соединение 15 и N,N-диизопропилэтиламин в безводном ДМФА и кипятят с обратным холодильником в течение 24 ч. После завершения реакции раствор охлаждают до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, высушивают над безводным сульфатом натрия, удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 4:1 для отделения остаточного субстрата с получением белого твердого вещества при выходе 70%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.73 (d, $J=7.5$ Гц, 1H), 7.57 (d, $J=7.2$ Гц, 1H), 7.35 (d, $J=7.8$ Гц, 1H), 7.28 (d, $J=7.8$ Гц, 1H), 7.15 (d, $J=8.2$ Гц, 1H), 6.81 (d, $J=2.3$ Гц, 1H), 6.77 (dd, $J=8.2$, 2.5 Гц, 1H), 5.59 (s, 1H), 4.55 (s, 2H), 4.03 (q, $J=7.1$ Гц, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.70 (t, $J=5.6$ Гц, 2H), 2.99-2.85 (m, 2H), 1.99 (s, 4H), 1.17 (t, $J=7.1$ Гц, 3H).

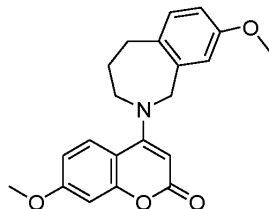
Воплощение 38: получение 4-(6-метокси-3,4-дигидрохинолин-1(2H)-ил)-7 метоксикумарина (COUM-38)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 10b (4-бром-7-метоксикумарин), 6-метокси-1,2,3,4-тетрагидрохинолин и N,N-диизопропилэтиламин в безводном ДМФА и кипятят с обратным холодильником в течение 24 ч. После завершения реакции раствор охлаждают до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, высушивают над безводным сульфатом натрия, удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 4:1 для отделения остаточного субстрата с получением белого твердого вещества при выходе 70%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.73 (d, $J=7.5$ Гц, 1H), 7.57 (d, $J=7.2$ Гц, 1H), 7.35 (d, $J=7.8$ Гц, 1H), 7.28 (d, $J=7.8$ Гц, 1H), 7.15 (d, $J=8.2$ Гц, 1H), 6.81 (d, $J=2.3$ Гц, 1H), 6.77 (dd, $J=8.2, 2.5$ Гц, 1H), 5.59 (s, 1H), 4.03 (q, $J=7.1$ Гц, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.75 (s, 3H), 3.70 (t, $J=5.6$ Гц, 2H), 2.99-2.85 (m, 2H), 1.99 (s, 4H), 1.17 (t, $J=7.1$ Гц, 3H).

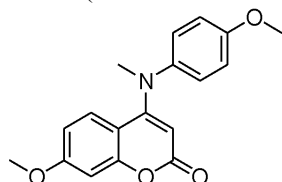
Воплощение 39: получение 4-(8-метокси-1,3,4,5-тетрагидро-2Н-бензоазепин-2-ил)-7-метоксикумарина (COUM-39)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 10b, промежуточное соединение 15 и N,N-диизопропилэтиламин в безводном ДМФА и кипятят с обратным холодильником в течение 24 ч. После завершения реакции раствор охлаждают до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, высушивают над безводным сульфатом натрия, удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 4:1 для отделения остаточного субстрата с получением белого твердого вещества при выходе 70%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.73 (d, $J=7.5$ Гц, 1H), 7.57 (d, $J=7.2$ Гц, 1H), 7.35 (d, $J=7.8$ Гц, 1H), 7.28 (d, $J=7.8$ Гц, 1H), 7.15 (d, $J=8.2$ Гц, 1H), 6.81 (d, $J=2.3$ Гц, 1H), 6.77 (dd, $J=8.2, 2.5$ Гц, 1H), 5.59 (s, 1H), 4.55 (s, 2H), 4.03 (q, $J=7.1$ Гц, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.75 (s, 3H), 3.70 (t, $J=5.6$ Гц, 2H), 2.99-2.85 (m, 2H), 1.99 (s, 4H), 1.17 (t, $J=7.1$ Гц, 3H).

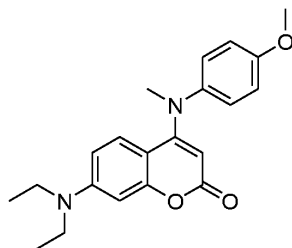
Воплощение 40: получение 4-(N-метил-N-(4-метоксибензол)амино)-7-метоксикумарина (COUM-40)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 10b, N-метил-4-метоксанилин и N,N-диизопропилэтиламин в безводном ДМФА и кипятят с обратным холодильником в течение 24 ч. После завершения реакции раствор охлаждают до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, высушивают над безводным сульфатом натрия, удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 4:1 для отделения остаточного субстрата с получением белого твердого вещества при выходе 72%.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 7.42 (dd, $J=10.5, 4.1$ Гц, 1H), 7.32 (d, $J=8.1$ Гц, 1H), 7.15 (d, $J=8.7$ Гц, 2H), 6.94 (t, $J=10.4$ Гц, 4H), 5.83 (s, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.75 (s, 3H), 3.32 (s, 3H).

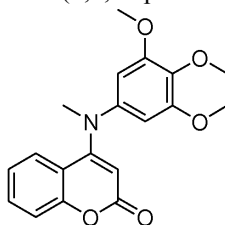
Воплощение 41: получение 4-(N-метил-N-(4-метоксибензол)амино)-7-диэтиламинокумарина (COUM-41)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 10с (4-бром-7-диэтиламинокумарин), N-метил-4-метоксианилин и N,N-диизопропилэтиламин в безводном ДМФА и кипятят с обратным холодильником в течение 24 ч. После завершения реакции раствор охлаждают до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, высушивают над безводным сульфатом натрия, удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 4:1 для отделения остаточного субстрата с получением белого твердого вещества при выходе 72%.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО) δ 7.42 (dd, $J=10.5$, 4.1 Гц, 1H), 7.32 (d, $J=8.1$ Гц, 1H), 7.15 (d, $J=8.7$ Гц, 2H), 6.94 (t, $J=10.4$ Гц, 4H), 5.83 (s, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.38 (m, 4H), 3.32 (s, 3H), 1.20 (m, 6H).

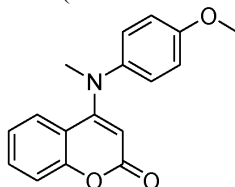
Воплощение 42: получение 4-(N-метил-N-(3,4,5-триметоксибензол)амино)кумарина (COUM-42)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 10а, N-метил-3,4,5-метоксианилин и N,N-диизопропилэтиламин в безводном ДМФА и кипятят с обратным холодильником в течение 24 ч. После завершения реакции раствор охлаждают до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, высушивают над безводным сульфатом натрия, удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 4:1 для отделения остаточного субстрата с получением белого твердого вещества при выходе 72%.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО) δ 7.42 (dd, $J=10.5$, 4.1 Гц, 1H), 7.32 (d, $J=8.1$ Гц, 1H), 7.15 (d, $J=8.7$ Гц, 2H), 6.94 (t, $J=10.4$ Гц, 4H), 5.83 (s, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.72 (s, 6H), 3.32 (s, 3H).

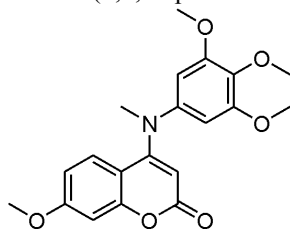
Воплощение 43: получение 4-(N-метил-N-(4-метоксибензол)амино)кумарина (COUM-43)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 10а, N-метил-4-метоксианилин и N,N-диизопропилэтиламин в безводном ДМФА и кипятят с обратным холодильником в течение 24 ч. После завершения реакции раствор охлаждают до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, высушивают над безводным сульфатом натрия, удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 4:1 для отделения остаточного субстрата с получением белого твердого вещества при выходе 72%.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО) δ 7.42 (dd, $J=10.5$, 4.1 Гц, 1H), 7.32 (d, $J=8.1$ Гц, 1H), 7.15 (d, $J=8.7$ Гц, 2H), 6.94 (t, $J=10.4$ Гц, 4H), 5.83 (s, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.32 (s, 3H). МС (ИЭР, m/z): 304,1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Воплощение 44: получение 4-(N-метил-N-(3,4,5-триметоксибензол)амино)кумарина (COUM-44)

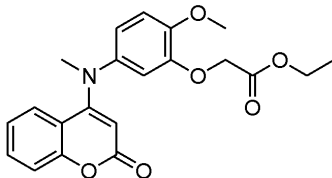


В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 10b, N-метил-3,4,5-метоксианилин и N,N-диизопропилэтиламин в безводном ДМФА и кипятят с обратным холодильником в течение

ние 24 ч. После завершения реакции раствор охлаждают до комнатной температуры, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, высушивают над безводным сульфатом натрия, удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 4:1 для отделения остаточного субстрата с получением белого твердого вещества при выходе 72%.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО) δ 7.42 (dd, $J=10.5$, 4.1 Гц, 1H), 7.32 (d, $J=8.1$ Гц, 1H), 7.15 (d, $J=8.7$ Гц, 2H), 6.94 (t, $J=10.4$ Гц, 4H), 5.83 (s, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.75 (s, 3H), 3.72 (s, 6H), 3.32 (s, 3H).

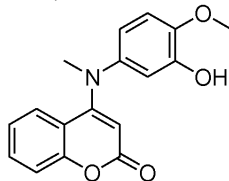
Воплощение 45: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-(2-этокси-2-карбонилэтокси)бензол)амино)кумарина (COUM-45)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 15a (4-(N-метил-N-(3-гидрокси-4-метоксибензол)амино)кумарин) и N,N-диизопропилэтиламин в безводном дихлорметане и медленно добавляют по каплям этилбромацетат при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивают в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 6:1 для отделения остаточного субстрата с получением желтого твердого вещества при выходе 76%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.39-7.32 (m, 1H), 7.29 (s, 1H), 6.96 (dd, $J=8.2$, 1.1 Гц, 1H), 6.90-6.85 (m, 1H), 6.83 (d, $J=8.6$ Гц, 1H), 6.70 (dd, $J=8.6$, 2.5 Гц, 1H), 6.65 (d, $J=2.5$ Гц, 1H), 5.83 (s, 1H), 4.63 (s, 2H), 4.17 (q, $J=7.1$ Гц, 2H), 3.89 (s, 3H), 3.34 (s, 3H), 1.25 (t, $J=7.1$ Гц, 3H).

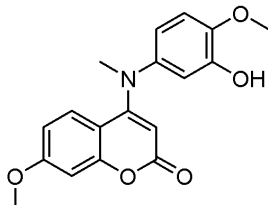
Воплощение 46: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-гидроксибензол)амино)кумарина (COUM-46)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 14a (4-(N-метил-N-(3-метокси-4-метоксибензол)амино)кумарин) в безводном этилацетате, подают газ хлорид водорода и перемешивают в течение 24 ч при комнатной температуре. После завершения реакции добавляют большое количество насыщенного раствора бикарбоната натрия для нейтрализации и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, высушивают над безводным сульфатом натрия, удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 3:1 для отделения остаточного субстрата с получением желтого твердого вещества при выходе 82%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.34 (m, 1H), 7.29 (m, 1H), 7.05 (d, $J=8.2$ Гц, 1H), 6.88 (t, $J=7.6$ Гц, 1H), 6.81 (d, $J=2.5$ Гц, 1H), 6.75 (d, $J=8.5$ Гц, 1H), 6.51 (dd, $J=8.5$, 2.5 Гц, 1H), 5.83 (s, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.34 (s, 3H). МС (ИЭР, m/z): 298,3 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

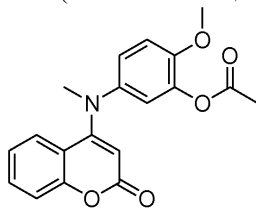
Воплощение 47: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-гидроксибензол)амино)-7-метоксикумарина (COUM-47)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 14b (4-(N-метил-N-(3-метоксиметокси-4-метоксибензол)амино)-7-метоксикумарин) в безводном этилацетате, подают газ хлорид водорода и перемешивают в течение 24 ч при комнатной температуре. После завершения реакции добавляют большое количество насыщенного раствора бикарбоната натрия для нейтрализации и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, высушивают над безводным сульфатом натрия, удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 3:1 для отделения остаточного субстрата с получением желтого твердого вещества при выходе 85%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6.91 (d, $J=9.1$ Гц, 1H), 6.77 (d, $J=18.8$ Гц, 3H), 6.52 (d, $J=7.3$ Гц, 1H), 6.45 (d, $J=8.2$ Гц, 1H), 5.71 (s, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.79 (s, 3H), 3.32 (s, 3H). МС (ИЭР, m/z): 328,1156 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

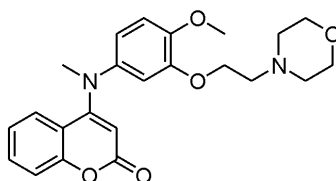
Воплощение 48: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-ацетоксибензол)амино)кумарина (COUM-48)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 15a и N,N-диизопропилэтиламин в безводном дихлорметане, медленно добавляют по каплям ацетилхлорид при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивают в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 6:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 83%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.36 (t, $J=7.6$ Гц, 1H), 7.28 (d, $J=8.5$ Гц, 1H), 7.01 (d, $J=8.2$ Гц, 1H), 6.95-6.86 (m, 4H), 5.86 (s, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.36 (s, 3H), 2.30 (s, 3H). МС (ИЭР, m/z): 340, 1156 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

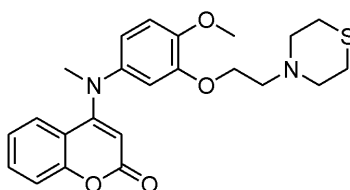
Воплощение 49: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-(2-морфолиноэтокси)бензол)амино)кумарина (COUM-49)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 15a и N,N-диизопропилэтиламин в безводном дихлорметане, добавляют порциями хлорэтилморфолинхлорид при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивают в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 3:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества, при выходе 53%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.35 (t, $J=7.6$ Гц, 1H), 7.29 (m, 1H), 6.98 (d, $J=8.2$ Гц, 1H), 6.87 (t, $J=7.7$ Гц, 1H), 6.81 (d, $J=8.5$ Гц, 1H), 6.74-6.64 (m, 2H), 5.83 (s, 1H), 4.11 (m, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.76 (m, 4H), 3.35 (s, 3H), 2.73 (m, 6H). МС (ИЭР, m/z): 411, 1912 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

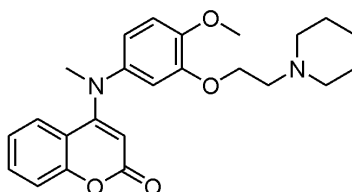
Воплощение 50: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-(2-тиоморфолиноэтокси)бензол)амино)кумарина (COUM-50)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 15a и N,N-диизопропилэтиламин в безводном дихлорметане, добавляют порциями хлорэтилтиоморфолина гидрохлорид при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивали в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 3:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 53%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.35 (t, $J=7.6$ Гц, 1H), 7.29 (m, 1H), 6.98 (d, $J=8.2$ Гц, 1H), 6.87 (t, $J=7.7$ Гц, 1H), 6.81 (d, $J=8.5$ Гц, 1H), 6.74-6.64 (m, 2H), 5.83 (s, 1H), 4.11 (m, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.76 (m, 4H), 3.35 (s, 3H), 2.73 (m, 6H).

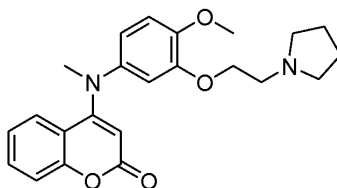
Воплощение 51: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-(2-пиперидиноэтокси)бензол)амино)кумарина (COUM-51)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 15a и N,N-диизопропилэтиламин в безводном дихлорметане, добавляют порциями хлорэтилпиперидина гидрохлорид при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивают в течение но-

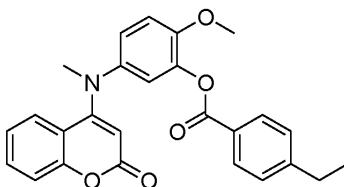
чи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 3:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 53%.

Воплощение 52: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-(2-пирролэтокси)бензол)амино)кумарина (COUM-52)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 15a и N,N-диизопропил-этиламин в безводном дихлорметане, добавляют порциями хлорэтилпиррола гидрохлорид при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивают в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 3:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 53%.

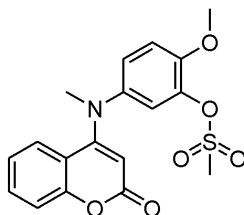
Воплощение 53: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-((4-этилбензол)метоксикарбонил)бензол)амино)кумарина (COUM-53)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 15a и N,N-диизопропил-этиламин в безводном дихлорметане, медленно добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий 4-этилбензоилхлорид, при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивают в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 6:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 80%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8.10 (d, $J=7.9$ Гц, 2H), 7.34 (ddd, $J=23.4, 15.4, 8.0$ Гц, 4H), 7.08 (d, $J=8.2$ Гц, 1H), 7.03 (s, 1H), 6.99-6.90 (m, 3H), 5.87 (s, 1H), 3.81 (s, 3H), 3.38 (s, 3H), 2.74 (q, $J=7.6$ Гц, 2H), 1.28 (t, $J=7.6$ Гц, 3H). МС (ИЭР, m/z): 430,2367 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

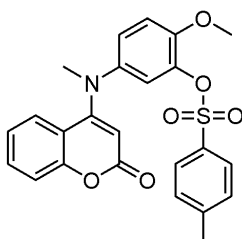
Воплощение 54: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-метансульфонатбензол)амино)кумарина (COUM-54)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 15a и N,N-диизопропил-этиламин в безводном дихлорметане, медленно добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий метансульфонилхлорид, при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивают в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 6:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 86%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.37 (t, $J=7.3$ Гц, 1H), 7.30 (d, $J=8.2$ Гц, 1H), 7.16 (d, $J=2.1$ Гц, 1H), 7.02-6.88 (m, 4H), 5.90 (s, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.37 (s, 3H), 3.19 (s, 3H). МС (ИЭР, m/z): 376, 1383 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

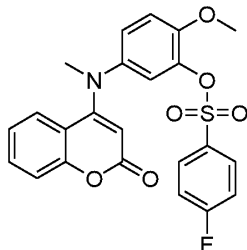
Воплощение 55: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-(4-метилбензол)метансульфонатбензол)амино)кумарина (COUM-55)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 15a (4-(N-метил-N-(3-гидроксил-4-метоксибензол)амино)кумарин) и N,N-диизопропилэтиламин в безводном дихлорметане, медленно добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий 4-толуолсульфонилхлорид при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивают в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 6:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 82%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.79 (dd, $J=8.7, 5.0$ Гц, 2H), 7.41 (t, $J=7.4$ Гц, 1H), 7.33 (d, $J=8.2$ Гц, 1H), 7.16 (t, $J=8.4$ Гц, 2H), 7.01-6.90 (m, 4H), 6.81 (d, $J=8.6$ Гц, 1H), 5.87 (s, 1H), 3.62 (s, 3H), 3.34 (s, 3H), 2.65 (s, 3H).

