

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **037123**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.02.09

(21) Номер заявки
201792465

(22) Дата подачи заявки
2013.02.08

(51) Int. Cl. **C07D 471/04** (2006.01)
C07D 487/04 (2006.01)
C07D 519/00 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
A61P 21/00 (2006.01)

(54) **СОЕДИНЕНИЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ СПИНАЛЬНОЙ МЫШЕЧНОЙ АТРОФИИ**

(31) **61/597,523**

(32) **2012.02.10**

(33) **US**

(43) **2018.08.31**

(62) **201491505; 2013.02.08**

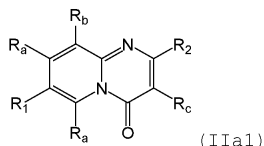
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ПИТИСИ ТЕРАПЬЮТИКС, ИНК.
(US); Ф. ХОФФМАНН-ЛЯ РОШ АГ
(CH)**

(56) **US-B2-6977255**
WO-A1-2011085990
US-A-4122274
WO-A1-1993023398
NING SHAO et al. Synthesis and structure-activity relationship (SAR) study of 4-azabenzoxazole analogues as H3 antagonists. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2012, vol. 22, pp. 2075-2078, реферат, таблица 3, соединения 33, 34, 35

(72) Изобретатель:
**Чой Соонгиу, Дакка Амал, Карп
Гари Митчелл, Нарасимхан Яна,
Нарышкин Николай, Турпофф
Энтони А., Виталл Марла Л., Уэлч
Эллен, Волл Мэттью Г., Ян Тяньлэ,
Чжан Наньцзин, Чжан Сяоянь, Чжао
Синь (US), Грин Люк (CH), Пинар
Эммануэль, Ратни Хасан (FR)**

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

(57) В настоящем документе представлены соединения формулы (IIa1) или его свободная кислота, свободное основание, фармацевтически приемлемая соль и стереоизомер, где значения R₁, R₂, R_a, R_b и R_c определены в настоящем документе, способ усиления включения экзона 7 SMN2 в мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2, и способ увеличения количества белка Smn, с использованием заявленного соединения.

**B1****037123****037123****B1**

Технология, описанная в настоящем документе, была разработана без поддержки правительства США.

Перекрестная ссылка

По данной заявке испрашивается приоритет в соответствии с предварительной заявкой на выдачу патента США № 61/597523, поданной 10 февраля 2012 г., которая включена в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте и для любых целей.

Описание соглашения о совместных исследованиях

Раскрытый объект изобретения был разработан, и заявленное изобретение было осуществлено силами или в интересах одного или нескольких участников соглашения о совместных исследованиях, которое имело силу на момент или до действительной даты подачи заявки на заявленное изобретение;

заявленное изобретение было осуществлено в результате действий, предпринятых в рамках соглашения о совместных исследованиях; и

заявка на выдачу патента на заявленное изобретение раскрывает или подлежит изменению с целью раскрытия имен сторон соглашения о совместных исследованиях.

Введение

В настоящем документе представлены соединения, содержащие их композиции и их применения для лечения спинальной мышечной атрофии.

Предпосылки создания изобретения

Спинальная мышечная атрофия (SMA), в своем широком понимании, описывает совокупность врожденных и приобретенных заболеваний центральной нервной системы (ЦНС), характеризующуюся прогрессирующей гибелью двигательных нейронов в спинном мозге и стволе головного мозга, вызывающую мышечную слабость и мышечную атрофию. Наиболее часто встречающаяся форма SMA вызывается мутациями в гене выживаемости двигательных нейронов (SMN) и проявляет себя с разной степенью тяжести, поражая как детей, так и взрослых (Crawford and Pardo, Neurobiol. Dis., 1996, 3:97).