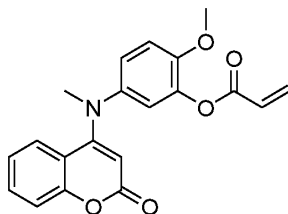
Воплощение 56: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-(4-фторбензол)метансульфонатбензол)амино)кумарина (COUM-56)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 15a (4-(N-метил-N-(3-гидроксил-4-метоксибензол)амино)кумарин) и N,N-диизопропилэтиламин в безводном дихлорметане, медленно добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий 4-фторбензолсульфонилхлорид при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивают в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 6:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 82%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.79 (dd, $J=8.7, 5.0$ Гц, 2H), 7.41 (t, $J=7.4$ Гц, 1H), 7.33 (d, $J=8.2$ Гц, 1H), 7.16 (t, $J=8.4$ Гц, 2H), 7.01-6.90 (m, 4H), 6.81 (d, $J=8.6$ Гц, 1H), 5.87 (s, 1H), 3.62 (s, 3H), 3.34 (s, 3H). МС (ИЭР, m/z): 456, 1704 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

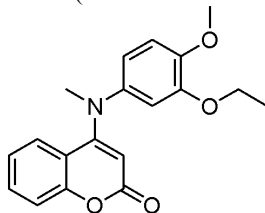
Воплощение 57: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-алкенилпропионатбензол)амино)кумарина (COUM-57)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 15a и N,N-диизопропилэтиламин в безводном дихлорметане, медленно добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий акрилоилхлорид, при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивают в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 6:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 81%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.36 (t, $J=7.6$ Гц, 1H), 7.29 (d, $J=8.2$ Гц, 1H), 7.02 (t, $J=8.8$ Гц, 1H), 6.93 (d, $J=10.8$ Гц, 4H), 6.61 (d, $J=17.3$ Гц, 1H), 6.32 (dd, $J=17.3, 10.5$ Гц, 1H), 6.03 (d, $J=10.5$ Гц, 1H), 5.86 (s, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.37 (s, 3H). МС (ИЭР, m/z): 352, 1173 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

Воплощение 58: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-этоксibenзол)амино)кумарина (COUM-58)

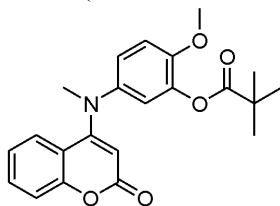


В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 15a и N,N-диизопропилэтиламин в безводном дихлорметане, медленно добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий йодэтан, при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивают в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 6:1 для отделения остаточного субстрата с по-

лучением светло-желтого твердого вещества при выходе 81%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.36 (t, $J=7.6$ Гц, 1H), 7.29 (d, $J=8.7$ Гц, 1H), 7.03 (d, $J=8.0$ Гц, 1H), 6.95-6.88 (m, 2H), 6.85 (s, 2H), 5.85 (s, 1H), 4.13 (m, 2H), 3.81 (s, 3H), 3.35 (s, 3H), 1.41 (m, 3H). МС (ИЭР, m/z): 326,4 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

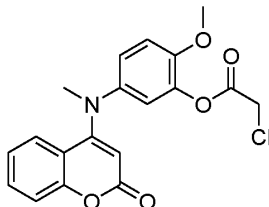
Воплощение 59: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-пивалатбензол)амино)кумарина (COUM-59)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 15a и N,N-диизопропилэтиламин в безводном дихлорметане, медленно добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий трет-бутилацетилхлорид, при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивают в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 6:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 84%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.36 (t, $J=7.6$ Гц, 1H), 7.29 (d, $J=8.7$ Гц, 1H), 7.03 (d, $J=8.0$ Гц, 1H), 6.95-6.88 (m, 2H), 6.85 (s, 2H), 5.85 (s, 1H), 3.81 (s, 3H), 3.35 (s, 3H), 1.36 (s, 9H). МС (ИЭР, m/z): 382,4 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

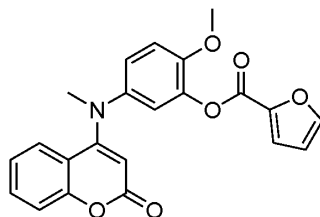
Воплощение 60: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-(2-хлорэтилкарбонилокси)бензол)амино)кумарин (COUM-60)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 15a и N,N-диизопропилэтиламин в безводном дихлорметане, медленно добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий хлорацетилхлорид, при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивают в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 6:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 84%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.36 (d, $J=8.0$ Гц, 1H), 7.29 (d, $J=8.2$ Гц, 1H), 7.03-6.88 (m, 5H), 5.88 (s, 1H), 4.32 (s, 2H), 3.84 (s, 3H), 3.36 (s, 3H). МС (ИЭР, m/z): 396,6 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

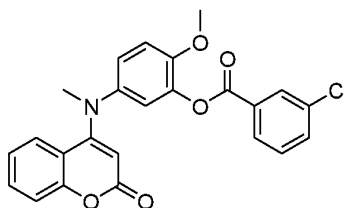
Воплощение 61: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-(фуран-2-ил-метоксикарбонил)бензол)амино)кумарин (COUM-61)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 15a (4-(N-метил-N-(3-гидроксил-4-метоксибензол)амино)кумарин) и N,N-диизопропилэтиламин в безводном дихлорметане, медленно добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий фуран-2-ацилхлорид, при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивают в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 6:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 84%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.68 (m, 1H), 7.38 (m, 2H), 7.29 (d, $J=8.4$ Гц, 1H), 7.07-7.01 (m, 2H), 6.93 (m, 3H), 6.60 (d, $J=1.7$ Гц, 1H), 5.87 (s, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.38 (s, 3H). МС (ИЭР, m/z): 414,2 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

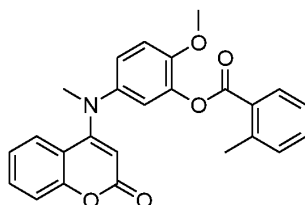
Воплощение 62: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-(3-хлорфенилметоксикарбонил)бензол)амино)кумарина (COUM-62)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 15а и N,N-диизопропилэтиламин в безводном дихлорметане, медленно добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий 3-хлорбензоилхлорид, при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивают в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 6:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 83%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8.17 (s, 1H), 8.07 (d, $J=7.6$ Гц, 1H), 7.61 (d, $J=8.2$ Гц, 1H), 7.46 (t, $J=7.9$ Гц, 1H), 7.38 (t, $J=7.5$ Гц, 1H), 7.30 (d, $J=8.4$ Гц, 1H), 7.07 (d, $J=8.2$ Гц, 1H), 7.01 (s, 1H), 6.99-6.92 (m, 3H), 5.88 (s, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.39 (s, 3H). МС (ИЭР, m/z): 458,5 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

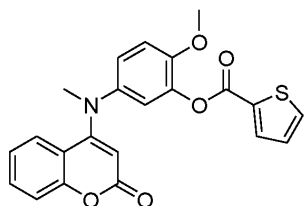
Воплощение 63: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-(2-метилфенилметоксикарбонил)бензол)амино)кумарина (COUM-63)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 15а (4-(N-метил-N-(3-гидроксил-4-метоксибензол)амино)кумарин) и N,N-диизопропилэтиламин в безводном дихлорметане, медленно добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий 2-метилбензоилхлорид, при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивают в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 6:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 81%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8.14 (d, $J=7.8$ Гц, 1H), 7.48 (t, $J=7.5$ Гц, 1H), 7.37 (t, $J=7.7$ Гц, 1H), 7.30 (t, $J=8.1$ Гц, 3H), 7.08 (d, $J=8.1$ Гц, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.98-6.91 (m, 3H), 5.88 (s, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.39 (s, 3H), 2.66 (s, 3H).

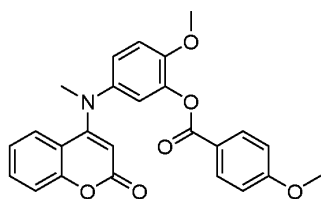
Воплощение 64: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-(тиофен-2-ил-метоксикарбонил)бензол)амино)кумарина (COUM-64)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 15а (4-(N-метил-N-(3-гидроксил-4-метоксибензол)амино)кумарин) и N,N-диизопропилэтиламин в безводном дихлорметане, медленно добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий тиофен-2-формилхлорид, при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивают в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 6:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 81%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.68 (d, $J=4.9$ Гц, 1H), 7.47-7.37 (m, 2H), 7.32 (d, $J=8.2$ Гц, 1H), 7.08-7.01 (m, 1H), 6.97 (m, 3H), 6.85 (m, 2H), 5.85 (s, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.32 (s, 3H).

Воплощение 65: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-(4-(метоксифенил)метоксикарбонил)бензол)амино)кумарина (COUM-65)

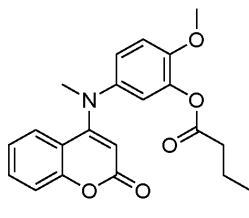


В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 15а и N,N-диизопропил-

этиламин в безводном дихлорметане, медленно добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий 4-метоксибензоилхлорид, при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивают в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 6:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 81%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8.14 (d, $J=8.8$ Гц, 2H), 7.37 (t, $J=7.6$ Гц, 1H), 7.29 (d, $J=8.2$ Гц, 1H), 7.11-6.89 (m, 8H), 5.87 (s, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.82 (s, 3H), 3.38 (s, 3H). МС (ИЭР, m/z): 454,4 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

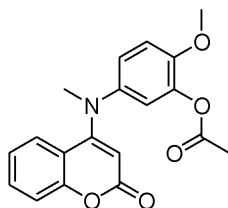
Воплощение 66: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-амилкарбонилоксибензол)амино)кумарина (COUM-66)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 15а и N,N-диизопропилэтиламин в безводном дихлорметане, медленно добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий n-валерилхлорид, при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивают в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 6:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 87%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.36 (t, $J=7.6$ Гц, 1H), 7.28 (d, $J=9.3$ Гц, 1H), 7.01 (d, $J=8.2$ Гц, 1H), 6.94-6.86 (m, 4H), 5.85 (s, 1H), 3.83 (d, $J=7.2$ Гц, 3H), 3.36 (s, 3H), 2.56 (t, $J=7.5$ Гц, 2H), 1.78-1.70 (m, 2H), 1.45 (dd, $J=15.0, 7.4$ Гц, 2H), 0.96 (t, $J=7.3$ Гц, 3H). МС (ИЭР, m/z): 404,6 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

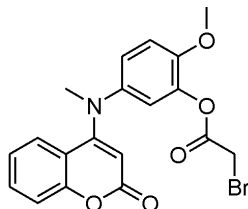
Воплощение 67: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-пропилкарбонилоксибензол)амино)кумарина (COUM-67)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 15а и N,N-диизопропилэтиламин в безводном дихлорметане, медленно добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий пропионилхлорид, при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивают в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 6:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 87%.

^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMF}-d_7$) δ 7.48-7.42 (m, 1H), 7.33 (d, $J=8.2$ Гц, 1H), 7.12-7.04 (m, 3H), 7.02-6.94 (m, 2H), 5.87 (s, 1H), 3.76 (s, 3H), 3.32 (s, 3H), 2.54 (dd, $J=14.1, 6.6$ Гц, 2H), 1.10 (t, $J=7.5$ Гц, 3H). МС (ИЭР, m/z): 376,2 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

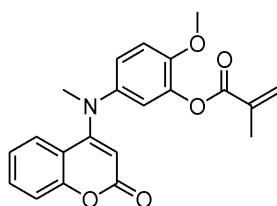
Воплощение 68: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-(2-бромэтилкарбонилокси)бензол)амино)кумарина (COUM-68)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 15а (4-(N-метил-N-(3-гидроксил-4-метоксибензол)амино)кумарин) и N,N-диизопропилэтиламин в безводном дихлорметане, медленно добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий бромацетилбромид, при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивают в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 6:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 86%.

^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMF}-d_7$) δ 7.50-7.42 (m, 1H), 7.33 (d, $J=8.3$ Гц, 1H), 7.08 (s, 1H), 6.98 (d, $J=8.4$ Гц, 2H), 5.89 (s, 1H), 4.41 (s, 2H), 3.78 (s, 3H). МС (ИЭР, m/z): 440,3, 442,3 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

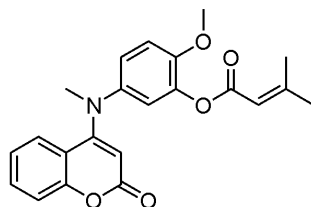
Воплощение 69: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-(2-метилаллилкарбонилокси)бензол)амино)кумарина (COUM-69)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 15a (4-(N-метил-N-(3-гидроксил-4-метоксибензол)амино)кумарин) и N,N-диизопропилэтиламин в безводном дихлорметане, медленно добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий 2-метакрилоилхлорид, при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивают в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 6:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 85%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.36 (t, $J=7.7$ Гц, 1H), 7.28 (d, $J=10.5$ Гц, 1H), 7.09-6.85 (m, 5H), 6.35 (s, 1H), 5.86 (s, 1H), 5.77 (s, 1H), 3.81 (d, $J=9.2$ Гц, 3H), 3.36 (s, 3H), 2.06 (s, 3H). МС (ИЭР, m/z): 388,5 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 753,3 $[2\text{M} + \text{Na}]^+$.

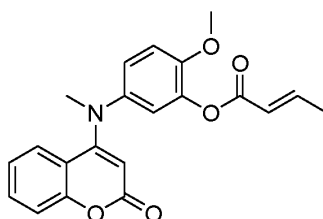
Воплощение 70: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-(3-метилбут-2-ен)карбонилокси)бензол)амино)кумарина (COUM-70)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 15a и N,N-диизопропилэтиламин в безводном дихлорметане, медленно добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий 3-метилбут-2-еноилхлорид, при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивают в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 6:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 81%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.35 (t, $J=7.7$ Гц, 1H), 7.28 (d, $J=8.0$ Гц, 1H), 7.02 (t, $J=8.9$ Гц, 1H), 6.90 (d, $J=14.3$ Гц, 4H), 5.93 (s, 1H), 5.85 (s, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.36 (s, 3H), 2.22 (s, 3H), 1.99 (s, 3H). МС (ИЭР, m/z): 402,8 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

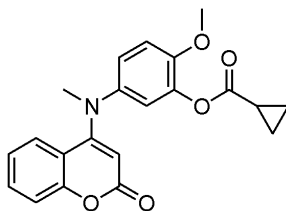
Воплощение 71: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-(бут-2-ен-карбонилокси)бензол)амино)кумарина (COUM-71)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 15a и N,N-диизопропилэтиламин в безводном дихлорметане, медленно добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий бут-2-еноилхлорид, при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивают в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 6:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 91%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.36 (t, $J=7.2$ Гц, 1H), 7.28 (d, $J=9.3$ Гц, 1H), 7.19 (dq, $J=13.9, 6.9$ Гц, 1H), 7.03 (d, $J=8.2$ Гц, 1H), 6.92 (dd, $J=7.2, 6.1$ Гц, 4H), 6.05 (dd, $J=15.5, 1.4$ Гц, 1H), 5.85 (s, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.36 (s, 3H), 1.97 (dd, $J=6.9, 1.2$ Гц, 3H). МС (ИЭР, m/z): 388,5 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

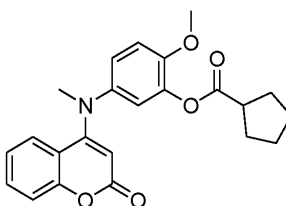
Воплощение 72: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-(циклопропилкарбонилокси)бензол)амино)кумарина (COUM-72)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 15а и N,N-диизопропил-этиламин в безводном дихлорметане, медленно добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий циклопропилформилхлорид, при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивают в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 6:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 89%.

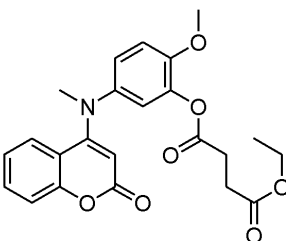
^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.38-7.27 (m, 2H), 7.01 (d, $J=8.1$ Гц, 1H), 6.89 (d, $J=12.3$ Гц, 4H), 5.85 (s, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.35 (s, 3H), 1.90-1.78 (m, 1H), 1.22-1.14 (m, 2H), 1.09-0.98 (m, 2H). МС (ИЭР, m/z): 388,5 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Воплощение 73: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-(циклопентил-карбонилокси)бензол)амино)кумарина (COUM-73)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 15а и N,N-диизопропил-этиламин в безводном дихлорметане, медленно добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий циклопропилформилхлорид, при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивают в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 6:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 89%.

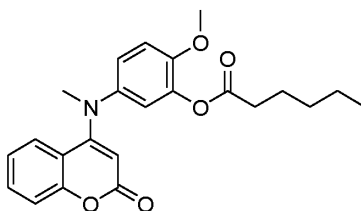
Воплощение 74: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-(3-этоксикарбонилкарбонилокси)бензол)амино)кумарина (COUM-74)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 15а и N,N-диизопропил-этиламин в безводном дихлорметане, медленно добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий 3-этоксикарбонилпропионилхлорид, при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивают в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 6:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 85%.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 7.44 (dd, $J=10.4, 4.2$ Гц, 1H), 7.33 (d, $J=8.3$ Гц, 1H), 7.16-7.05 (m, 2H), 6.98 (dd, $J=14.1, 7.7$ Гц, 3H), 5.87 (s, 1H), 4.13-3.96 (m, 3H), 3.75 (s, 3H), 3.33 (s, 3H), 2.79 (t, $J=6.5$ Гц, 2H), 2.61 (t, $J=6.5$ Гц, 2H), 1.17 (q, $J=7.2$ Гц, 2H). МС (ИЭР, m/z): 448,5 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Воплощение 75: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-(гексанкарбонилокси)бензол)амино)кумарина (COUM-75)

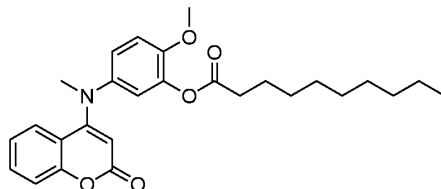


В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 15а и N,N-диизопропил-этиламин в безводном дихлорметане, медленно добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий n-гексаноилхлорид, при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнат-

ной и перемешивают в течение ночи. На следующий день, удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 6:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 84%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.38-7.33 (m, 1H), 7.28 (d, $J=9.3$ Гц, 1H), 7.04-6.99 (m, 1H), 6.95-6.85 (m, 4H), 5.85 (s, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.36 (s, 3H), 2.55 (t, $J=7.5$ Гц, 2H), 1.80-1.70 (m, 2H), 1.44-1.33 (m, 4H), 0.92 (t, $J=7.0$ Гц, 3H).

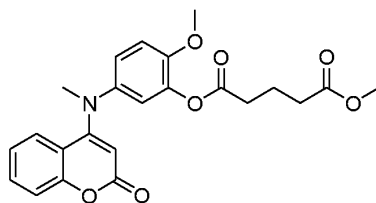
Воплощение 76: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-(деканкарбонилокси)бензол)амино)кумарина (COUM-76)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 15a и N,N-диизопропил-этиламин в безводном дихлорметане, медленно добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий н-деканойлхлорид, при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивают в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 6:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 64%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.35 (t, $J=7.4$ Гц, 1H), 7.28 (d, $J=7.8$ Гц, 1H), 7.01 (d, $J=8.1$ Гц, 1H), 6.95-6.85 (m, 4H), 5.85 (s, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.36 (s, 3H), 2.55 (t, $J=7.4$ Гц, 2H), 1.80-1.68 (m, 2H), 1.25 (dd, $J=15.7$, 8.4 Гц, 12H), 0.88 (t, $J=6.5$ Гц, 3H).

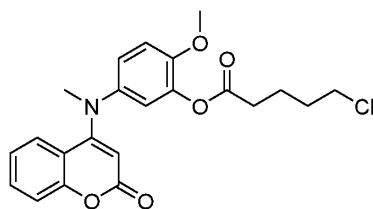
Воплощение 77: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-((4-метоксикарбонил)карбонилокси)бензол)амино)кумарина (COUM-77)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 15a и N,N-диизопропил-этиламин в безводном дихлорметане, медленно добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий 4-метоксикарбонилбутирилхлорид, при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивают в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 6:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 82%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.36 (t, $J=7.6$ Гц, 1H), 7.28 (d, $J=8.8$ Гц, 1H), 7.01 (d, $J=8.1$ Гц, 1H), 6.96-6.85 (m, 4H), 5.86 (s, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.69 (s, 3H), 3.36 (s, 3H), 2.64 (t, $J=7.2$ Гц, 2H), 2.47 (q, $J=7.2$ Гц, 2H), 2.11-2.03 (m, 2H). МС (ИЭР, m/z): 448,7 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

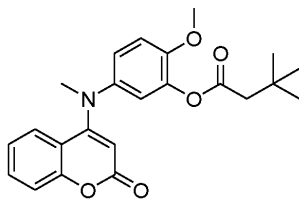
Воплощение 78: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-(5-хлор-н-пентанкарбонилокси)бензол)амино)кумарина (COUM-78)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 15a и N,N-диизопропил-этиламин в безводном дихлорметане, медленно добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий 5-хлоркалеририлхлорид, при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивают в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 6:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 84%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.39-7.33 (m, 1H), 7.28 (dd, $J=8.3$, 1.1 Гц, 1H), 7.01 (dd, $J=8.2$, 1.3 Гц, 1H), 6.95-6.85 (m, 4H), 5.86 (s, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.64-3.53 (m, 2H), 3.36 (s, 3H), 2.61 (dd, $J=8.5$, 5.1 Гц, 2H), 1.98-1.84 (m, 4H). МС (ИЭР, m/z): 438,3 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

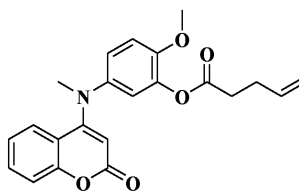
Воплощение 79: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-(3,3-диметил-бутанкарбонилокси)бензол)амино)кумарина (COUM-79)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 15a и N,N-диизопропилэтиламин в безводном дихлорметане, медленно добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий пивалоилхлорид, при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивают в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 6:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 84%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.40-7.32 (m, 1H), 7.28 (dd, $J=9.1, 1.8$ Гц, 1H), 7.02 (dd, $J=8.3, 1.3$ Гц, 1H), 6.95-6.85 (m, 4H), 5.85 (s, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.36 (s, 3H), 2.44 (s, 2H), 1.13 (s, 9H).

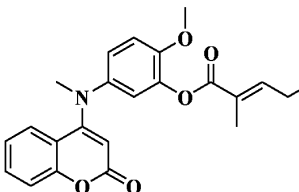
Воплощение 80: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-(пент-1-ен-карбонилокси)бензол)амино)кумарина (COUM-80)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 15a и N,N-диизопропилэтиламин в безводном дихлорметане, медленно добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий пент-1-еноилхлорид, при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивают в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 6:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 76%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.41-7.32 (m, 1H), 7.28 (d, $J=7.9$ Гц, 1H), 7.01 (d, $J=8.2$ Гц, 1H), 6.90 (dd, $J=12.9, 7.2$ Гц, 3H), 5.90 (ddd, $J=17.4, 8.7, 4.5$ Гц, 1H), 5.85 (d, $J=3.9$ Гц, 1H), 5.19-5.08 (m, 1H), 5.06 (d, $J=10.2$ Гц, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.35 (s, 3H), 2.67 (t, $J=7.4$ Гц, 2H), 2.50 (dd, $J=13.8, 6.7$ Гц, 2H). МС (ИЭР, m/z): 380,2 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

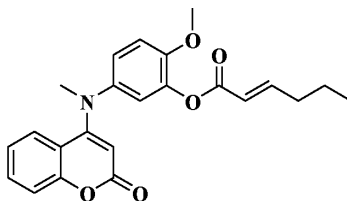
Воплощение 81: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-(4-метил-пент-3-ен-карбонилокси)бензол)амино)кумарина (COUM-81)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 15a и N,N-диизопропилэтиламин в безводном дихлорметане, медленно добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий 4-метил-пент-3-еноилхлорид, при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивают в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 6:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 76%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.39-7.33 (m, 1H), 7.30-7.27 (m, 1H), 7.05 (dd, $J=8.2, 1.2$ Гц, 1H), 7.00 (dd, $J=8.0, 6.7$ Гц, 1H), 6.96-6.86 (m, 4H), 5.85 (s, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.36 (s, 3H), 2.27 (p, $J=7.4$ Гц, 2H), 1.94 (s, 3H), 1.10 (t, $J=7.6$ Гц, 3H). МС (ИЭР, m/z): 394,2 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

Воплощение 82: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-(транс-гекс-4-ен-карбонилокси)бензол)амино)кумарина (COUM-82)

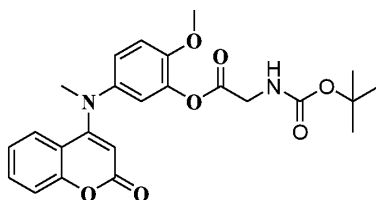


В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 15a и N,N-диизопропилэтиламин в безводном дихлорметане, медленно добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий транс-гекс-4-еноилхлорид, при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до

комнатной и перемешивают в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 6:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 79%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.39-7.32 (m, 1H), 7.28 (dd, $J=8.3$, 0.9 Гц, 1H), 7.18 (dt, $J=15.6$, 6.9 Гц, 1H), 7.03 (dd, $J=8.2$, 1.2 Гц, 1H), 6.91 (dd, $J=9.7$, 4.1 Гц, 4H), 6.02 (dt, $J=15.6$, 1.5 Гц, 1H), 5.85 (s, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.36 (s, 3H), 2.33-2.19 (m, 2H), 1.53 (dt, $J=14.7$, 7.4 Гц, 2H), 0.97 (t, $J=7.4$ Гц, 3H).

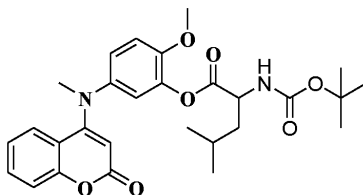
Воплощение 83: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-(Вос-глициновый эфир)бензол)амино)кумарина (COUM-83)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 15a, EDCI (1-этил-(3-диметиламинопропил)карбодиимида гидрохлорид) и DMAP (4-диметиламинопиридин) в безводном дихлорметане, добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий Вос-глицин, в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и подвергают взаимодействию в течение ночи. На следующий день раствор дихлорметана удаляют роторным выпариванием, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, высушивают органическую фазу безводным сульфатом натрия, удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 3:1 для отделения остаточного субстрата с получением белого твердого вещества при выходе 59%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.40-7.33 (m, 1H), 7.29 (dd, $J=8.3$, 1.1 Гц, 1H), 7.01 (dd, $J=8.3$, 1.4 Гц, 1H), 6.95-6.86 (m, 4H), 5.85 (d, $J=14.1$ Гц, 1H), 5.19 (s, 1H), 3.97 (d, $J=3.9$ Гц, 2H), 3.87 (d, $J=6.2$ Гц, 3H), 3.35 (d, $J=6.6$ Гц, 3H), 1.51 (d, $J=11.0$ Гц, 9H).

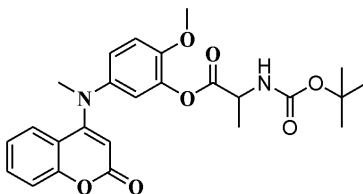
Воплощение 84: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-(Вос-лейцин)бензол)амино)кумарина (COUM-84)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 15a, EDCI и DMAP в безводном дихлорметане, добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий Вос-лейцин, в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и подвергают взаимодействию в течение ночи. На следующий день раствор дихлорметана удаляют роторным выпариванием, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, высушивают органическую фазу безводным сульфатом натрия, удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 3:1 для отделения остаточного субстрата с получением белого твердого вещества при выходе 58%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.39-7.32 (m, 1H), 7.31-7.27 (m, 1H), 7.01 (dd, $J=8.3$, 1.3 Гц, 1H), 6.97-6.83 (m, 4H), 5.86 (s, 1H), 4.92 (d, $J=8.6$ Гц, 1H), 4.54 (s, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.35 (s, 3H), 1.90-1.76 (m, 1H), 1.71-1.56 (m, 2H), 1.44 (s, 9H), 1.00 (d, $J=6.3$ Гц, 6H).

Воплощение 85: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-(Вос- α -аланин)бензол)амино)кумарина (COUM-85)

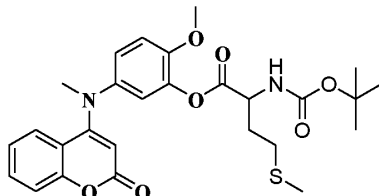


В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 15a, EDCI и DMAP в безводном дихлорметане, добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий Вос- α -аланин, в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и подвергают взаимодействию в течение ночи. На следующий день раствор дихлорметана удаляют роторным выпариванием, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, высушивают органическую фазу безводным сульфатом натрия, удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 3:1 для отделения остаточного субстрата с по-

лучением белого твердого вещества, при выходе 59%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.40-7.33 (m, 1H), 7.29 (dd, $J=8.3, 1.1$ Гц, 1H), 7.01 (dd, $J=8.3, 1.4$ Гц, 1H), 6.95-6.86 (m, 4H), 5.85 (d, $J=14.1$ Гц, 1H), 5.19 (d, $J=27.0$ Гц, 1H), 3.87 (d, $J=9.8$ Гц, 3H), 3.53 (d, $J=5.5$ Гц, 1H), 3.35 (d, $J=11.0$ Гц, 3H), 1.58 (s, 3H), 1.45 (s, 9H).

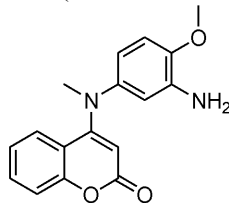
Воплощение 86: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-(Вос-метионин)бензол)амино)кумарина (COUM-86)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 15a, EDCI и DMAP в безводном дихлорметане, добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий Вос- α -аланин, в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и подвергают взаимодействию в течение ночи. На следующий день раствор дихлорметана удаляют роторным выпариванием, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, высушивают органическую фазу безводным сульфатом натрия, удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 3:1 для отделения остаточного субстрата с получением белого твердого вещества при выходе 59%.

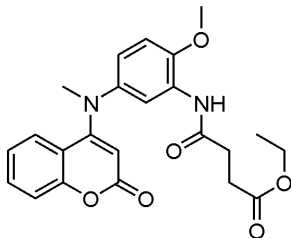
^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.40-7.33 (m, 1H), 7.29 (dd, $J=8.3, 1.1$ Гц, 1H), 7.01 (dd, $J=8.3, 1.4$ Гц, 1H), 6.95-6.86 (m, 4H), 5.85 (d, $J=14.1$ Гц, 1H), 5.19 (d, $J=27.0$ Гц, 1H), 3.87 (d, $J=9.8$ Гц, 3H), 3.53 (d, $J=5.5$ Гц, 1H), 3.35 (d, $J=11.0$ Гц, 3H), 2.60 (m, 2H), 2.18 (m, 2H), 2.07 (s, 3H), 1.45 (s, 9H).

Воплощение 87: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-аминобензол)амино)кумарина (COUM-87)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 18 (4-метокси-N¹-метил-1,3-диаминбензол) и промежуточное соединение 10 (4-бром-кумарин) в N,N-диметилформамиде (ДМФА), добавляют по каплям 2 эквивалента диизопропилэтиламина и подвергают взаимодействию при 100°C в течение ночи. Реакционный субстрат разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом. Удаляют органический растворитель роторным выпариванием и пропускают субстрат через колонку для флэш-хроматографии (подвижная фаза представляет собой смесь петролейного эфира и этилацетата в соотношении 4:1) с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 78%. ^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО) δ 7.47-7.39 (m, 1H), 7.30 (dd, $J=8.2, 0.8$ Гц, 1H), 7.10 (dd, $J=8.2, 1.3$ Гц, 1H), 7.01-6.95 (m, 1H), 6.77 (d, $J=8.5$ Гц, 1H), 6.45 (d, $J=2.6$ Гц, 1H), 6.37 (dd, $J=8.4, 2.6$ Гц, 1H), 5.75 (s, 1H), 4.90 (s, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.28 (s, 3H). МС (ИЭР, m/z): 297,2 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

Воплощение 88: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-(3-этоксикарбонилкарбониламино)бензол)амино)кумарина (COUM-88)

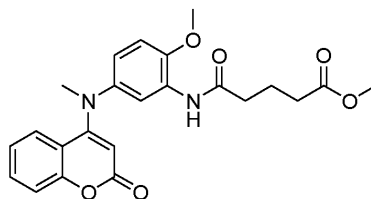


В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 19a (4-(N-метил-N-(4-метоксиль-3-аминобензол)амино)кумарин) и N,N-диизопропилэтиламин в безводном дихлорметане, медленно добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий 3-этоксикарбонилпропионилхлорид, при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивают в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 3:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 84%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8.46 (d, $J=2.3$ Гц, 1H), 8.02 (s, 1H), 7.36-7.30 (m, 1H), 7.27 (d, $J=2.3$ Гц, 1H), 7.03 (dd, $J=8.2, 1.1$ Гц, 1H), 6.92-6.82 (m, 1H), 6.71 (d, $J=8.6$ Гц, 1H), 6.56 (dd, $J=8.6, 2.6$ Гц, 1H), 5.83 (s, 1H), 4.17 (p, $J=7.3$ Гц, 2H), 3.88 (s, 3H), 3.35 (s, 3H), 2.74 (s, 4H), 1.28 (t, $J=7.1$ Гц, 3H). МС (ИЭР, m/z):

447,1 [M + Na]⁺.

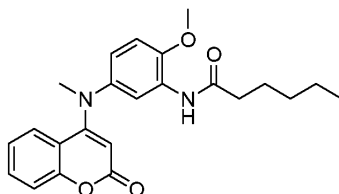
Воплощение 89: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-((4-метоксикарбонил)карбониламино)фенил)амино)кумарина (COUM-89)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 19а и N,N-диизопропилэтиламин в безводном дихлорметане, медленно добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий 4-метоксикарбонилбутирилхлорид, при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивают в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 3:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 82%.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8.48 (s, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.38-7.29 (m, 1H), 7.27 (d, J=4.3 Гц, 1H), 7.03 (t, J=10.1 Гц, 1H), 6.86 (t, J=7.5 Гц, 1H), 6.71 (d, J=8.7 Гц, 1H), 6.56 (dd, J=8.6, 2.6 Гц, 1H), 5.83 (s, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.70 (s, 3H), 3.36 (s, 3H), 2.49 (dt, J=14.5, 7.2 Гц, 4H), 2.11-2.03 (m, 2H). МС (ИЭР, m/z): 447,1 [M + Na]⁺.

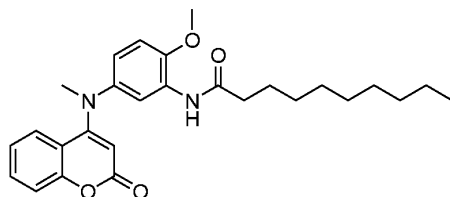
Воплощение 90: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-(гексанкарбониламино)фенил)амино)кумарина (COUM-90)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 19а и N,N-диизопропилэтиламин в безводном дихлорметане, медленно добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий гексаноилхлорид, при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивают в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 3:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 86%.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8.51 (d, J=2.3 Гц, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.33 (t, J=7.6 Гц, 1H), 7.27 (d, J=4.9 Гц, 1H), 7.05 (d, J=7.4 Гц, 1H), 6.86 (t, J=7.1 Гц, 1H), 6.71 (d, J=8.6 Гц, 1H), 6.55 (dd, J=8.6, 2.5 Гц, 1H), 5.83 (s, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.38 (m, 2H), 2.40 (m, 2H), 1.80-1.69 (m, 2H), 1.42-1.33 (m, 4H), 0.93 (t, J=6.9 Гц, 3H). МС (ИЭР, m/z): 417,1 [M + Na]⁺.

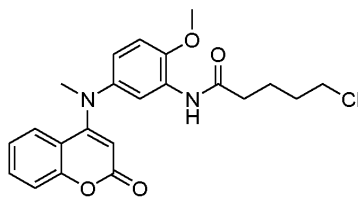
Воплощение 91: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-(деканкарбониламино)фенил)амино)кумарина (COUM-91)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 19а и N,N-диизопропилэтиламин в безводном дихлорметане, медленно добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий деканоилхлорид, при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивают в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 3:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 84%.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8.51 (d, J=2.5 Гц, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.36-7.30 (m, 1H), 7.29-7.27 (m, 1H), 7.05 (dd, J=8.2, 1.1 Гц, 1H), 6.91-6.81 (m, 1H), 6.71 (d, J=8.6 Гц, 1H), 6.55 (dd, J=8.6, 2.6 Гц, 1H), 5.83 (s, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.36 (s, 3H), 2.42 (t, J=7.6 Гц, 2H), 1.75 (dd, J=14.6, 7.4 Гц, 2H), 1.64-1.00 (m, 24H), 0.88 (t, J=6.8 Гц, 3H). МС (ИЭР, m/z): 473,4 [M + Na]⁺.

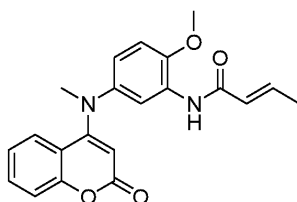
Воплощение 92: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-(5-хлор-н-пентанкарбониламино)фенил)амино)кумарина (COUM-92)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 19а и N,N-диизопропилэтиламин в безводном дихлорметане, медленно добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий 5-хлорвалерилхлорид, при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивают в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 3:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 83%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8.48 (d, $J=2.5$ Гц, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.33 (dd, $J=11.1, 4.1$ Гц, 1H), 7.28 (s, 1H), 7.07-7.01 (m, 1H), 6.91-6.81 (m, 1H), 6.72 (d, $J=8.6$ Гц, 1H), 6.57 (dd, $J=8.6, 2.6$ Гц, 1H), 5.83 (s, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.64-3.55 (m, 2H), 3.36 (s, 3H), 2.46 (d, $J=6.6$ Гц, 2H), 1.95-1.83 (m, 4H). МС (ИЭР, m/z): 437,5 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

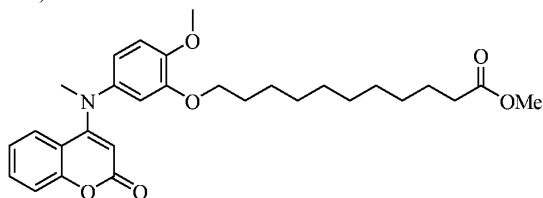
Воплощение 93: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-(бут-2-ен-карбониламино)фенил)амино)кумарин (COUM-93)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 19а и N,N-диизопропилэтиламин в безводном дихлорметане, медленно добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий бут-2-еноилхлорид, при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивают в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 3:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 78%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8.58 (s, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.36-7.29 (m, 1H), 7.27 (d, $J=2.7$ Гц, 1H), 7.08-6.95 (m, 2H), 6.85 (t, $J=7.0$ Гц, 1H), 6.72 (d, $J=8.6$ Гц, 1H), 6.57 (dd, $J=8.6, 2.5$ Гц, 1H), 6.01 (d, $J=14.9$ Гц, 1H), 5.84 (s, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.37 (s, 3H), 1.94 (d, $J=6.8$ Гц, 3H). МС (ИЭР, m/z): 387,5 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

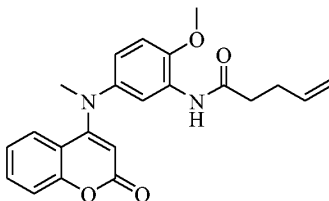
Воплощение 94: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-(1-метиловый эфир-декан-окси)фенил)амино)кумарина (COUM-94)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 15а и N,N-диизопропилэтиламин в безводном дихлорметане, медленно добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий метил-11-бром-ундецилат, при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивают в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 8:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 83%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7.33 (dd, $J=11.2, 4.1$ Гц, 1H), 7.28 (d, $J=5.2$ Гц, 1H), 6.98 (d, $J=8.3$ Гц, 1H), 6.85 (dd, $J=11.2, 4.2$ Гц, 1H), 6.79 (d, $J=8.4$ Гц, 1H), 6.66-6.60 (m, 2H), 5.82 (s, 1H), 3.89 (dd, $J=12.2, 5.3$ Гц, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.67 (s, 3H), 3.36 (s, 3H), 2.30 (t, $J=7.5$ Гц, 2H), 1.82-1.69 (m, 2H), 1.60 (d, $J=7.2$ Гц, 2H), 1.40 (m, 2H), 1.28 (s, 10H).