Детская SMA представляет собой наиболее тяжелую форму этого нейродегенеративного нарушения. Симптомы включают мышечную слабость, слабый мышечный тонус, слабый крик, вялость или склонность к падениям, трудности с сосанием или глотанием, накопление секрета в легких или горле, трудности с кормлением и повышенная восприимчивость к инфекциям дыхательных путей. Ноги имеют тенденцию быть более слабыми, чем руки, и основные показатели развития, такие, как способность держать голову или садиться, не могут быть достигнуты. В целом, чем раньше появляются симптомы, тем короче продолжительность жизни. Симптомы появляются вскоре после того, как повреждаются двигательные нейроны. Тяжелые формы заболевания являются фатальными, и для всех форм не существует известного лечения. Течение SMA напрямую зависит от скорости повреждения двигательных нейронов и тяжести проявлений слабости, являющейся результатом повреждений. Дети с тяжелой формой SMA часто подвержены респираторным заболеваниям вследствие слабости мышц, поддерживающих дыхание. Дети с умеренными формами SMA живут намного дольше, хотя им может потребоваться серьезное медицинское обслуживание, в особенности тем из них, кто относится к более тяжелому участку спектра заболевания.

Клинический спектр относящихся к SMA нарушений был разделен на следующие пять групп:

(a) SMA 0 типа (внутриутробная SMA) представляет собой наиболее тяжелую форму заболевания и начинается до рождения. Обычно, первым симптомом SMA 0 типа является сниженное движение плода, которое может впервые наблюдаться между 30 и 36 неделями беременности. После рождения такие новорожденные характеризуются ограниченным движением и имеют сложности с глотанием и дыханием.

(b) При SMA 1 типа (детская SMA или болезнь Верднига-Гоффманна) симптомы обычно проявляются между 0 и 6 месяцами. Эта форма SMA также является очень тяжелой. Пациенты никогда не приобретают способность сидеть, и без искусственной вентиляции легких смерть обычно наступает в первые 2 года.

(c) SMA 2 типа (промежуточная SMA) характеризуется началом в возрасте 7-18 месяцев. Пациенты приобретают способность сидеть без посторонней помощи, но никогда не способны самостоятельно стоять или ходить. Прогноз для этой группы во многом зависит от степени вовлеченности дыхательной системы в патологический процесс.

(d) SMA 3 типа (ювенильная SMA или болезнь Кугельберга-Веландера), как правило, диагностируется после 18 месяцев. Лица с SMA 3 типа способны до некоторой степени ходить при этом заболевании, но часто становятся прикованным к инвалидному креслу в юности или во взрослой жизни.

(e) SMA 4 типа (SMA с началом в зрелом возрасте). Слабость обычно начинает проявляться в позднем пубертатном периоде в языке, руках или ногах, а затем распространяется на другие части тела. Течение SMA в зрелом возрасте значительно медленнее и сильно не влияет на продолжительности жизни.

Ген SMN был картирован методом анализа групп сцепления в сложном участке хромосомы 5q. У людей этот участок содержит приблизительно 500 тысяч пар нуклеотидов (т.п.н.), и инвертированная дупликация приводит к двум почти идентичным копиям гена SMN. SMA вызывается инактивирующей мутацией или делецией теломерной копии гена (SMN1) в обоих хромосомах, что приводит к утрате функции гена SMN1. При этом все пациенты сохраняют центромерную копию гена (SMN2), и число ко-

пий гена SMN2 у пациента с SMA, как правило, обратно коррелирует с тяжестью заболевания; т.е., пациенты с менее тяжелой формой SMA имеют большее число копий SMN2. Несмотря на это, SMN2 не способен полностью компенсировать утрату функции SMN1 по причине альтернативного сплайсинга экзона 7, вызванного транскрипционно молчащей мутацией C→T в экзоне 7. В результате, большая часть транскриптов, продуцируемых SMN2, не содержат экзона 7 (SMN2 Δ7) и кодируют усеченный белок Smn, который характеризуется нарушенной функцией и быстро деградирует.

Считается, что белок Smn участвует в процессинге и метаболизме РНК, обладая хорошо описанной функцией опосредования сборки специфичного класса комплексов РНК-белок, обозначаемых snRNPs. В двигательных нейронах Smn может иметь и другие функции, однако его роль в предупреждении селективной дегенерации двигательных нейронов является плохо изученной.