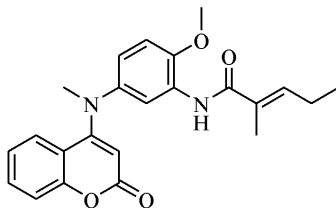
Воплощение 95: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-(пент-1-ен-карбониламино)фенил)амино)кумарина (COUM-95)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 19а и N,N-диизопропилэтиламин в безводном дихлорметане, медленно добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий пент-1-еноилхлорид, при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивают в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 3:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 83%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8.50 (d, $J=2.1$ Гц, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.32 (dd, $J=14.2, 7.2$ Гц, 1H), 7.27 (d, $J=5.1$ Гц, 1H), 7.05 (d, $J=8.3$ Гц, 1H), 6.86 (t, $J=7.6$ Гц, 1H), 6.71 (d, $J=8.6$ Гц, 1H), 6.56 (dd, $J=8.6, 2.4$ Гц, 1H), 5.91 (ddd, $J=16.9, 10.4, 6.1$ Гц, 1H), 5.84 (s, 1H), 5.14 (d, $J=16.6$ Гц, 1H), 5.07 (d, $J=10.3$ Гц, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.36 (s, 3H), 2.53 (d, $J=10.9$ Гц, 4H).

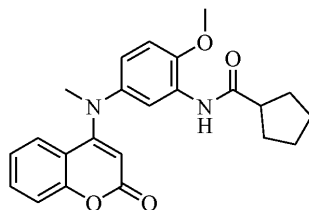
Воплощение 96: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-(4-метокси-пент-2-ен-карбониламино)фенил)амино)кумарина (COUM-96)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 19а и N,N-диизопропилэтиламин в безводном дихлорметане, медленно добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий пент-1-еноилхлорид, при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивают в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 3:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 81%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8.51 (d, $J=2.3$ Гц, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.33 (t, $J=7.6$ Гц, 1H), 7.27 (d, $J=4.9$ Гц, 1H), 7.05 (d, $J=7.4$ Гц, 1H), 6.86 (t, $J=7.1$ Гц, 1H), 6.71 (d, $J=8.6$ Гц, 1H), 6.55 (dd, $J=8.6, 2.5$ Гц, 1H), 6.34 (m, 1H), 5.83 (s, 1H), 3.88 (s, 3H), 2.34 (s, 3H), 2.02 (m, 2H), 1.01 (m, 3H).

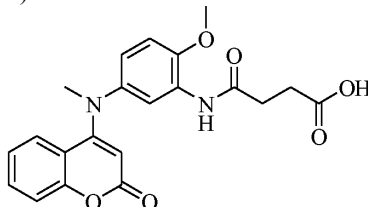
Воплощение 97: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-(циклопентилкарбониламино)фенил)амино)кумарина (COUM-97)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 19а и N,N-диизопропилэтиламин в безводном дихлорметане, медленно добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий циклопентанкарбонилхлорид, при перемешивании в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и перемешивают в течение ночи. На следующий день удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 3:1 для отделения остаточного субстрата с получением светло-желтого твердого вещества при выходе 81%.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8.51 (d, $J=2.3$ Гц, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.33 (t, $J=7.6$ Гц, 1H), 7.27 (d, $J=4.9$ Гц, 1H), 7.05 (d, $J=7.4$ Гц, 1H), 6.86 (t, $J=7.1$ Гц, 1H), 6.71 (d, $J=8.6$ Гц, 1H), 6.55 (dd, $J=8.6, 2.5$ Гц, 1H), 5.83 (s, 1H), 3.88 (s, 3H), 2.61 (m, 1H), 1.76-1.68 (m, 8H).

Воплощение 98: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-(1-карбоновая кислота-пропанкарбониламино)фенил)амино)кумарина (COUM-98)

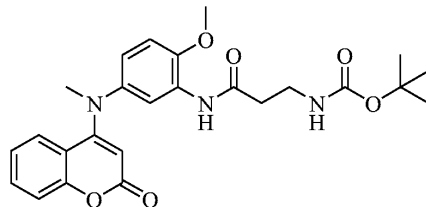


В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 19а, EDCI и DMAP в безводном дихлорметане, добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий ангидрид янтарной кислоты, в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и подвергают взаимодействию в течение ночи. На следующий день раствор дихлорметана удаляют роторным выпариванием, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, высушивают органическую фазу безводным сульфатом натрия, удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 1:1 для отделения остаточного суб-

страта с получением белого твердого вещества при выходе 58%.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8.43 (s, 1H), 8.02 (s, 1H), 7.36-7.30 (m, 1H), 7.27 (d, J=4.1 Гц, 1H), 7.03 (d, J=8.1 Гц, 1H), 6.86 (t, J=7.6 Гц, 1H), 6.72 (d, J=8.6 Гц, 1H), 6.58 (d, J=8.3 Гц, 1H), 5.85 (s, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.35 (s, 3H), 2.81 (d, J=5.3 Гц, 2H), 2.77 (d, J=5.2 Гц, 2H).

Воплощение 99: получение 4-(N-метил-N-(4-метокси-3-(Вос-β-аланинамид)фенил)амино)кумарина (COUM-99)



В защитной атмосфере азота растворяют промежуточное соединение 19a, EDCI и DMAP в безводном дихлорметане, добавляют по каплям раствор дихлорметана, содержащий Вос-β-аланин, в ледяной бане. Затем температуру повышают до комнатной и подвергают взаимодействию в течение ночи. На следующий день раствор дихлорметана удаляют роторным выпариванием, разбавляют большим количеством воды и проводят экстракцию этилацетатом три раза. Органические фазы объединяют, органическую фазу высушивают безводным сульфатом натрия, удаляют органический растворитель и проводят флэш-хроматографию со смесью петролейный эфир:этилацетат 3:1 для отделения остаточного субстрата с получением белого твердого вещества при выходе 58%.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8.43 (d, J=2.3 Гц, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.33 (dd, J=11.1, 4.1 Гц, 1H), 7.30-7.27 (m, 1H), 7.03 (t, J=11.6 Гц, 1H), 6.87 (dd, J=11.1, 4.1 Гц, 1H), 6.73 (d, J=8.7 Гц, 1H), 6.59 (dd, J=8.6, 2.5 Гц, 1H), 5.84 (s, 1H), 5.13 (s, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.53-3.46 (m, 2H), 3.36 (s, 3H), 2.65 (t, J=5.8 Гц, 2H), 1.45 (s, 9H).

Исследования фармакодинамики.

Воплощение 100: тесты на активность ингибирования пролиферации опухолевых клеток *in vitro*.

Производные кумарина по изобретению обладают статистически значимой фармакологической активностью, такой как противоопухолевая активность и активность, направленная против сосудистых заболеваний. Чтобы получить доказательство описанных выше признаков, для соединений воплощений изобретения были проведены тесты на активность ингибирования пролиферации опухолевых клеток.

1) Линия клеток и культура клеток.

Линию клеток немелкоклеточного рака легкого человека NCI-H460, линию клеток мелкоклеточного рака легкого человека NCI-H446, линию клеток гепатоцеллюлярной карциномы HepG2, линию клеток карциномы ободочной кишки человека HCT116, рака предстательной железы человека PC-3, меланомы человека A375, карциномы ободочной кишки HCT-8, линию клеток рака молочной железы MCF-7, линию клеток рака яичника A2780S, линию клеток лекарственно-резистентного рака яичника A2780/T, линию клеток лекарственно-резистентного рака ободочной кишки HCT-8/T и линию клеток доксорубицин-резистентного рака молочной железы MCF-7/ADR получают из Американской коллекции типовых культур (ATCC) и культивируют и хранят в банке клеток Государственной центральной лаборатории биопрепаратов Сычуаньского университета (State Key Laboratory of Biotherapy of Sichuan University). Описанные выше опухолевые клетки культивируют стандартными методами в питательной среде DMEM (модифицированная Дульбекко среда Игла), содержащей 10% фетальную сыворотку крупного рогатого скота (КРС), 100 ед./мл пенициллина и 100 мг/л стрептомицина, в инкубаторе при 37°C при насыщенной влажности воздуха и 5% концентрации CO₂.

2) Оборудование.

CO₂ инкубатор: ESCO CCL-170B-8, г. Сингапур. Цифровой инвертированный микроскоп: Olympus CKX31. Прямой микроскоп исследовательского уровня: Olympus BX51TRF. Считывающее устройство для микропланшетов: M5 от компании Molecular Device, США. Центрифуга с нормальной температурой: Thermo SOROALLST16, изготавливаемая компанией ThermoScientific. Система очистки воды: FTPNO9748, изготавливаемая компанией Millipore, США. Вертикальный автоклав: MLS-3780, изготавливаемый компанией SANYO, Япония. Термостатируемая водяная баня: DF-101S, изготавливаемая компанией Yu Hua Instrument Co., Ltd., г. Гонгуй. Особо чистая лаборатория: бокс биологической безопасности ESCO, AC2-L1S1 класса II, изготавливаемый компанией ESCO, г. Сингапур. Вихревая мешалка: cel-866, изготавливаемый компанией Haimen Kylin-Bell Lab Instruments Co., Ltd. pH-метр: DELTA320, изготавливаемый компанией METTLER TOLEDO. Весы: LD5102 от компании Longteng Electronics Co., Ltd. Гидротермограф: GJWS-A5, изготавливаемый компанией Wuqiang Hygrothermograph Manufacturing Center г. Хенгшуй, провинция Хэбэй. Контейнер с азотом: CY50985-70, изготавливаемый компанией Thermo, США.

3) Подсчет клеток.

Культуру клеток подвергают расщеплению *in vitro* 0,25% трипсином, мягко барботируют и собирают центрифугированием при 1200 g в течение 3 мин, клетки ресуспендируют в свежей питательной среде

и разводят до надлежащей плотности. После перемешивания отбирают небольшое количество суспензии на гемоцитометр и подсчитывают с помощью инвертированного микроскопа. Регистрируют количество клеток в 4 больших квадратах, вычисляют среднее значение и умножают его на 10^4 , а затем умножают полученное значение на коэффициент разведения с получением значения плотности клеток и умножают значение плотности клеток на общий объем с получением количества клеток.

4) Засев культивируемых клеток *in vitro* в 96-луночный планшет.

После расщепления клеток 0,25% трипсином и центрифугирования добавляют полную среду для суспензии и подсчитывают клетки при помощи гемоцитометра. Разведенную суспензию клеток разливают в 96-луночный планшет по 1000-10000 клеток на лунку и инкубируют в CO_2 инкубаторе в течение ночи.

5) Тест МТТ (анализ на основе 3-4,5-диметилтиазол-2-ил-2,5-дифенилтетразолия бромид).

Отбирают клетки в логарифмической фазе роста, подвергают их расщеплению 0,25% трипсином, доводят концентрацию суспензии клеток до нужного значения полной средой, засевают клетки в 96-луночный планшет в концентрации 1000-10000 клеток на лунку, 200 мкл на лунку, инкубируют в инкубаторе при 37°C и при 5% концентрации CO_2 в течение 24 ч. Среду заменяют свежей средой, содержащей различные концентрации тестируемых соединений на экспериментальную группу, и заменяют свежей средой в объеме, равном объему среды для контрольной группы, каждую группу распределяют в 5 параллельных лунок и инкубируют в инкубаторе при 37°C и при 5% концентрации CO_2 .

Через 72 ч супернатант отбрасывают, добавляют в каждую лунку 200 мкл свежеприготовленной среды без сыворотки, содержащей 0,2 мг/мл МТТ, продолжают инкубацию при 37°C в течение 1-4 ч, затем прекращают инкубацию, осторожно удаляют супернатант культуры из лунок и добавляют 200 мкл ДМСО (диметилсульфоксида), обрабатывают на миниатюрном ультразвуковом осцилляторе в течение 15-20 мин до полного растворения кристаллов и перемешивают. Определяют значения оптической плотности (OD) на считывающем устройстве для микропланшетов при длине волны 570 нм и длине волны сравнения 450 нм.

6) Обработка данных.

Коэффициент ингибирования роста опухолевых клеток рассчитывают при градиенте концентрации лекарственного средства по следующей формуле:

$$\text{относительный коэффициент ингибирования роста для опухолевых клеток (\%)} = (1 - \text{OD тестируемой группы} / \text{OD контрольной группы}) \times 100\%.$$

Кривые строят на основании коэффициента ингибирования роста опухолевых клеток одного и того же образца с получением кривой зависимости ответа от дозы и, таким образом, рассчитывают IC_{50} . Каждый тест повторяют 3 раза, измеряют IC_{50} (мкмоль/л) или наномолярную концентрацию (нмоль/л) соединений в различных опухолевых клетках.

7) Результаты теста.

В табл. 1 представлен перечень диапазонов IC_{50} (мкмоль/л) соединений для линии клеток гепатоцеллюлярной карциномы HepG2 и клеток карциномы ободочной кишки HCT116, в которой знаком «+» указана IC_{50} более 5 мкмоль/л, «++» указан диапазон 100 нмоль/л менее IC_{50} менее 5 мкмоль/л, «+++» указан диапазон 10 нмоль/л менее IC_{50} менее 100 нмоль/л и «++++» указан диапазон 0,01 менее IC_{50} менее 10 нмоль/л.

Структурная формула MPC-6827 в табл. 1 представляет собой

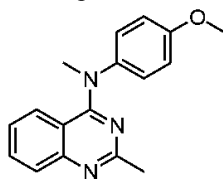


Таблица 1. IC_{50} соединений для опухолевых клеток

Соединения	Активность					
	HepG2	HCT116	H460	MCF-7	PC-3	A375
MPC-6827	++++	++++	++++	++++	++++	++++
COUM-1	+	+	+	+	+	+
COUM-2	+	+	+	+	+	+
COUM-3	+	+	+	+	+	+
COUM-4	+	+	+	+	+	+

COUM-5	+	+	+	+	+	+
COUM-6	+	+	+	+	+	+
COUM-7	+	+	+	+	+	+
COUM-8	+	+	+	+	+	+
COUM-9	+	+	+	+	+	+
COUM-10	+	+	+	+	+	+
COUM-11	+	+	+	+	+	+
COUM-12	+	+	+	+	+	+
COUM-13	+	+	+	+	+	+
COUM-14	+	+	+	+	+	+
COUM-15	+	+	+	+	+	+
COUM-16	+	+	+	+	+	+
COUM-17	+	+	+	+	+	+
COUM-18	+	+	+	+	+	+
COUM-19	+	+	+	+	+	+
COUM-20	+	+	+	+	+	+
COUM-21	+	+	+	+	+	+
COUM-22	+	+	+	+	+	+
COUM-23	+	+	+	+	+	+
COUM-24	+	+	+	+	+	+
COUM-25	+	+	+	+	+	+
COUM-26	+	+	+	+	+	+

COUM-27	+	+	+	+	+	+
COUM-28	+	+	+	+	+	+
COUM-29	+	+	+	+	+	+
COUM-30	+	+	+	+	+	+
COUM-31	+	+	+	+	+	+
COUM-32	+	+	+	+	+	+
COUM-33	+	+	+	+	+	+
COUM-34	+	+	+	+	+	+
COUM-35	+	+	+	+	+	+
COUM-36	+	+	+	+	+	+
COUM-37	++	++	++	++	++	++
COUM-38	++	++	++	++	++	++
COUM-39	++	++	++	++	++	++
COUM-40	+++	+++	+++	+++	+++	+++
COUM-41	+++	+++	+++	+++	+++	+++
COUM-42	+++	+++	+++	+++	+++	+++
COUM-43	+++	+++	+++	+++	+++	+++
COUM-44	+++	+++	+++	+++	+++	+++
COUM-45	+++	+++	+++	+++	+++	+++
COUM-46	++++	++++	++++	++++	++++	++++
COUM-47	+++	+++	+++	+++	+++	+++
COUM-48	++++	++++	++++	++++	++++	++++

COUM-49	++	++	++	++	++	++
COUM-50	+++	+++	+++	+++	+++	+++
COUM-51	+	+	+	+	+	+
COUM-52	++	++	++	++	++	++
COUM-53	++	++	++	++	++	++
COUM-54	++	++	++	++	++	++
COUM-55	++	++	++	++	++	++
COUM-56	++	++	++	++	++	++
COUM-57	+++	+++	+++	+++	+++	+++
COUM-58	+	+	+	+	+	+
COUM-59	++	++	++	++	++	++
COUM-60	++	++	++	++	++	++
COUM-61	++	++	++	++	++	++
COUM-62	++	++	++	++	++	++
COUM-63	++	++	++	++	++	++
COUM-64	+	+	+	+	+	+
COUM-65	+++	+++	+++	+++	+++	+++
COUM-66	+++	+++	+++	+++	+++	+++
COUM-67	+++	+++	+++	+++	+++	+++
COUM-68	++++	++++	++++	++++	++++	++++
COUM-69	++++	++++	++++	++++	++++	++++
COUM-70	++++	++++	++++	++++	++++	++++

COUM-71	++++	++++	++++	++++	++++	++++
COUM-72	++++	++++	++++	++++	++++	++++
COUM-73	++++	++++	++++	++++	++++	++++
COUM-74	++++	++++	++++	++++	++++	++++
COUM-75	++++	++++	++++	++++	++++	++++
COUM-76	++++	++++	++++	++++	++++	++++
COUM-77	++++	++++	++++	++++	++++	++++
COUM-78	+++	+++	+++	+++	+++	+++
COUM-79	++++	++++	++++	++++	++++	++++
COUM-80	++++	++++	++++	++++	++++	++++
COUM-81	++++	++++	++++	++++	++++	++++
COUM-82	+	+	+	+	+	+
COUM-83	++	++	++	++	++	++
COUM-84	+++	+++	+++	+++	+++	+++
COUM-85	++	++	++	++	++	++
COUM-86	++	++	++	++	++	++
COUM-87	++++	++++	++++	++++	++++	++++
COUM-88	+++	+++	+++	+++	+++	+++
COUM-89	+++	+++	+++	+++	+++	+++
COUM-90	+++	+++	+++	+++	+++	+++
COUM-91	++	++	++	++	++	++
COUM-92	+++	+++	+++	+++	+++	+++
COUM-93	++	++	++	++	++	++
COUM-94	+	+	+	+	+	+
COUM-95	+++	+++	+++	+++	+++	+++
COUM-96	+++	+++	+++	+++	+++	+++
COUM-97	++	++	++	++	++	++
COUM-98	++	++	++	++	++	++
COUM-99	++++	++++	++++	++++	++++	++++

На основании табл. 1 можно заключить, что многие соединения из табл. 1 характеризуются высокими показателями активности, направленными против пролиферации опухолевых клеток. При этом соединения COUM-46, COUM-48, COUM-57, COUM-68, COUM-69, COUM-70, COUM-71, COUM-72, COUM-73, COUM-74, COUM-75, COUM-76, COUM-77, COUM-78, COUM-79, COUM-80, COUM-81, COUM-87, COUM-88, COUM-89, COUM-90, COUM-91, COUM-92, COUM-93, COUM-96 и т.д. обладают лучшей противоопухолевой активностью со значениями IC_{50} 0,01-10 нмоль/л. Активность некоторых соединений по изобретению превышала активность MPC6827, таксола, винкристина, колхицина и других

положительных контрольных лекарственных средств.