В большинстве случаев, SMA диагностируется на основании клинических симптомов и по отсутствию всех копий экзона 7 в гене SMN1, определяемому посредством генетического тестирования. Однако приблизительно в 5% случаев SMA вызывается мутациями, отличными от делеции всего гена SMN1 и отличными от делеции всего экзона 7 в гене SMN1, некоторые из которых известны, а другие еще не определены. В тех случаях, когда тестирование гена SMN1 не представляется возможным, или последовательность гена SMN1 не содержит каких-либо аномалий, индикативными могут служить другие тесты, такие как электромиография (EMG) или мышечная биопсия.

Медицинский уход за пациентами с SMA в настоящее время ограничен поддерживающей терапией, включая искусственную вентиляцию легких, лечебное питание и реабилитационный уход; лекарства, известного адресным воздействием на первопричину заболевания, не существует. Современные способы лечения SMA включают профилактику и ведение вторичных эффектов хронической гибели двигательных нейронов. Основной задачей ведения SMA 1 типа является профилактика и раннее лечение проблем с легкими, которые являются основной причиной смерти в большинстве случаев. Хотя некоторые дети с SMA становятся взрослыми, дети с SMA 1 типа характеризуются продолжительностью жизни менее двух лет.

Было разработано несколько мышинных моделей SMA. В частности, модель SMN Δ7 (Le et al., Hum. Mol. Genet., 2005, 14:845) является носителем как гена SMN2, так и нескольких копий кДНК SMN2 Δ7, и повторяет многие из характерных черт фенотипа SMA 1 типа. Модель SMN Δ7 может применяться как для изучения экспрессии SMN2, так и для количественной оценки двигательной функции и выживаемости. Мышиная модель с C/C-аллелью (Jackson Laboratory, линия № 008714) предоставляет модель с менее тяжелым течением SMA, при которой мышцы характеризуются сниженными уровнями как мРНК полноразмерного SMN2 (SMN2 FL), так и белка Smn. Фенотипически мыши с C/C-аллелью характеризуются геном SMN2 и гибридным геном mSmn1-SMN2, который претерпевает альтернативный сплайсинг, но не характеризуются явно выраженной мышечной слабостью. Мышиную модель с C/C-аллелью используют в исследованиях экспрессии SMN2.

В результате более совершенного понимания генетической основы и патофизиологии SMA рассматривалось несколько стратегий лечения, но ни одна из них до сих пор не продемонстрировала успеха в клинике.

Замена гена SMN1 с применением вирусных векторов доставки и замена клеток с применением дифференцированных стволовых клеток SMN1^{+/+} продемонстрировали эффективность в животных моделях SMA. До того, как указанные подходы могли быть применены в отношении людей, требуется больше исследований с целью оценить безопасность и иммунный ответ и разобраться в требованиях к началу лечения в неонатальном периоде.

Коррекция альтернативного сплайсинга SMN2 в культивируемых клетках также может быть достигнута с применением синтетических нуклеиновых кислот в качестве терапевтических средств: (i) антисмысловые олигонуклеотиды, которые имеют своей мишенью элементы последовательности пре-мРНК SMN2 и сдвигают выход процесса сплайсинга в сторону образования полноразмерной мРНК SMN2 (Passini et al., Sci. Transl. Med., 2011, 3:72ral8 и Hua et al., Nature, 2011, 478:123) и (ii) транс-сплайсинг молекул РНК, который обеспечивает полностью функциональную последовательность РНК, которая заменяет мутантный фрагмент в процессе сплайсинга и производит полноразмерную мРНК SMN1 (Coady and Lorson, J Neurosci., 2010, 30:126).

Другие подходы, находящиеся в процессе изучения, включают поиск лекарств, которые повышают уровни Smn, усиливают остаточную функцию Smn или компенсируют утрату Smn. Было показано, что аминокликозиды усиливают экспрессию стабилизированного белка Smn мРНК SMN2 Δ7 путем промотирования транскрипционного считывания аберрантного стоп-кодона, но характеризуются низкой проницаемостью в центральную нервную систему и токсичны при многократном дозированном введении. Было показано, что химиотерапевтические средства, такие как акларубин, увеличивают содержание белка Smn в клеточной культуре; однако профиль токсичности указанных лекарств делает невозможным их долгосрочное применение на пациентах с SMA. Некоторые лекарства, находящиеся на стадии клинических исследований лечения SMA, включают активаторы транскрипции, такие как ингибиторы гистондеацетилазы (HDAC) (например, бутираты, вальпроевую кислоту и гидроксимочевина) и стабилизаторы

мРНК (ингибитор декэппинга мРНК RG3039 производства Repligen), которые призваны увеличивать общее количество РНК, транскрибируемой с гена SMN2. Однако применение ингибиторов HDAC или стабилизаторов мРНК не воздействует адресно на первопричину SMA и может приводить к общему усилению транскрипции и экспрессии генов с потенциальной опасностью для людей.

В качестве альтернативного подхода, для исследования были выбраны нейропротективные средства, такие как олесоксим. Такие стратегии не направлены на усиление продукции функционального Smpn для лечения SMA, а вместо этого исследуются в качестве защиты от нейродегенерации дефицитных по Smpn двигательных нейронов.

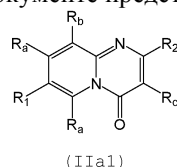
Система, разработанная для идентификации соединений, которые усиливают включение экзона 7 SMN в РНК, транскрибируемую с гена SMN2, и определенные бензоксазолиновые и бензоизоксазолиновые соединения, идентифицированные с ее помощью, были описаны в международной заявке PCT/US 2009/003238, поданной 27 мая 2009 г. (опубликована как международная публикация № WO 2009/151546 и публикация США № US 2011/0086833). Система, разработанная для идентификации соединений, которые продуцируют стабилизированный белок Smpn с мРНК SMN2 Δ7, и определенные изоиндолиноновые соединения, идентифицированные с ее помощью, были описаны в международной заявке PCT/US 2009/004625, поданной 13 августа 2009 года (опубликована как международная публикация № WO 2010/019236 и публикация США № US 2011/0172284). Каждый из вышеуказанных документов включен в настоящий документ во всей своей полноте и для любых целей.

Все другие документы, ссылки на которые представлены в настоящем документе, включены в настоящую заявку посредством ссылки, как если бы были полностью изложены в настоящем документе.

Несмотря на прогресс, достигнутый в понимании генетической основы и патофизиологии SMA, сохраняется потребность в идентификации соединений, которые изменяют течение спинальной мышечной атрофии, одного из наиболее разрушительных неврологических заболеваний детского возраста.

Сущность изобретения

Согласно одному аспекту, в настоящем документе представлены соединения формулы (IIa1)



или его свободная кислота, свободное основание, фармацевтически приемлемая соль и стереоизомер, где значения R1, R2, R3, R4 и R5 определены в настоящем документе. Согласно конкретному варианту осуществления в настоящем документе представлено соединение формулы (IIa1) или его свободная кислота, свободное основание, фармацевтически приемлемая соль и стереоизомер.

SMA обусловлена делецией или мутацией гена SMN1, что приводит к селективной дегенерации дефицитных по Smpn двигательных нейронов. Хотя у субъектов-людей сохраняется несколько копий гена SMN2, небольшие количества функционального белка Smpn, экспрессируемого с SMN2, полностью не компенсируют утрату Smpn, который бы экспрессировался геном SMN1. Соединения, описанные в настоящем документе, основаны, отчасти, на открытии заявителями того факта, что соединение (I Ia1) усиливает включение экзона 7 SMN2 в мРНК, которая транскрибируется с мини-гена SMN2. Мини-ген воспроизводит процесс альтернативного сплайсинга экзона 7 SMN2, что приводит к скиппингу экзона 7 в большей части транскриптов SMN2. Таким образом, соединения формулы (IIa1) или их форма могут применяться для модулирования включения экзона 7 SMN2 в мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2. Согласно конкретному варианту осуществления, в настоящем документе представлены соединения формулы (IIa1) или их свободная кислота, свободное основание, фармацевтически приемлемая соль и стереоизомер, которые могут применяться для модулирования включения экзона 7 SMN2 в мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2. Согласно другому конкретному варианту осуществления, в настоящем документе представлено применение соединения формулы (IIa1) для лечения SMA, где соединение усиливает включение экзона 7 SMN2 в мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2. Без ограничения теорией, соединения формулы (IIa1) усиливают включение экзона 7 SMN2 в мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2, и увеличивают уровни белка Smpn, продуцируемого геном SMN2, а потому могут применяться для лечения SMA у нуждающегося в этом субъекта-человека.