Таблица 2. Значения IC_{50} (нмоль/л) соединений для чувствительных и лекарственно-резистентных опухолевых клеток

IC_{50} /нмоль/л	A2780S	A2780/T	IC_{50} /нмоль/л	MCF-7	MCF-7/ADR
MPC6827	3,162±0,034	4,113±0,062	MPC6827	0,581±0,004	0,699±0,053
COUM-71	2,184±0,018	24,630±0,431	COUM-71	0,380±0,008	0,801±0,102
COUM-73	1,678±0,075	3,343±0,101	COUM-80	0,358±0,242	0,919±0,163
COUM-75	1,185±0,046	2,153±0,140	COUM-95	96,980±5,887	111,010±50,324
COUM-76	2,164±0,043	3,171±0,121	COUM-87	4,910±0,018	7,782±0,736
COUM-77	1,102±0,001	6,110±0,010	COUM-92	54,690±3,915	188,576±14,831
COUM-79	0,113±0,005	0,722±0,151	COUM-81	4,440±0,344	9,745±0,836
COUM-80	0,416±0,013	3,101±0,333	Таксол	32,270±19,46	9,153±56,19 (мкмоль/л)
COUM-46	2,005±0,047	3,174±0,073	Винкристин	54,740±527,6	5,846±1,39 (мкмоль/л)
COUM-87	1,981±0,060	2,132±0,023	Колхицин	64,130±9,188	6,005±3,100 (мкмоль/л)
COUM-96	219,90±11,1	310,1±19,85			
COUM-99	115,6±52,09	121,1±61,07	IC_{50} /нмоль/л	НСТ-8	НСТ-8 /V
COUM-95	56,83±3,90	57,11±4,342	MPC6827	3,117±0,066	3,748±0,131
COUM-89	257,2±16,7	281,1±20,10	COUM-71	0,732±0,023	1,935±0,944
COUM-90	387,11±29,21	399,1±30,13	COUM-80	0,987±0,004	1,986±0,036
COUM-69	4,72±0,302	5,231±0,212	COUM-95	58,726±2,278	231,200±135,60
COUM-70	30,76±3,160	31,119±3,52	COUM-87	2,765±0,823	6,234±58,355
COUM-48	4,030±0,752	4,321±0,764	COUM-92	32,873±11,76	46,760±4,392
COUM-57	29,12±1,168	32,346±1,21	COUM-81	7,123±0,182	18,890±5,983
COUM-68	3,112±0,430	3,853±0,562	Таксол	36,987±23,87	0,189±0,052 (мкмоль/л)
COUM-91	296,18±18,3	311,1±14,27	Винкристин	14,771±3,15	0,023±0,004 (мкмоль/л)
COUM-92	33,67±12,34	61,13±12,90	Колхицин	29,718±9,269	0,144±0,032 (мкмоль/л)
COUM-81	4,312±0,019	6,129±0,013			
Таксол	58,09±24,10	8115,100±185			
Винкристин	22,45±2,68	476,24±76,14			
Колхицин	30,81±9,875	491,13±39,02			

В табл. 2 показано, что многие соединения не только обладают высокой антипролиферативной активностью в отношении клеток рака яичника A2780S, клеток карциномы ободочной кишки НСТ-8 и клеток рака молочной железы MCF-7, но также характеризуются высокой антипролиферативной активностью в отношении таксол-резистентных клеток рака яичника A2780/T, таксол-резистентных клеток рака ободочной кишки НСТ-8/T и доксорубицин-резистентных клеток рака молочной железы MCF-7/ADR. При этом все соединения COUM-71, COUM-80, COUM-87 и COUM-81 показали лучшую активность по сравнению с таксолом, винкристином и колхицином.

Воплощение 101: деполимеризация некоторых соединений на микротрубочках путем применения методики иммунофлуоресценции.

1) Аналитическая методика.

В 6-луночный планшет помещают покровные стекла округлой формы, высевают в 6-луночный планшет клетки гепатоцеллюлярной карциномы HepG2 о оставляют клетки для прикрепления к округлым покровным стеклам. Вносят 200 нмоль/л колхицина и 300 нмоль/л таксола в качестве положительных контрольных лекарственных средств, соответственно вносят ДМСО в трех концентрациях или равный объем для тестируемых соединений MPC-6827, COUM-87, COUM-92, COUM-95, COUM-71, COUM-

76, COUM-79, COUM-81 и COUM-83, и клетки обрабатывают в течение 16 ч; культуральную жидкость из клеток удаляют, один раз промывают клетки ФСБ (фосфатно-солевой буфер), а затем в лунки вносят 4% параформальдегид и фиксируют при комнатной температуре в течение 15 мин; промывают один раз холодным ФСБ; в лунки вносят ФСБ, содержащий 0,5% Triton X-100 при комнатной температуре на 10 мин; вносят блокирующий буфер для блокирования при комнатной температуре в течение 30 мин; инкубируют с первичными антителами к β -тубулину в условиях увлажнения, инкубируют при комнатной температуре в течение 1 ч, промывают ФСБ 3 раза; инкубируют меченые 488 козы антимышинные вторичные антитела (приобретенные у компании Beijing Zhongshan Golden Bridge Biotechnology) в течение 45 мин; вносят раствор DAPI (4',6-диамидино-2-фенилиндол) для окрашивания при комнатной температуре в течение 5 мин в темном месте; промывают ФСБ 3 раза; помещают округлые покровные стекла на предметные стекла, наносят противогасящий агент для заклеивания предметных стекол, а затем наблюдают ингибирование микротрубочек соединениями с помощью инвертированного флуоресцентного микроскопа Axiovert 200 компании Zeiss.

2) Результаты теста.

На фиг. 1 и 2 показано, что в контрольной группе, обработанной ДМСО, микротрубочка имеет естественную упорядоченную структуру, при этом в группе MPC-6827 положительные контрольные лекарственных средств микротрубочка неспособна к образованию упорядоченных нитевидных структур в связи с ингибированием полимеризации и имеет кажущийся вид рассеянного и однородного распределения по контуру клетки. Все соединения COUM-79, COUM-81, COUM-87, COUM-92 и COUM-95 в патенте характеризуются улучшенной способностью к ингибированию полимеризации микротрубочки по мере возрастания концентрации. В частности, для соединений COUM-79, COUM-81 и COUM-87 в условиях концентрации 1 нмоль/л можно наблюдать лишь несколько нитевидных структур, а при возрастании концентрации до 3 нмоль/л структуры микротрубочки полностью повреждены, что свидетельствует о более активной деполимеризации по сравнению с MPC-6827. Все эти данные свидетельствуют о том, что соединения способны к ингибированию полимеризации микротрубочек.

Воплощение 102: фармакодинамика в моделях опухолей *in vivo* у мышей, несущих опухоли.

1) Соединения: 9 соединений, включающих COUM-87, COUM-89, COUM-92, COUM-95, COUM-71, COUM-76, COUM-77, COUM-80 и COUM-83.

2) Экспериментальные животные и питательные среды.

Бестимусных мышей BALB/c уровня, свободного от специфической патогенной микрофлоры (СПФ) (Balb/c nu/nu), и самок белых мышей в возрасте 4-6 недель, массой 18-22 г, приобретенных в компании Beijing Huafukang Bioscience Co., Inc., № лицензии: SCXK (J) 2009-0004 и SCXX (J) 2014-0004, выращивали в виварии уровня СПФ.

Модифицированную среду RPMI 1640 приобретают в компании HyClone. Для серии № NWE 0416 со спецификацией для 500 мл дата истечения срока годности составляла 31 мая 2012 г.; для серии NYG0920 со спецификацией 500 мл дата истечения срока годности составляла 31 июля 2014 г.; для серии № NZG1176 со спецификацией 500 мл дата истечения срока годности составляла 31 июля 2015 г.; и для серии NZG1177 со спецификацией 500 мл дата истечения срока годности составляла 31 июля 2015 г. Все питательные среды хранят при 2-8°C.

Питательную среду DMEM приобретают в компании HyClone под № серии NZB1077, спецификация 500 мл, дата истечения срока годности 28 февраля 2015 г., и хранят при 2-8°C.

3) Культура клеток.

Линии клеток карциномы легкого человека H460 и карциномы ободочной кишки мыши C26 культивируют в питательной среде RPMI 1640 (компания HyClone), содержащей 10% сыворотку крупного рогатого скота (от компании Hohhot Caoyuan Luye Bioengineering Material Co., Ltd.) и 100 ед./мл пенициллина и стрептомицина. Отбирают клетки в логарифмической фазе, расщепляют 0,25% трипсином и подсчитывают, и суспензию отдельных клеток разводят питательной средой без сыворотки KPC до 1×10^7 или 6×10^7 клеток/мл для остановки роста.

4) Инокуляция, распределение по группам и введение препарата.

Опухолевые клетки собирают в асептических условиях, регулируют плотность клеток до 5×10^7 клеток/мл стерилизованным физиологическим раствором, инокулируют подкожно в объеме 0,2 мл в подкожную впадину и спину бестимусных мышей, удаляют опухоль после ее вырастания до 1 см в диаметре в асептических условиях, разрезают на блоки опухоли 1 мм $\times$ 1 мм и равномерно инокулируют подкожно в подкожную впадину и спину бестимусных мышей для субкультивирования. После 2 субкультур и после вырастания опухоли до 1 см в диаметре ее удаляют в асептических условиях, разрезают на блоки опухоли 1 мм $\times$ 1 мм и равномерно инокулируют подкожно в подкожную впадину и спину бестимусных мышей. Через 7 дней, когда опухоль вырастает до 100-300 мм³, животных распределяют в группы и проводят инъекцию в хвостовую вену (в/в) раз в два дня; дозы и способы введения указаны в табл. 3 и 4.

Таблица 3. Распределение в группы экспериментального лечения карциномы ободочной кишки C26

Соединения	Дозировка (мг/кг)	Способ введения	Периодичность введения
Физиологический раствор	-	-	-
MPC-6827	5	в/в	Один раз/два дня
COUM-87	5	в/в	Один раз/два дня
COUM-89	5	в/в	Один раз/два дня
COUM-92	5	в/в	Один раз/два дня
COUM-95	5	в/в	Один раз/два дня
COUM-71	5	в/в	Один раз/два дня
COUM-76	5	в/в	Один раз/два дня
COUM-77	5	в/в	Один раз/два дня
COUM-80	5	в/в	Один раз/два дня
COUM-83	5	в/в	Один раз/два дня

Таблица 4. Распределение в группы для экспериментального лечения карциномы легкого H460

Соединения	Дозировка (мг/кг)	Способ введения	Периодичность введения
Физиологический раствор	-	-	-
MPC6827	2,5	в/в	Один раз/два дня
COUM-87	10	в/в	Один раз/два дня
COUM-92	10	в/в	Один раз/два дня
COUM-95	10	в/в	Один раз/два дня
COUM-87 гидрохлорид	10	в/в	Один раз/два дня
COUM-71	10	в/в	Один раз/два дня
COUM-76	10	в/в	Один раз/два дня
COUM-79	10	в/в	Один раз/два дня
COUM-81	10	в/в	Один раз/два дня
COUM-83	10	в/в	Один раз/два дня

5) Индикаторы и стандарты оценки эффекта.

(1) Объем опухоли (TV), относительный объем опухоли (RTV) и относительная скорость пролиферации опухоли: измеряют длинный диаметр и короткий диаметр опухоли раз в два дня при помощи штангенциркуля с нониусом или линейки с точностью до 1/50 мм и наблюдают противоопухолевые эффекты лекарственных средств в динамике.

Объем опухоли (TV) рассчитывают по формуле:

$$TV (мм^3) = a \times b^2 \times \pi / 6,$$

где а и b обозначают длинный диаметр и короткий диаметр соответственно.

На основании результатов измерения рассчитывают относительный объем опухоли (RTV) по формуле

$$RTV = V_t / V_0,$$

где V₀ обозначает измеренный TV каждой группы на момент распределения по группам для введения препарата (т. е. d₀), а V_t обозначает значение TV каждой группы для каждого измерения.

В качестве индикатора для оценки противоопухолевой активности используют относительную скорость пролиферации опухоли T/C (%), которую вычисляют по формуле

$$T/C(\%) = \frac{TRTV}{CRTV} 100\%$$

TRTV: относительный объем опухоли группы, получающей препарат; CRTV: относительный объем опухоли группы, получающей отрицательный контроль.

Стандарт оценки лечебных эффектов: Т/С (%) более 60, отсутствие эффективности; Т/С (%) меньше или равно 60 и Р менее 0,05 после статистической обработки, эффективно.

(2) Измерение массы опухоли и расчет коэффициента ингибирования опухоли (%).

В конце периода введения препарата животное умерщвляют, вскрывают и извлекают опухоль, опухоль взвешивают и снимают изображение. Коэффициент ингибирования опухоли (%) рассчитывают по следующей формуле:

Коэффициент ингибирования опухоли (ингибирование скорости роста опухоли, %)

$$= \frac{\text{Средняя масса опухоли группы отрицательного контроля (г)} - \text{средняя масса опухоли экспериментальной группы (г)}}{\text{Средняя масса опухоли группы отрицательного контроля (г)}}$$

Стандарт оценки лечебного эффекта: коэффициент ингибирования опухоли (т.е. ингибирование скорости роста опухоли) <40%, отсутствие эффективности; ингибирование скорости роста опухоли ≥40% и Р <0,05 после статистической обработки, эффективно.

6) Результаты теста.

Таблица 5. Влияние соединений на массу трансплантированной подкожно карциномы ободочной кишки мыши С26 и скорость роста опухоли

	Средняя масса опухоли (г)	Коэффициент ингибирования опухоли (%)	Р	t критерий
Физиологический раствор	2,46			0,83
MPC-6827	0,525	78,66	<0,001	0,27
COUM-87	0,45	81,70	<0,001	0,15
COUM-89	1,99	19,12	0,05	0,84
COUM-92	0,98	60,26	<0,001	0,35
COUM-95	0,68	72,26	<0,001	0,26
COUM-71	1,58	35,77	ns	0,68
COUM-76	1,64	33,18	ns	0,40
COUM-77	1,82	26,12	ns	0,91
COUM-80	2,00	18,60	ns	0,56
COUM-83	1,74	29,12	ns	0,95

На основании фиг. 3 и табл. 5 можно сделать вывод, что все репрезентативные соединения, такие как COUM-87, COUM-92 и COUM-95 и положительный контрольный препарат MPC-6827, характеризуются высокой противоопухолевой активностью в модели карциномы ободочной кишки мыши. Коэффициент ингибирования в модели карциномы ободочной кишки мыши С26 составляет соответственно 81,70, 60,26 и 72,66%, и в период введения препарата не наблюдают изменения массы тела мышей. Хотя положительный контрольный препарат MPC-6827 характеризуется коэффициентом ингибирования 78,66%, в период введения препарата у мышей отмечено статистически значимое снижение массы тела и даже летальные исходы. Это свидетельствует о более низкой токсичности соединений по изобретению по сравнению с положительным контрольным препаратом MPC-6827 и обладают лучшими противоопухолевыми эффектами.

Таблица 6. Влияние соединений на массу подкожной карциномы легкого человека H460 у бестимусных мышей и коэффициент ингибирования опухоли

	Средняя масса опухоли (г)	Коэффициент ингибирования опухоли (%)	Стандартное отклонение	t критерий
Физиологический раствор	2,01		0,56	
COUM-87	0,61	69,88	0,28	0,14
COUM-92	0,42	79,12	0,10	0,64
COUM-95	0,47	76,64	0,13	0,39
COUM-87 гидрохлорид	0,60	70,37	0,13	0,05

COUM-71	0,98	51,53	0,41	0,01
COUM-76	1,00	50,12	0,28	0,16
COUM-79	0,93	53,74	0,33	0,04
COUM-81	0,79	60,70	0,24	0,05
COUM-83	1,05	48,05	0,39	0,01

На фиг. 4 и в табл. 6 показана противоопухолевая активность многих репрезентативных соединений на основании модели карциномы легкого человека H460. Как показано на фиг. 4 и в табл. 6, на основании результатов теста все соединения COUM-87, COUM-92, COUM-95, COUM-71, COUM-76, COUM-79, COUM-81, COUM-83 и COUM-87 гидрохлорид при внутривенном введении в дозе 10 мг/кг характеризуются коэффициентом ингибирования опухоли более 40% по сравнению с контрольной группой, получавшей холостой раствор, в модели карциномы легкого человека H460 и характеризуются хорошими лечебными эффектами. При этом соединения COUM-87, COUM-92 и COUM-95 соответственно характеризуются коэффициентом ингибирования опухоли 69,88, 79,12 и 76,64%, проявляя лучшие противоопухолевые эффекты. По сравнению с контрольной группой, получавшей холостой раствор, в период введения препарата при применении описанных выше соединений статистически значимых изменений массы тела не наблюдали, что указывает на относительно низкую токсичность.

Воплощение 103: фармакодинамика в моделях опухоли у мышей, несущих опухоль, для клеток рака яичника человека A2780S и таксол-резистентных клеток A2780/Taxol.

1) Соединения: COUM-87 цитрат и COUM-92.

2) Экспериментальные животные и питательная среда.

Бестимусных мышей BALB/c уровня, свободного от специфической патогенной микрофлоры (СПФ) (Balb/C nu/nu), и самок белых мышей в возрасте 4-6 недель, массой 18-22 г, приобретали в компании Beijing Huafukang Bioscience Co., Inc., № лицензии: SCXK (J) 2014-0012. Условия тестирования: виварий СПФ-уровня, использование допустимого количества экспериментальных животных: SYXK (J) 2015-0023.

Модифицированную среду RPMI 1640 приобретали в компании HyClone. Для серии № NWE 0416 со спецификацией для 500 мл дата истечения срока годности составляла 31 мая 2012 г.; для серии NYG0920 со спецификацией 500 мл дата истечения срока годности составляла 31 июля 2014 г.; для серии № NZG1176 со спецификацией 500 мл дата истечения срока годности составляла 31 июля 2015 г.; и для серии NZG1177 со спецификацией 500 мл дата истечения срока годности составляла 31 июля 2015 г. Все питательные среды хранят при 2-8°C.

Питательную среду DMEM приобретают в компании HyClone под № серии NZB1077, спецификация 500 мл, дата истечения срока годности 28 февраля 2015 г., и хранят при 2-8°C.

3) Культура клеток.

Клетки рака яичника человека A2780S и таксол-резистентные клетки рака яичника человека A2780/Taxol в среде RPMI 1640 (от компании HyClone), содержащей 10% фетальную сыворотку KPC (от компании Hohhot Caoyuan Lvyue Bioengineering Material Co., Ltd.) и 100 ед./мл пенициллина и стрептомицина. Отбирают клетки в логарифмической фазе роста, расщепляют 0,25% трипсином, подсчитывают и суспензию отдельных клеток разводят питательной средой без фетальной сыворотки KPC до 1×10^7 или 6×10^7 клеток/мл для остановки роста.

4) Инокуляция, распределение в группы и введение препарата: клетки рака яичника человека A2780S и таксол-резистентные клетки рака яичника человека A2780/Taxol собирают в асептических условиях, плотность клеток регулируют до 5×10^7 клеток/мл стерильным физиологическим раствором, инокулируют подкожно 0,1 мл в подмышечную впадину и спину бестимусных мышей, извлекают опухоль при вырастании до диаметра 1 см в асептических условиях, разрезают на блоки опухоли 1 мм × 1 мм и равномерно инокулируют подкожно в подмышечную впадину и спину бестимусных мышей для субкультивирования. Через 12 дней после вырастания опухоли до 100-300 мм³ проводят случайное разделение животных в группы и выполняют введение препаратов. В группе, получающей холостой раствор, вводят 0,2 мл/мышь физиологического раствора путем инъекции в хвостовую вену раз в два дня; в группе MPC6827 вводят MPC6827 в дозе 5 мг/кг путем инъекции в хвостовую вену раз в семь дней; в группе, получающей таксол, вводят таксол в дозе 10 мг/кг интраперитонеальным путем раз в два дня, а в группе, получающей 30 мг/кг, его вводят интраперитонеальным путем раз в семь дней; цитрат COUM-87 и COUM-92 вводят в дозе 2,5, 5 и 10 мг/кг путем инъекции в хвостовую вену раз в два дня, а в дозе 20 мг/кг путем инъекции в хвостовую вену раз в семь дней. Раз в два дня мышей взвешивают и измеряют длину и ширину опухоли при помощи штангенциркуля с нониусом, после 20-дневного периода введения препаратов проводят цервикальную дислокацию мышей, извлекают опухолевую ткань, взвешивают и получают изображение. Наконец, рассчитывают коэффициент ингибирования опухоли (%) для оценки противоопухолевых эффектов. В табл. 7 приведен перечень лечебных эффектов соединений в отношении клеток рака яичника A2780S и A2780T.