Согласно определенным вариантам осуществления количество мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2 и не включает экзон 7 SMN2, может применяться в качестве биомаркера для SMA, раскрытого в настоящем документе. Согласно другим вариантам осуществления, количество мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2 и включает экзон 7 SMN2, может применяться в качестве биомаркера для лечения пациента соединением, раскрытым в настоящем документе. Согласно конкретному варианту осуществления пациент является пациентом с SMA. Согласно другому конкретному варианту осуществления пациент не является пациентом с SMA.

В соответствии с указанными вариантами осуществления описанные ниже SMN праймер(ы) и/или SMN зонд могут применяться в методах анализа, таких как PCR (например, qPCR), амплификация по

типу катящегося кольца и RT-PCR (например, RT-PCR по конечной точке и/или RT-qPCR) для оценки и/или количественного определения количества мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2 и включает или не включает экзон 7 SMN2.

Согласно конкретному варианту осуществления, праймер и/или зонд, описанные ниже в разделе "Биологические примеры" (например, SMN праймеры, такие как SEQ ID NO. 1, 7, 8, 11 или 13 и/или SEQ ID NO. 2, 9 или 12, и/или SMN зонды, такие как SEQ ID NO. 3 или 10), применяют в методе анализа, таком как RT-PCR, RT-qPCR, RT-PCR по конечной точке, PCR, qPCR, амплификация по типу катящегося кольца, Нозерн-блоттинг или Саузерн-блоттинг (например, в методе анализа, таком как описанный ниже в разделе "Биологические примеры"), для определения того, усиливает ли соединение (например, соединение формулы (Ia1) или его свободная кислота, свободное основание, фармацевтически приемлемая соль и стереоизомер) включение экзона 7 SMN2 в мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2.

Согласно конкретному варианту осуществления, праймер и/или зонд, описанные ниже в разделе "Биологические примеры" (например, SMN праймеры, такие как SEQ ID NO. 1, 7, 8, 11 или 13 и/или SEQ ID NO. 2, 9 или 12, и/или SMN зонды, такие как SEQ ID NO. 3 или 10), применяют в методе анализа, таком как RT-PCR, RT-qPCR, RT-PCR по конечной точке, PCR, qPCR, амплификация по типу катящегося кольца, Нозерн-блоттинг или Саузерн-блоттинг (например, в методе анализа, таком как описанный ниже в разделе "Биологические примеры"), для определения того, усиливает ли соединение (например, соединение формулы (Ia1) или его свободная кислота, свободное основание, фармацевтически приемлемая соль и стереоизомер) включение экзона 7 SMN1 в мРНК, которая транскрибируется с гена SMN1.

Согласно конкретному варианту осуществления праймер и/или зонд, описанные ниже в разделе "Биологические примеры" (например, SMN праймеры, такие как SEQ ID NO. 1, 7, 8, 11 или 13 и/или SEQ ID NO. 2, 9 или 12, и/или SMN зонды, такие как SEQ ID NO. 3 или 10), применяют в методе анализа, таком как RT-PCR, RT-qPCR, RT-PCR по конечной точке, PCR, qPCR, амплификация по типу катящегося кольца, Нозерн-блоттинг или Саузерн-блоттинг (например, в методе анализа, таком как описанный ниже в разделе "Биологические примеры"), для определения того, усиливает ли соединение (например, соединение формулы (Ia1) или его свободная кислота, свободное основание, фармацевтически приемлемая соль и стереоизомер) включение экзона 7 SMN2 в мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2.

Согласно другому варианту осуществления праймер и/или зонд, описанные ниже в разделе "Биологические примеры" (например, SMN праймеры, такие как SEQ ID NO. 7, 11 или 13 и/или SEQ ID NO. 9 или 12, и/или SMN зонды, такие как SEQ ID NO. 3 или 10), применяют в методе анализа, таком как RT-PCR, RT-qPCR, RT-PCR по конечной точке, PCR, qPCR, амплификация по типу катящегося кольца, Нозерн-блоттинг или Саузерн-блоттинг (например, в методе анализа, таком как описанный ниже в разделе "Биологические примеры"), для мониторинга количества мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2 и включает экзон 7 SMN2 в полученном от пациента образце. Согласно конкретному варианту осуществления, пациент является пациентом с SMA. Согласно другому конкретному варианту осуществления пациент не является пациентом с SMA.

Согласно другому варианту осуществления, праймер и/или зонд, описанные ниже в разделе "Биологические примеры" (например, SMN праймеры, такие как SEQ ID NO. 7, 8, 11 или 13 и/или SEQ ID NO. 9 или 12, и/или SMN зонды, такие как SEQ ID NO. 3 или 10), применяют в методе анализа, таком как RT-PCR, RT-qPCR, RT-PCR по конечной точке, PCR, qPCR, амплификация по типу катящегося кольца, Нозерн-блоттинг или Саузерн-блоттинг (например, в методе анализа, таком как описанный ниже в разделе "Биологические примеры"), для мониторинга ответа пациента на соединение (например, на соединение формулы (Ia1) или его свободная кислота, свободное основание, фармацевтически приемлемая соль и стереоизомер). Согласно конкретному варианту осуществления пациент является пациентом с SMA. Согласно другому конкретному варианту осуществления, пациент не является пациентом с SMA.

Согласно другому варианту осуществления в настоящем документе представлен способ определения того, усиливает ли соединение (например, соединение формулы (I), раскрытое в настоящем документе) включение экзона 7 SMN2 в мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2, включающий (а) приведение мРНК, которая транскрибируется с мини-гена SMN2, описанного в настоящем документе или в международной заявке PCT/US 2009/004625, поданной 13 августа 2009 г. (опубликована как международная публикация № WO 2010/019236), или в публикации США № US 2011/0172284, в присутствии соединения (например, соединения формулы (I), раскрытого в настоящем документе) в контакт с описанным(ыми) в настоящем документе праймером(ами) (например, SEQ ID NO: 1 и/или 2) вместе с компонентами, применимыми, например, для RT-PCR, RT-qPCR, PCR, RT-PCR по конечной точке, qPCR или амплификации по типу катящегося кольца; и (b) определение количества мРНК, которая транскрибируется с мини-гена и включает экзон 7 SMN2, где (1) увеличение количества мРНК, которая транскрибируется с мини-гена и включает экзон 7 SMN2, в присутствии соединения относительно количества мРНК, которая транскрибируется с мини-гена и включает экзон 7 SMN2, в отсутствие соединения указывает на то, что соединение усиливает включение экзона 7 SMN2 в мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2; и (2) отсутствие изменения или отсутствия существенного изменения количества мРНК, которая транскрибируется с мини-гена и включает экзон 7 SMN2, в присутствии соединения относительно количества мРНК, которая транскрибируется с мини-гена и включает экзон 7 SMN2, в отсутствие соеди-

нения указывает на то, что соединение не усиливает включение экзона 7 SMN2 в мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2.

Согласно другому варианту осуществления в настоящем документе представлен способ определения того, усиливает ли соединение (например, соединение формулы (IIa1), раскрытое в настоящем документе) включение экзона 7 SMN2 в мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2, включающий (а) приведение мРНК, которая транскрибируется с мини-гена SMN2, описанного в настоящем документе или в международной заявке PCT/US 2009/004625, поданной 13 августа 2009 г. (опубликована как международная публикация № WO 2010/019236), или в публикации США № US 2011/0172284, в присутствии соединения (например, соединения формулы (I), раскрытого в настоящем документе) в контакт с описанным в настоящем документе зондом (например, SEQ ID NO. 3 или 10) вместе с компонентами, применимыми, например, для RT-PCR, RT-qPCR, RT-PCR по конечной точке, PCR, qPCR, амплификации по типу катящегося кольца и, в случае применимости, Нозерн-блоттинга или Саузерн-блоттинга; и (b) определение количества мРНК, которая транскрибируется с мини-гена и включает экзон 7 SMN2, где (1) увеличение количества мРНК, которая транскрибируется с мини-гена и включает экзон 7 SMN2, в присутствии соединения относительно количества мРНК, которая транскрибируется с мини-гена и включает экзон 7 SMN2, в отсутствие соединения указывает на то, что соединение усиливает включение экзона 7 SMN2 в мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2; и (2) отсутствие изменения или отсутствие существенного изменения количества мРНК, которая транскрибируется с мини-гена и включает экзон 7 SMN2, в присутствии соединения относительно количества мРНК, которая транскрибируется с мини-гена и включает экзон 7 SMN2, в отсутствие соединения указывает на то, что соединение не усиливает включение экзона 7 SMN2 в мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2.