Таблица 7. Сводные данные по лечебным эффектам в отношении клеток рака яичника A2780S и A2780T

Модель опухоли	Соединения	Описание введения			Частота летальных исходов	Масса тела мыши (г)		Объем опухоли (мм ³)			Масса опухоли (г)	
		Доза мг/кг	Периодичность	Способ		Начальная	Конечная	Начальная	Конечная	T/C (%)	X $\pm$ SD	Коэф. ингибирования %
A2780s	Контрольная группа, получающая холостой раствор	--	Один раз/два дня	Внутривенно	0/6	20,7 $\pm$ 0,7	23,6 $\pm$ 0,6	148,0	1512,5	HO ^b	1,64 $\pm$ 0,25	HO
	COUM-87 цитрат	2,5	Один раз/два дня	Внутривенно	0/6	21,0 $\pm$ 1,0	21,8 $\pm$ 0,5	137,0 $\pm$ 17,8	260,7 $\pm$ 45,3 ^c	18,6	0,25 $\pm$ 0,10 ^c	85,0
	COUM-87 цитрат	5	Один раз/два дня	Внутривенно	0/6	21,0 $\pm$ 0,7	22,1 $\pm$ 0,2	136,1 $\pm$ 25,9	203,6 $\pm$ 32,7 ^c	14,6	0,22 $\pm$ 0,04 ^c	86,6
	COUM-87 цитрат	10	Один раз/два дня	Внутривенно	0/6	20,8 $\pm$ 0,7	21,8 $\pm$ 0,4	138,3 $\pm$ 21,8	153,7 $\pm$ 28,4 ^c	10,9	0,21 $\pm$ 0,03 ^c	87,5
	COUM-92	2,5	Один раз/два дня	Внутривенно	0/6	21,2 $\pm$ 0,8	23,3 $\pm$ 0,7	143,4 $\pm$ 13,4	312,7 $\pm$ 254,2 ^c	21,3	0,39 $\pm$ 0,35 ^c	76,52
	COUM-92	5	Один раз/два дня	Внутривенно	0/6	21,4 $\pm$ 1,2	23,0 $\pm$ 0,5	140,3 $\pm$ 20,5	208,2 $\pm$ 15,4 ^c	14,5	0,25 $\pm$ 0,04 ^c	85,06
	COUM-92	10	Один раз/два дня	Внутривенно	0/6	20,9 $\pm$ 0,5	22,6 $\pm$ 0,6	139,0 $\pm$ 23,2	162,4 $\pm$ 41,1 ^c	11,4	0,18 $\pm$ 0,06 ^c	88,82
	Таксол	30	Один раз/семь дней	Интраперитонеально	0/6	21,0 $\pm$ 0,7	18,2 $\pm$ 0,4	138,1 $\pm$ 25,6	184,8 $\pm$ 26,6 ^c	13,1	0,28 $\pm$ 0,07 ^c	82,9
A2780/T	Контрольная группа, получающая холостой раствор	--	Один раз/два дня	Внутривенно	0/6	20,3 $\pm$ 0,7	21,5 $\pm$ 0,5	155,1 $\pm$ 17,8	1237,4 $\pm$ 571,9	NA	1,27 $\pm$ 0,68	NA
	COUM-87 цитрат	2,5	Один раз/два дня	Внутривенно	0/6	20,3 $\pm$ 1,1	22,2 $\pm$ 0,9	153,2 $\pm$ 18,8	371,0 $\pm$ 183,1 ^b	30,34	0,36 $\pm$ 0,20	72,1
	COUM-87 цитрат	5	Один раз/два дня	Внутривенно	0/6	20,7 $\pm$ 0,9	21,2 $\pm$ 0,6	161,9 $\pm$ 19,2	274,3 $\pm$ 56,1 ^c	21,23	0,21 $\pm$ 0,06	83,9
	COUM-87 цитрат	10	Один раз/два дня	Внутривенно	0/6	20,0 $\pm$ 0,6	20,4 $\pm$ 0,4	149,6 $\pm$ 13,4	243,6 $\pm$ 57,1 ^c	20,41	0,17 $\pm$ 0,08	86,9
	COUM-92	2,5	Один раз/два дня	Внутривенно	0/6	20,2 $\pm$ 0,4	20,5 $\pm$ 0,9	152,0 $\pm$ 15,3	509,6 $\pm$ 401,4 ^a	42,00	0,52 $\pm$ 0,19 ^a	59,19
	COUM-92	5	Один раз/два дня	Внутривенно	0/6	20,3 $\pm$ 0,7	21,1 $\pm$ 0,9	149,7 $\pm$ 17,2	321,4 $\pm$ 159,6 ^b	26,90	0,28 $\pm$ 0,12 ^b	77,95
	COUM-92	10	Один раз/два дня	Внутривенно	0/6	20,3 $\pm$ 0,4	20,4 $\pm$ 1,0	158,5 $\pm$ 19,0	265,4 $\pm$ 86,2 ^b	20,98	0,22 $\pm$ 0,06 ^b	82,68
	Таксол	30	Один раз/семь дней	Интраперитонеально	0/6	20,3 $\pm$ 0,8	19,4 $\pm$ 1,0	155,6 $\pm$ 20,6	936,4 $\pm$ 347,9	75,4	0,79 $\pm$ 0,41	37,7

В табл. 7 показано, что соединения COUM-87 цитрат и COUM-92 могут дозозависимо ингибировать опухолевый рост с лучшей противоопухолевой активностью по сравнению с таксолом. При введении препаратов масса тела мышей статистически значимо не изменялась, при этом масса тела мышей в группе, получавшей таксол, снижалась в среднем на 2 г, что свидетельствует о более низкой токсичности соединений COUM-87 цитрат и COUM-92 по сравнению с таксолом.

Воплощение 104: активность ингибирования соединениями полимеризации тубулина.

Аналитическая методика.

Для приготовления 100-кратного раствора гуанозинтрифосфата (ГТФ) (концентрация 100 мкмоль/л, порошки ГТФ приобретают в компании Dalian Meilun Biotech Co., Ltd.) в день тестирования используют стерильную воду.

Тубулин получают из цитоскелета и хранят при -80°C. Его помещают на лед, наносят предварительно охлажденный буфер для полимеризации микротрубочек (общий буфер для тубулина, содержащий 80 ммоль/л пиперазин-1,4-диэтансульфоната, 2 ммоль/л хлорида магния, 0,5 ммоль/л этиленгликоль-бис(2-аминоэтилового эфира)тетрауксусной кислоты, pH 6,9) для растворения тубулина, перемешивают на

льду и оставляют на 30 мин - 1 ч до полной деполимеризации тубулина; в это время подогревают 96-луночный планшет для тестирования в считывающем устройстве для микропланшетов, доводят температуру до 37°C для всего цикла и надлежащим образом настраивают считывающее устройство для микропланшетов: динамические показания (кинетический режим), измерение оптической плотности при 340 нм, продолжительность тестирования 30-60 мин и одно показание за 1 мин; затем уравнивают некоторое количество общего буфера для тубулина до комнатной температуры.

Тубулин переносят в предварительно охлажденную пробирку ЕР и центрифугируют при 13000 об/мин при 4°C в течение 20 мин, отбирают супернатант и помещают на лед. Для определения концентрации белка применяют метод Брэдфорда, добавляют буфер для полимеризации микротрубочек, основываясь на результатах этого количественного определения, чтобы довести концентрацию тубулина до 2 мг/мл.

Тестируемое соединение в концентрации, в 10 раз превышающей тестируемую концентрацию, смешивают со 100 мкл общего буфера для тубулина, подогретого до комнатной температуры, с получением 10-кратного раствора тестируемого соединения. Готовят раствор ДМСО в равной объемной доле для контрольной группы. Убеждаются, что соединение хорошо растворилось, и разделения не произошло, извлекают подогретый 96-луночный планшет из считывающего устройства для микропланшетов, быстро добавляют 10 мкл соответствующего 10-кратного раствора соединения для каждой экспериментальной группы, а затем помещают 96-луночный планшет обратно в считывающее устройство для микропланшетов и инкубируют при 37°C.

Добавляют 100-кратный раствор ГТФ в раствор тубулина до достижения конечной концентрации 1 ммоль/л и быстро перемешивают.

Извлекают 96-луночный планшет из считывающего устройства для микропланшетов, в каждую лунку быстро добавляют 90 мкл тубулина (при добавлении образца следует избегать выделения пузырьков воздуха).

96-луночный планшет быстро помещают в считывающее устройство для микропланшетов и начинают регистрацию показаний.

На основании фиг. 5 можно заключить, что, как и положительные контрольные лекарственные средства, соединения COUM-87 и COUM-92 могут дозозависимо ингибировать полимеризацию микротрубочек *in vitro* и оказывают сопоставимое ингибиторное действие по сравнению с MPC6827 при концентрации 5 мкмоль/л, что свидетельствует о высокой активности ингибирования полимеризации микротрубочек соединениями COUM-87 и COUM-92.

Воплощение 105: антиангиогенная активность соединений *in vitro*.

Ингибиторы микротрубочек, действующие на сайт связывания колхицина, часто разрушают кровеносные сосуды, связанные с опухолью. В связи с этим соединения такого типа рассматривают как обладающие двойным механизмом устранения опухолевых клеток и эндотелиальных клеток связанных с опухолью кровеносных сосудов. Влияние соединений на микротрубочки приведет к морфологическим изменениям эндотелиальных клеток. Авторы наблюдали антиангиогенную активность соединения 8a *in vitro* путем применения культивируемых эндотелиальных клеток пупочной вены человека (HUVEC).

Методика культивирования для выделения HUVEC.

После одобрения соответствующими официальными органами из клинических источников получают пуповины новорожденных, помещают их в стерильный раствор ФСБ, обеспечивают снаружи пакетами со льдом для поддержания при низкой температуре и возвращают в чистую лабораторию для работы. В пуповину человека вставляют тупую иглу и многократно промывают стерильным раствором ФСБ до вымывания загрязненной крови. Зажимают нижний конец пуповины хирургическими зажимами, добавляют коллагеназу в концентрации 1 мг/мл (приобретают в компании Roche) для расщепления в течение 15-20 мин при комнатной температуре и периодическом встряхивании пуповины вверх и вниз. После расщепления открывают хирургический зажим на нижнем конце, позволяют раствору для расщепления стечь в центрифужную пробирку емкостью 50 мл и промывают пуповину 2-3 раза стерильным раствором ФСБ. Собранный раствор центрифугируют в течение 3 мин при 1500 об/мин. Супернатант отбрасывают, клетки ресуспендируют в питательной среде EBM-2 (приобретают в компании Lonza), содержащей различные факторы роста, и инкубируют их в инкубаторе при постоянной температуре 37°C при 5% концентрации CO₂.

(1) Аналитическая методика: тест на заживление раны на клетках HUVEC Клетки HUVEC собирают из субкультуры с 3-го по 7-е поколение и помещают в 6-луночный планшет. В момент образования клетками почти конфлюэнтного слоя питательную среду заменяют питательной средой без сыворотки, чтобы клетки голодали в течение 6 ч. Клетки снимают стерильным наконечником пипетки среднего размера, промывают два раза стерильным ФСБ, среду снова заменяют питательной средой EBM-2, содержащей различные факторы роста, для продолжения культивирования и одновременно добавляют соединения в различных концентрациях. Затем сразу помещают клетки под микроскоп для визуализации в группе 0 ч. Продолжительность миграции клеток составляет 24 ч. По истечении этого периода в лунки вносят 4% параформальдегид для фиксации, а затем помещают под микроскоп для визуализации. Выбирают случайным образом 3 различные поля зрения под микроскопом для каждой группы и подсчитыва-

ют количество мигрировавших клеток.

(2) Тест на ангиогенез на клетках HUVEC.

Matrigel (приобретают у компании Becton Dickinson (BD)) помещают при 4°C и доводят до жидкого состояния; предварительно охлаждают наконечник пипетки, 96-луночный планшет и пробирку и ЕР для использования в тесте.

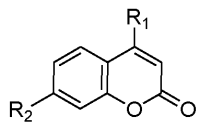
В 96-луночный планшет добавляют Matrigel 50 мкл/лунка и инкубируют в инкубаторе при 37°C при концентрации CO₂ в течение 45 мин до его застывания. Клетки HUVEC собирают из субкультуры от 3-го до 7-го поколения и высевает их в 96-луночный планшет с подготовленным Matrigel в концентрации 10000 клеток/лунка и одновременно добавляют соединения при различных концентрациях. Через 8 ч в лунки вносят 4% параформальдегид и помещают под микроскоп для визуализации. Для каждой группы выбирают 3 различные поля зрения и подсчитывают количество образовавшихся полостных структур.

Тест на заживление раны и тест на ангиогенез проводили на клетках HUVEC. Как показано на фиг. 6, в тесте на заживление раны после 24 ч миграции клеток соскоб клеток HUVEC в группе контроля растворителем характеризуются высокой активностью миграции по сравнению с исходным соскобом. При этом подобно MPC-6827, все соединения COUM-92, COUM-95, COUM-87 и COUM-79 дозозависимо ингибируют миграцию клеток HUVEC. Соединения COUM-92, COUM-95 и COUM-87 полностью ингибируют миграцию клеток HUVEC при максимальной тестируемой концентрации 10 нмоль/л. В тесте на ангиогенез после 8 ч обработки клетки в группе контроля растворителем хорошо формируют трубчатые структуры, при этом, подобно MPC-6827, все соединения COUM-92, COUM-95, COUM-87 и COUM-79 дозозависимо ингибируют ангиогенез HUVEC. При высоких концентрациях соединений клетки HUVEC полностью сохраняют такую же форму, как в соскобе. В серии тестов, относящихся к кровеносным сосудам, показано, что описанные выше соединения обладают антиангиогенной активностью.

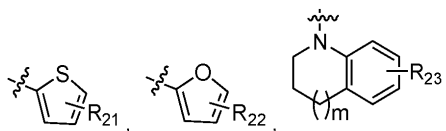
Помимо сильной противоопухолевой активности, соединения по изобретению также характеризуются значениями IC₅₀ для множественных линий опухолевых клеток, составляющими 0,01-5 нмоль/л, лучшим ингибированием полимеризации микротрубочек, различными биологическими активностями, низкой токсичностью и высокой растворимостью.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

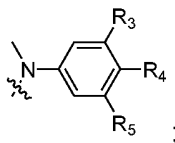
1. 4-Замещенные производные кумарина, имеющие структурную формулу, представленную формулой I



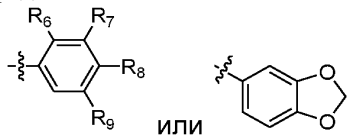
где R₁ представляет собой



где m равно 1-2, или



R₂₁ и R₂₂ каждый независимо представляет собой

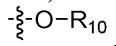


R₂₃ представляет собой C₁-C₄-алкокси;

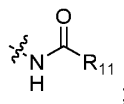
R₂ представляет собой C₁-C₈-алкокси, -H или



R₃ представляет собой -H, -OH, C₁-C₈-алкокси,

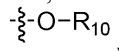


-NH₂ или

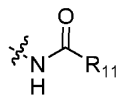


R₄ представляет собой C₁-C₈-алкокси;

R₅ представляет собой -H, -OH, C₁-C₈-алкокси,

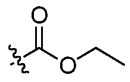


-NH₂ или

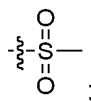


R₆ представляет собой -H, C₁-C₈-алкокси или атом галогена;

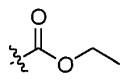
R₇ представляет собой -H, C₁-C₈-алкокси, атом галогена или



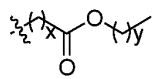
R₈ представляет собой -H, C₁-C₈-алкокси, атом галогена, C₁-C₈-алкил или



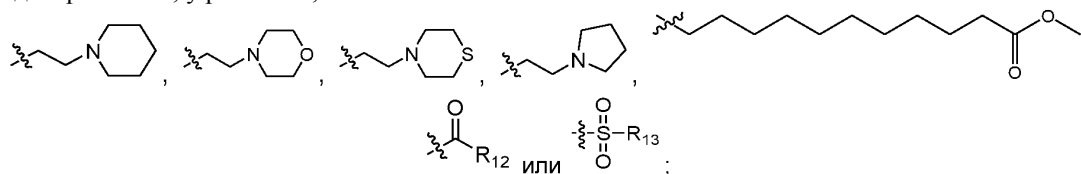
R₉ представляет собой -H, C₁-C₈-алкокси, атом галогена или



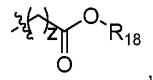
R₁₀ представляет собой



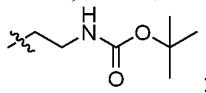
где x равен 1-4, y равен 1-4,



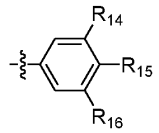
R₁₁ представляет собой C₁-C₁₀-алкил,



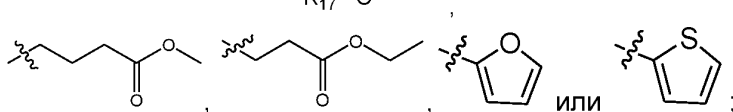
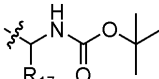
где z равен 1-10, C₂-C₈-алкенил, C₁-C₈-алкил, замещенный атомом галогена, C₃-C₈-циклоалкил или



R₁₂ представляет собой C₁-C₁₀-алкил,



C₂-C₈-алкенил, C₁-C₈-алкил, замещенный атомом галогена, C₃-C₈-циклоалкил,



R₁₃ представляет собой C₁-C₈-алкил, фенил, замещенный C₁-C₈-алкилом, или фенил, замещенный атомом галогена;

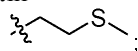
R₁₄ представляет собой атом галогена или -H;

R₁₅ представляет собой C₁-C₈-алкил, -H или C₁-C₈-алкокси;

R₁₆ представляет собой атом галогена или -H;

где R₁₄-R₁₆ не представляют собой -H одновременно;

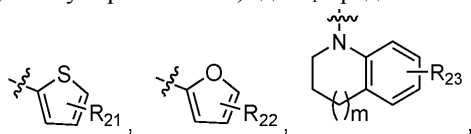
R₁₇ представляет собой C₁-C₈-алкил, -H или



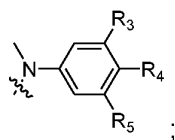
R₁₈ представляет собой C₁-C₈-алкил или -H;

R₁₉ и R₂₀ каждый независимо представляет собой C₁-C₈-алкил.