Согласно другому варианту осуществления, в настоящем документе представлен способ определения того, усиливает ли соединение (например, соединение формулы (IIa1), раскрытое в настоящем документе) включение экзона 7 SMN2 в мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2, включающий (а) приведение мРНК, которая транскрибируется с мини-гена SMN2, описанного в настоящем документе или в международной заявке PCT/US 2009/004625, поданной 13 августа 2009 г. (опубликована как международная публикация № WO 2010/019236), или в публикации США № US 2011/0172284, в присутствии соединения (например, соединения формулы (I), раскрытого в настоящем документе), в контакт с праймером(ами) (например, SEQ ID NO: 1 или 2) и/или описанным в настоящем документе зондом (например, SEQ ID NO: 3 или 10) вместе с компонентами, применимыми, например, для RT-PCR, RT-qPCR, RT-PCR по конечной точке, PCR, qPCR, амплификации по типу катящегося кольца и, в случае применимости, Нозерн-блоттинга или Саузерн-блоттинга; и (b) определение количества мРНК, которая транскрибируется с мини-гена и включает экзон 7 SMN2, где (1) увеличение количества мРНК, которая транскрибируется с мини-гена и включает экзон 7 SMN2, в присутствии соединения относительно количества мРНК, которая транскрибируется с мини-гена и включает экзон 7 SMN2, в отсутствие соединения указывает на то, что соединение усиливает включение экзона 7 SMN2 в мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2; и (2) отсутствие изменения или отсутствие существенного изменения количества мРНК, которая транскрибируется с мини-гена и включает экзон 7 SMN2, в присутствии соединения относительно количества мРНК, которая транскрибируется с мини-гена и включает экзон 7 SMN2, в отсутствие соединения указывает на то, что соединение не усиливает включение экзона 7 SMN2 в мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2.

Краткое описание фигур

Фиг. 1, ссылка на которую представлена в биологическом примере 1, представляет собой схематический чертеж мини-генной конструкции SMN2-A, которая продуцирует два альтернативно сплайсируемых транскрипта мРНК: полноразмерную мРНК, которая содержит экзон 7, и мРНК Δ7 без экзона 7. Адениновый нуклеотид, вставленный в экзон 7 SMN2-A после нуклеотидного остатка 48, обозначен буквой "А". В качестве альтернативы, нуклеотид может быть также выбран из цитозина или тимина. Вследствие инсерции одного нуклеотида (А, С или Т) после нуклеотидного остатка 48, полноразмерная мРНК не содержит стоп-кодона в открытой рамке считывания SMN, тогда как мРНК Δ7 содержит стоп-кодон в экзоне 8, который обозначен словом "Стоп".

На фиг. 2, ссылка на которую представлена в биологическом примере 1, представлена последовательность ДНК мини-генной конструкции SMN2-A (SEQ ID NO. 21) (фиг. 2a). Как представлено на фиг. 2b, могут быть обнаружены следующие подпоследовательности:

- 1-70: 5'UTR (deg);
- 71-79: экзон 6: стартовый кодон и сайт BamHI (atgggatcc);
- 80-190: экзон 6;
- 191-5959: интрон 6;
- 5960-6014: экзон 7 с инсерцией аденинового нуклеотида "А" (положение 6008);
- 6015-6458: интрон 7;
- 6459-6481: часть экзона 8;
- 6482-8146: сайт BamHI (последовательность на 5'-конце); кодирующая люциферазу последователь-

ность, начинающаяся с кодона 2 (без кодона инициации); сайт NotI (последовательность на 3'-конце); стоп-кодон TAA; и

8147-8266: 3'UTR (deg).