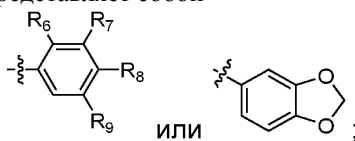
2. 4-Замещенные производные кумарина по п.1, где R₁ представляет собой



где m равно 1-2, или

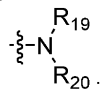


R₂₁ и R₂₂ каждый независимо представляет собой

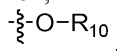


R₂₃ представляет собой C₁-C₄-алкокси;

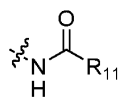
R₂ представляет собой C₁-C₄-алкокси, -H или



R₃ представляет собой -H, -OH, C₁-C₄-алкокси,

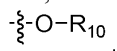


-NH₂ или

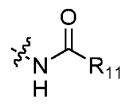


R₄ представляет собой C₁-C₄-алкокси;

R₅ представляет собой -H, -OH, C₁-C₄-алкокси,

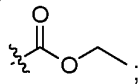


-NH₂ или



R₆ представляет собой -H, C₁-C₄-алкокси или атом галогена;

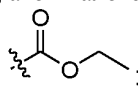
R₇ представляет собой -H, C₁-C₄-алкокси, атом галогена или



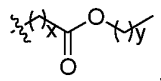
R₈ представляет собой -H, C₁-C₄-алкокси, атом галогена, C₁-C₄-алкил или



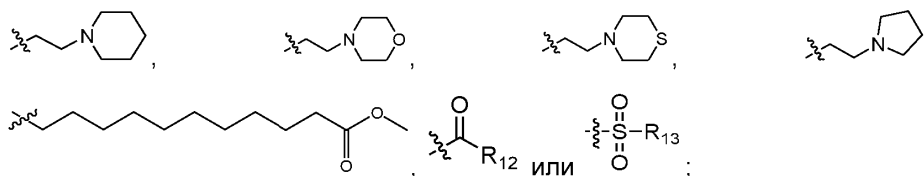
R₉ представляет собой -H, C₁-C₄-алкокси, атом галогена или



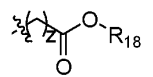
R₁₀ представляет собой



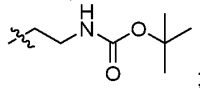
где x равен 1-4, y равен 1-4,



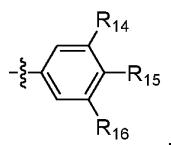
R_{11} представляет собой C_1 - C_{10} -алкил,



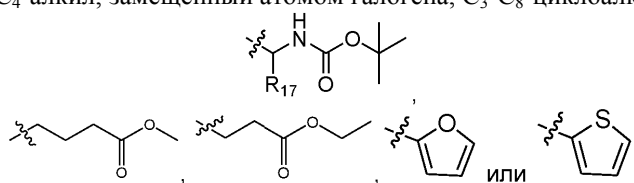
где z равен 1-10, C_2 - C_8 -алкенил, C_1 - C_4 -алкил, замещенный атомом галогена, C_3 - C_8 -циклоалкил или



R_{12} представляет собой C_1 - C_{10} -алкил,



C_2 - C_8 -алкенил, C_1 - C_4 -алкил, замещенный атомом галогена, C_3 - C_8 -циклоалкил,



R_{13} представляет собой C_1 - C_4 -алкил, фенил, замещенный C_1 - C_4 -алкилом, или фенил, замещенный атомом галогена;

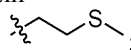
R_{14} представляет собой атом галогена или -H;

R_{15} представляет собой C_1 - C_4 -алкил, -H или C_1 - C_4 -алкокси;

R_{16} представляет собой атом галогена или -H;

где R_{14} - R_{16} не представляют собой -H одновременно;

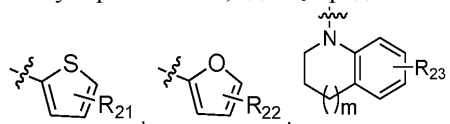
R_{17} представляет собой C_1 - C_4 -алкил, -H или



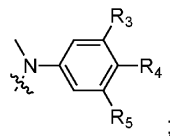
R_{18} представляет собой C_1 - C_4 -алкил или -H;

R_{19} и R_{20} каждый независимо представляет собой C_1 - C_4 -алкил.

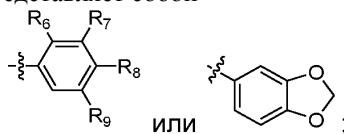
3. 4-Замещенные производные кумарина по п.2, где R_1 представляет собой



где m равно 1-2, или



R_{21} и R_{22} каждый независимо представляет собой

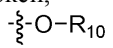


R_{23} представляет собой C_1 - C_4 -алкокси;

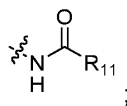
R_2 представляет собой C_1 - C_4 -алкокси, -H или



R_3 представляет собой -H, -OH, C_1 - C_4 -алкокси,

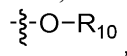


-NH₂ или

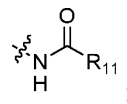


R₄ представляет собой C₁-C₄-алкокси;

R₅ представляет собой -H, -OH, C₁-C₄- алкокси,

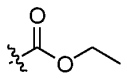


-NH₂ или

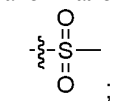


R₆ представляет собой -H, C₁-C₄-алкокси или атом галогена;

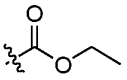
R₇ представляет собой -H, C₁-C₄-алкокси, атом галогена или



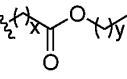
R₈ представляет собой -H, C₁-C₄-алкокси, атом галогена, C₁-C₄-алкил или



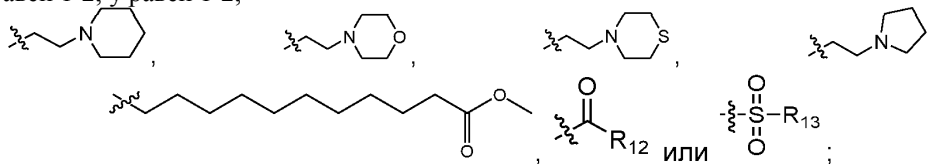
R₉ представляет собой -H, C₁-C₄-алкокси, атом галогена или



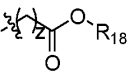
R₁₀ представляет собой



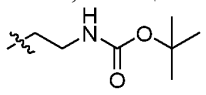
где x равен 1-2, y равен 1-2,



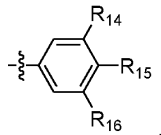
R₁₁ представляет собой C₁-C₁₀-алкил,



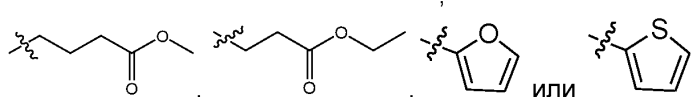
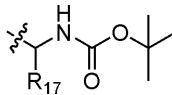
где z равен 1-10, C₁-C₈-алкенил, C₁-C₄-алкил, замещенный атомом галогена, C₃-C₈-циклоалкил или



R₁₂ представляет собой C₁-C₁₀-алкил,



C₂-C₈-алкенил, C₁-C₄-алкил, замещенный атомом галогена, C₃-C₈-циклоалкил,



R₁₃ представляет собой C₁-C₄-алкил, фенил, замещенный C₁-C₄-алкилом, или фенил, замещенный атомом галогена;

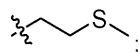
R₁₄ представляет собой атом галогена или -H;

R₁₅ представляет собой C₁-C₄-алкил, -H или C₁-C₄-алкокси;

R₁₆ представляет собой атом галогена или -H;

где R₁₄-R₁₆ не представляют собой -H одновременно;

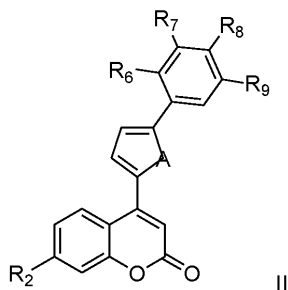
R₁₇ представляет собой C₁-C₄-алкил, -H или



R_{18} представляет собой C_1 - C_4 -алкил или -H;

R_{19} и R_{20} каждый независимо представляет собой C_1 - C_4 -алкил.

4. 4-Замещенные производные кумарина по п.1, где структурная формула производных кумарина представлена формулой II, когда R_1 представляет собой замещенный ненасыщенный 5-членный гетероцикл



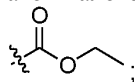
где A представляет собой O или S;

R_2 представляет собой C_1 - C_8 -алкокси, -H или



R_6 представляет собой -H, C_1 - C_8 -алкокси или атом галогена;

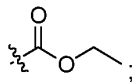
R_7 представляет собой -H, C_1 - C_8 -алкокси, атом галогена или



R_8 представляет собой -H, C_1 - C_8 -алкокси, атом галогена, C_1 - C_8 -алкил или



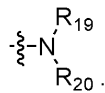
R_9 представляет собой -H, C_1 - C_8 -алкокси, атом галогена или



R_{19} и R_{20} каждый независимо представляет собой C_1 - C_8 -алкил.

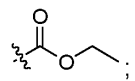
5. 4-Замещенные производные кумарина по п.4, где A представляет собой O или S;

R_2 представляет собой C_1 - C_4 -алкокси, -H или



R_6 представляет собой -H, C_1 - C_4 -алкокси или атом галогена;

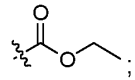
R_7 представляет собой -H, C_1 - C_4 -алкокси, атом галогена или



R_8 представляет собой -H, C_1 - C_4 -алкокси, атом галогена, C_1 - C_4 -алкил или



R_9 представляет собой -H, C_1 - C_4 -алкокси, атом галогена или



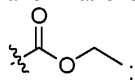
R_{19} и R_{20} каждый независимо представляет собой C_1 - C_4 -алкил.

6. 4-Замещенные производные кумарина по п.5, где A представляет собой O или S;

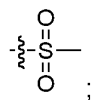
R_2 представляет собой C_1 - C_4 -алкокси или -H;

R_6 представляет собой -H, C_1 - C_4 -алкокси или атом галогена;

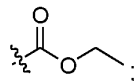
R_7 представляет собой -H, C_1 - C_4 -алкокси, атом галогена или



R_8 представляет собой -H, C_1 - C_4 -алкокси, атом галогена, C_1 - C_4 -алкил или

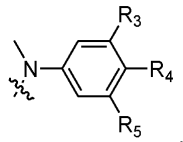


R₉ представляет собой -H, C₁-C₄-алкокси, атом галогена или



R₁₉ и R₂₀ каждый независимо представляет собой C₁-C₄-алкил.

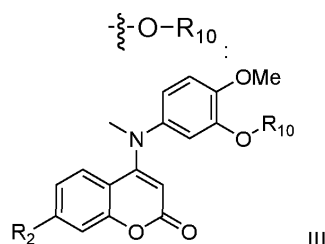
7. 4-Замещенные производные кумарина по п.1, где структурная формула производных кумарина представлена формулой III, когда R₁ представляет собой



R₃ представляет собой -H,

R₄ представляет собой метоксил, и

R₅ представляет собой

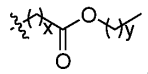


III

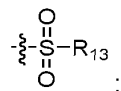
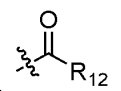
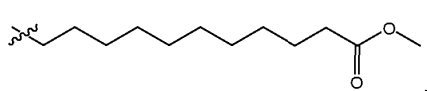
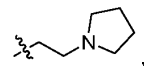
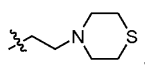
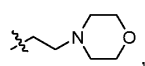
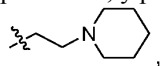
где R₂ представляет собой C₁-C₈-алкокси, -H или



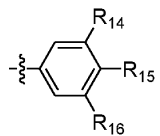
R₁₀ представляет собой



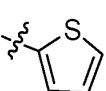
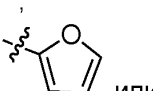
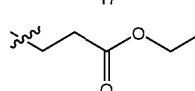
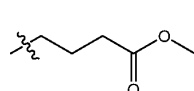
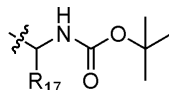
где x равен 1-4, y равен 1-4,



R₁₂ представляет собой C₁-C₁₀-алкил,



C₂-C₈-алкенил, C₁-C₈-алкил, замещенный атомом галогена, C₃-C₈-циклоалкил,



R₁₃ представляет собой C₁-C₈-алкил, фенил, замещенный C₁-C₈-алкилом, или фенил, замещенный атомом галогена;

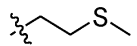
R₁₄ представляет собой атом галогена или -H;

R₁₅ представляет собой C₁-C₈-алкил, -H или C₁-C₈-алкокси;

R₁₆ представляет собой атом галогена или -H;

где R₁₄-R₁₆ не представляют собой -H одновременно;

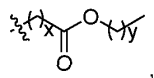
R₁₇ представляет собой C₁-C₈-алкил, -H или



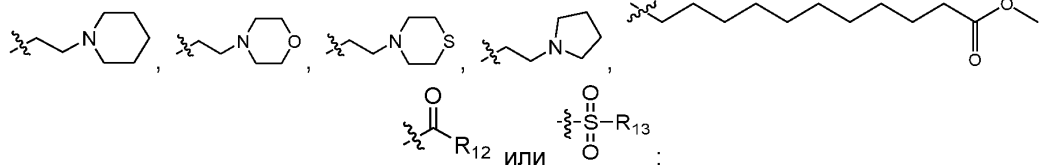
8. 4-Замещенные производные кумарина по п.7, где R₂ представляет собой C₁-C₄-алкокси, -Н или



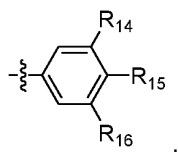
R₁₀ представляет собой



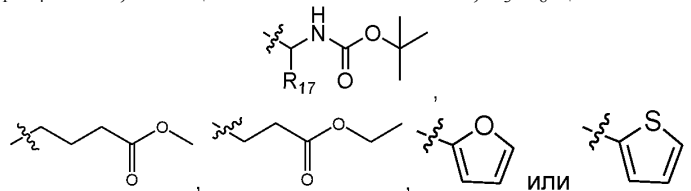
где x равен 1-4, y равен 1-4,



R₁₂ представляет собой C₁-C₁₀-алкил,



C₂-C₈-алкенил, C₁-C₄-алкил, замещенный атомом галогена, C₃-C₈-циклоалкил,



R₁₃ представляет собой C₁-C₄-алкил, фенил, замещенный C₁-C₄-алкилом или фенил, замещенный атомом галогена;

R₁₄ представляет собой атом галогена или -Н;

R₁₅ представляет собой C₁-C₄-алкил, -Н или C₁-C₄-алкокси;

R₁₆ представляет собой атом галогена или -Н;

где R₁₄-R₁₆ не представляют собой -Н одновременно;

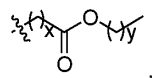
R₁₇ представляет собой C₁-C₄-алкил, -Н или



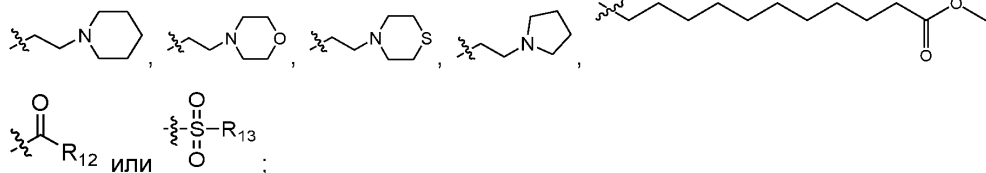
9. 4-Замещенные производные кумарина по п.8, где R₂ представляет собой C₁-C₄-алкокси, -Н или



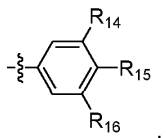
R₁₀ представляет собой



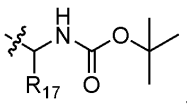
где x равен 1-2, y равен 1-2,

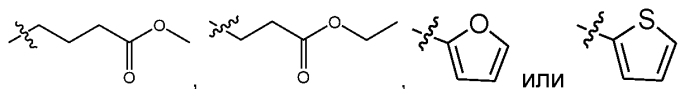


R₁₂ представляет собой C₁-C₁₀-алкил,



C₂-C₈-алкенил, C₁-C₄-алкил, замещенный атомом галогена, C₃-C₈-циклоалкил,





R_{13} представляет собой C_1 - C_4 -алкил, фенил, замещенный C_1 - C_4 -алкилом, или фенил, замещенный атомом галогена;

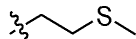
R_{14} представляет собой атом галогена или -H;

R_{15} представляет собой C_1 - C_4 -алкил, -H или C_1 - C_4 -алкокси;

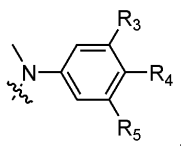
R_{16} представляет собой атом галогена или -H;

где R_{14} - R_{16} не представляют собой -H одновременно;

R_{17} представляет собой C_1 - C_4 -алкил, -H или



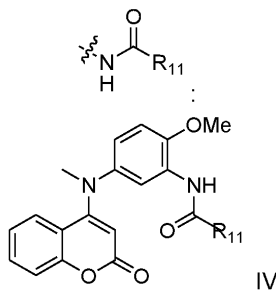
10. 4-Замещенные производные кумарина по п.1, где структурная формула производных кумарина представлена формулой IV, когда R_1 представляет собой



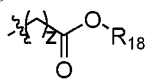
R_3 представляет собой -H,

R_4 представляет собой метоксил, и

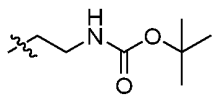
R_5 представляет собой



где R_{11} представляет собой C_1 - C_{10} -алкил,

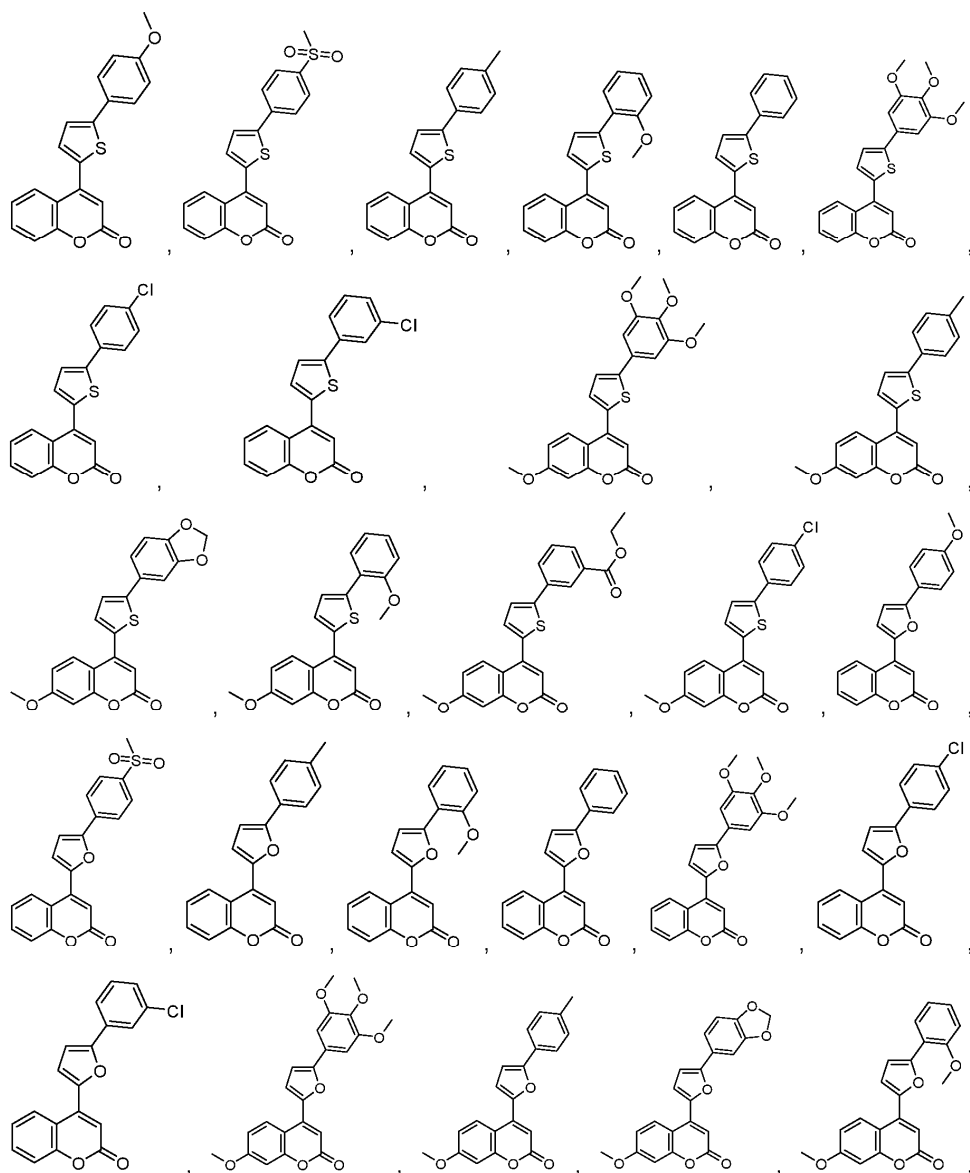


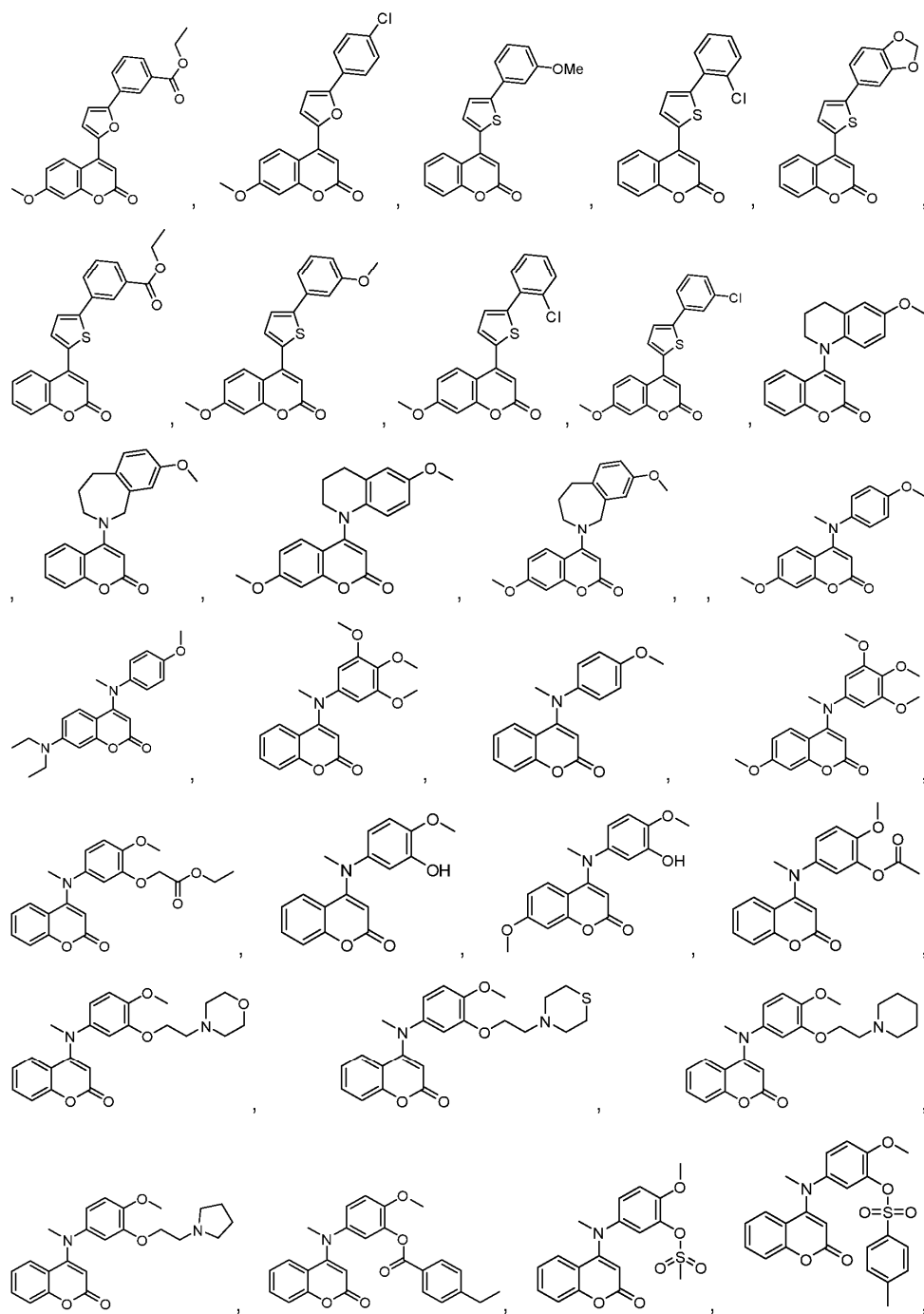
где z равен 1-10, C_2 - C_8 -алкенил, C_1 - C_4 -алкил, замещенный атомом галогена, C_3 - C_8 -циклоалкил или

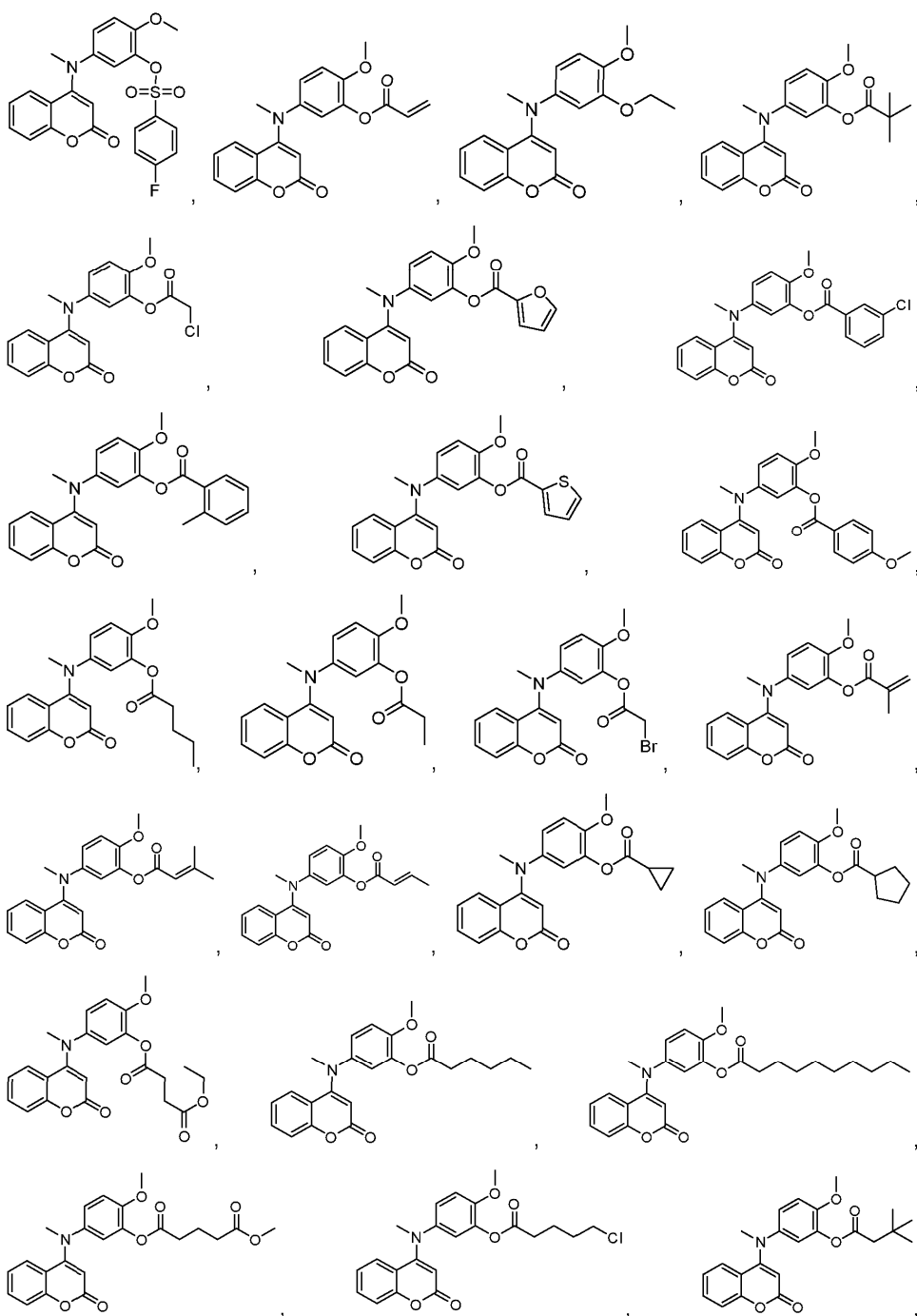


R_{18} представляет собой C_1 - C_4 -алкил или -H.

11. 4-Замещенные производные кумарина структурной формулы







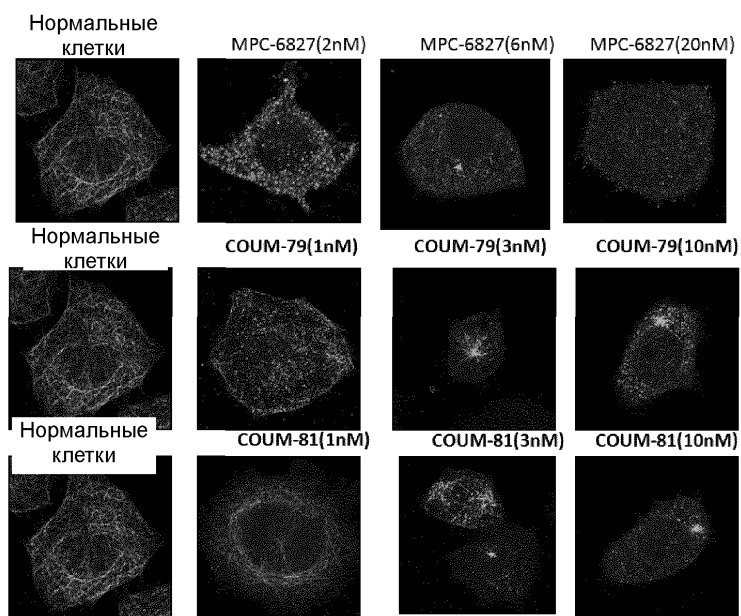
12. Фармацевтически приемлемая соль 4-замещенных производных кумарина по любому из пп.1-11.

14. Фармацевтически приемлемый препарат, обладающий противоопухолевой активностью, содержащий 4-замещенные производные кумарина по любому из пп.1-11 или соли по п.12, имеющий форму таблеток, пероральных средств, суппозитория, микропилюль, инфузионных растворов, инъекционных растворов, лиофилизированных порошков для инъекций, капсул, аэрозолей, диспергируемых таблеток и мазей.

- 77 -

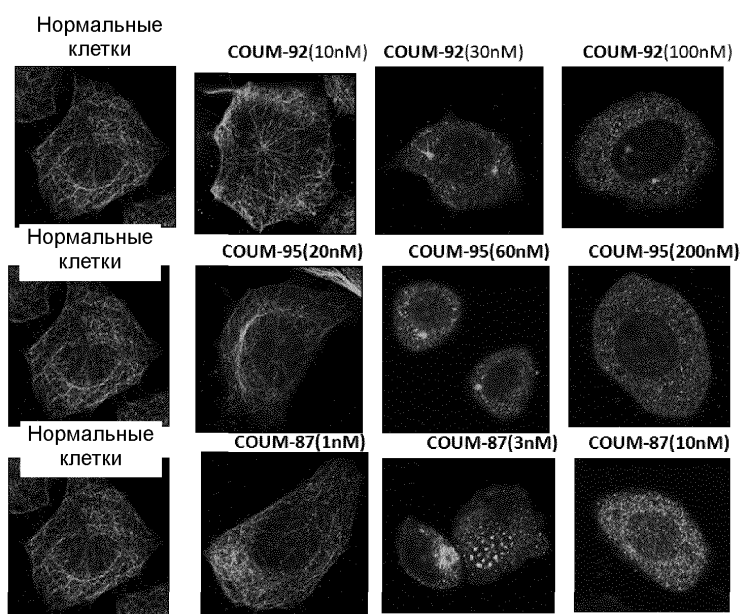
16. Применение 4-замещенных производных кумарина по любому из пп.1-11 или солей по п.12 в получении лекарственных средств для лечения опухолей, состоящих из чувствительных и лекарственно-резистентных опухолевых клеток.

17. Применение 4-замещенных производных кумарина по любому из пп.1-11 или солей по п.12 в получении лекарственных средств для лечения воспалений.



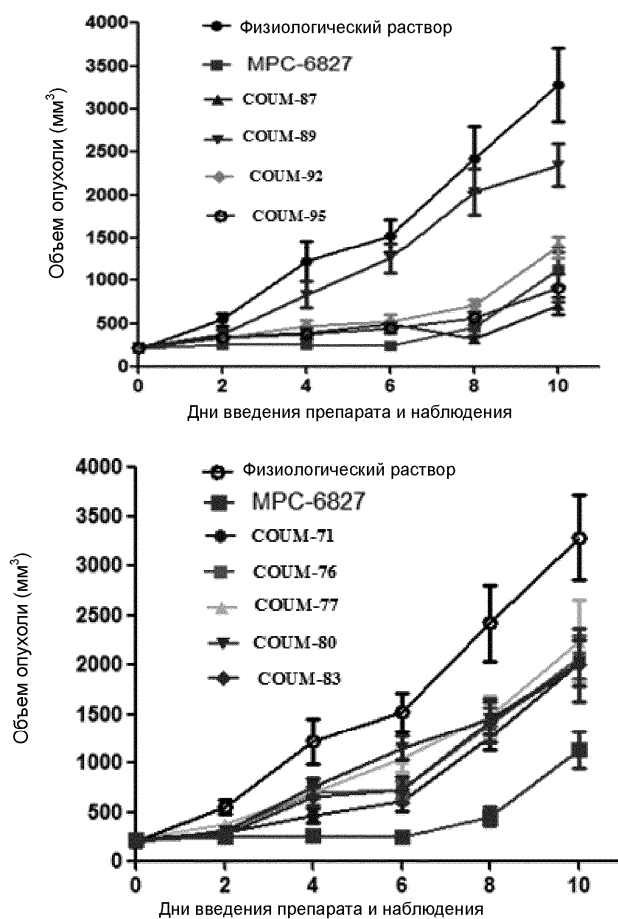
nM - нмоль/л

Фиг. 1

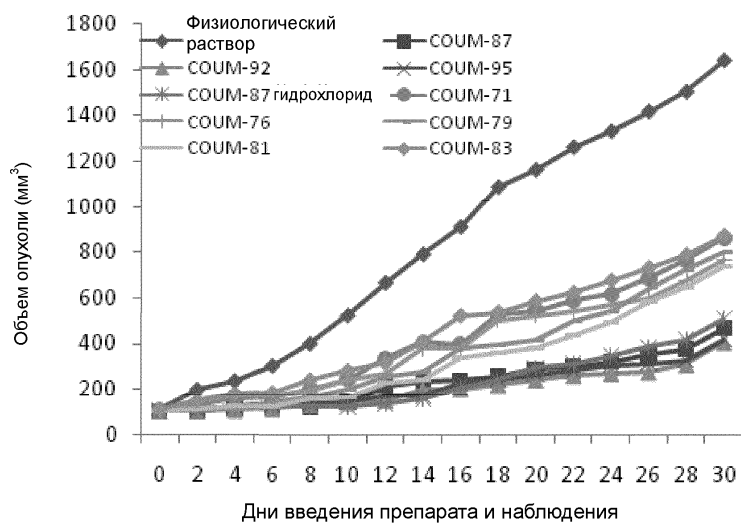


nM - нмоль/л

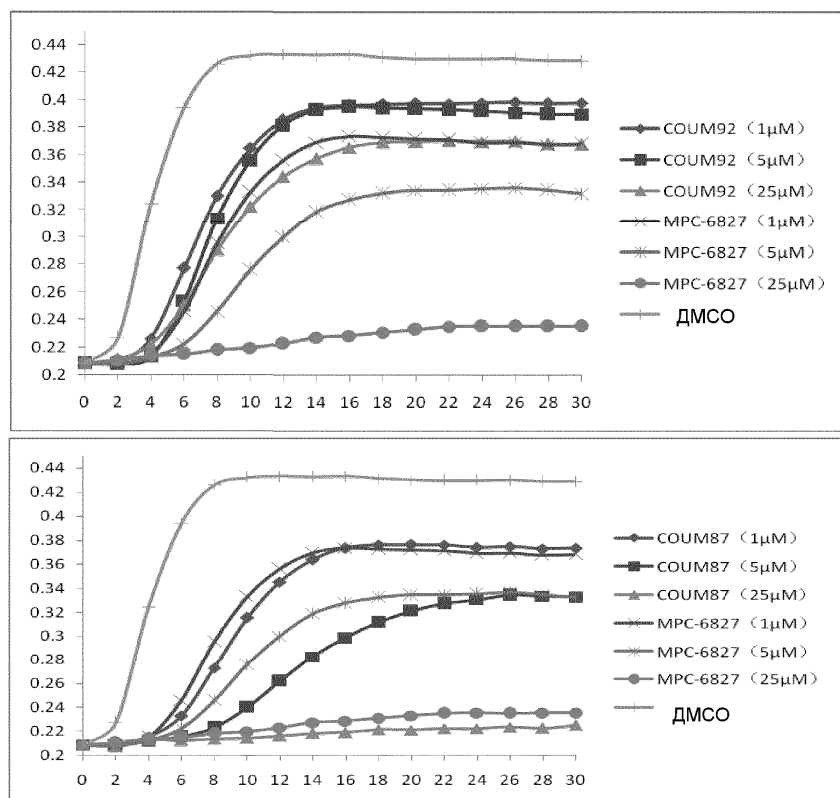
Фиг. 2

мм³ - кубические миллиметры

Фиг. 3

мм³ - кубические миллиметры

Фиг. 4

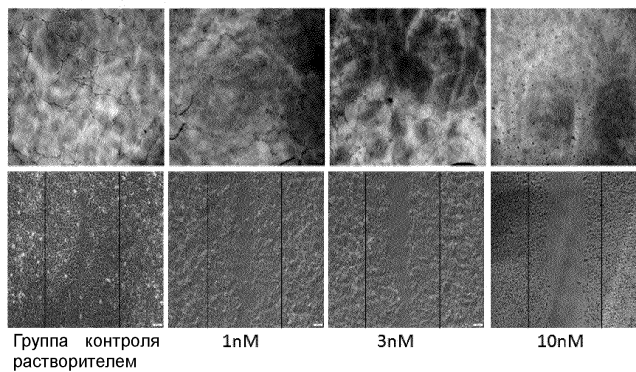


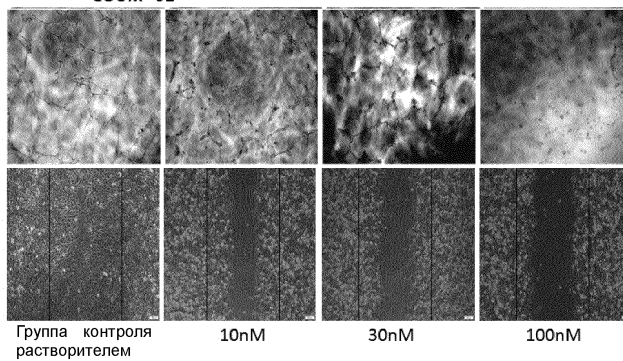
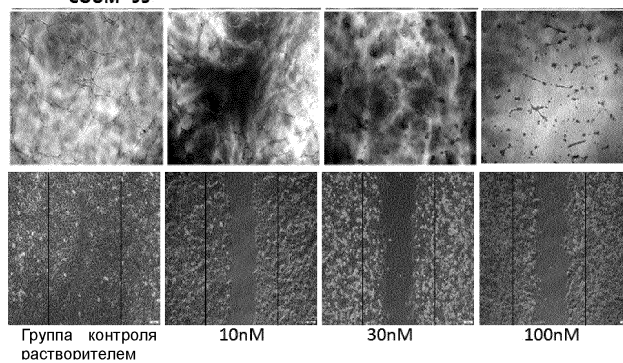
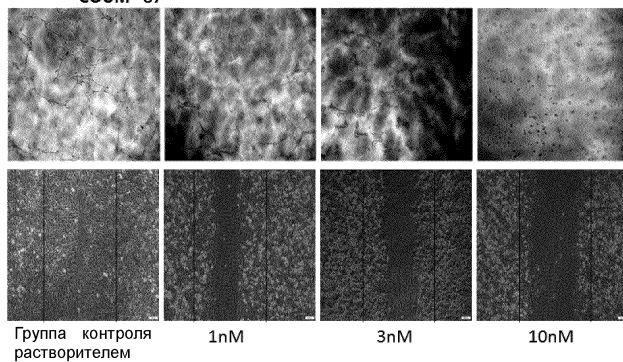
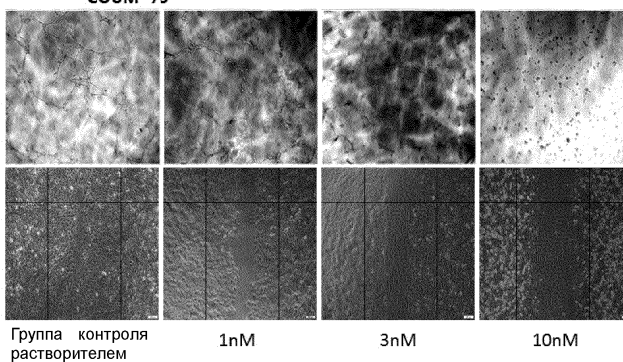
ДМСО - диметилсульфоксид

μM - мкмоль/л

Фиг. 5

MPC-6827



COUM-92**COUM-95****COUM-87****COUM-79**

nM - нмоль/л

Фиг. 6



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

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