Для получения SMN1 версии мини-гена шестой нуклеотид экзона 7 (остаток тимина) в мини-генной конструкции SMN2-A заменяют на цитозин с применением метода сайт-направленного мутагенеза. Таким образом, мини-генная конструкция SMN1, сходная с мини-генной конструкцией SMN2-A, содержит один остаток аденина, вставленный после нуклеотидного остатка 48 экзона 7. Мини-генную конструкцию SMN1 называют SMN1-A. По аналогии, нуклеотид, вставляемый в мини-генную конструкцию SMN1 после нуклеотидного остатка 48 экзона 7, может быть также альтернативно выбран из цитозина или тимина.

На фиг. 3, ссылка на которую представлена в биологическом примере 2, отражена коррекция альтернативного сплайсинга мини-гена SMN2 в клетках, обработанных в течение 24 часов возрастающими концентрациями соединения 6 (фиг. 3a) и соединения 170 (фиг. 3b). Уровни полноразмерной мРНК мини-гена SMN2 количественно оценивали с использованием метода количественной ПЦР с обратной транскрипцией (RT-qPCR). Уровни полноразмерной мРНК мини-гена SMN2 в образцах, обработанных соединением, нормализовали к уровням в образцах, обработанных растворителем, и графически отображали как функцию концентрации соединения.

На фиг. 4, ссылка на которую представлена в биологическом примере 3, отражена коррекция альтернативного сплайсинга SMN2 в фибробластах пациента с SMA 1 типа, обработанных возрастающими концентрациями соединения 6 (фиг. 4a) и соединения 170 (фиг. 4b) в течение 24 ч. Уровни полноразмерной мРНК и мРНК SMN2 $\Delta 7$ количественно оценивали с использованием метода RT-qPCR. Уровни полноразмерной мРНК и мРНК SMN2 $\Delta 7$ в образцах, обработанных соединением, нормализовали к уровням в образцах, обработанных растворителем, и графически отображали как функцию концентрации соединения.

На фиг. 5, ссылка на которую представлена в биологическом примере 4, отражена коррекция альтернативного сплайсинга SMN2 в фибробластах пациента с SMA 1 типа, обработанных в течение 24 ч возрастающими концентрациями соединения 6 (фиг. 5a) и соединения 170 (фиг. 5b). Полноразмерную мРНК и мРНК SMN2 $\Delta 7$ амплифицировали с использованием метода ПЦР с обратной транскрипцией (RT-PCR) по конечной точке и разделяли продукты ПЦР с использованием электрофореза на агарозном геле. Верхняя и нижняя полосы соответствуют полноразмерной мРНК и мРНК SMN2 $\Delta 7$ соответственно. Интенсивность каждой полосы пропорциональна количеству РНК, содержащейся в образце.

На фиг. 6, ссылка на которую представлена в биологическом примере 5, отражена коррекция альтернативного сплайсинга SMN2 (и гена SMN2, и гибридного мышинного гена *Smn1-SMN2*) в тканях головного мозга и мышц в модели с C/C-аллелью SMA у мышей в результате лечения дважды в сутки (BID) в течение 10 суток 10 мг/кг соединения 6 (фиг. 6a) и соединения 170 (фиг. 6b). Уровни полноразмерной мРНК и мРНК SMN2 $\Delta 7$ количественно оценивали с использованием метода RT-qPCR, общее количество полноразмерной мРНК и мРНК SMN2 $\Delta 7$ принимали за 1, и рассчитывали доли фракций полноразмерной мРНК и мРНК SMN2 $\Delta 7$.

На фиг. 7, ссылка на которую представлена в биологическом примере 6, отражена коррекция альтернативного сплайсинга SMN2 (и гена SMN2, и гибридного мышинного гена *Smn1-SMN2*) в тканях головного мозга и мышц в модели с C/C-аллелью SMA у мышей в результате лечения BID в течение 10 суток 10 мг/кг соединения 6 (фиг. 7a) и соединения 170 (фиг. 7b). Полноразмерную мРНК и мРНК SMN2 $\Delta 7$ амплифицировали с использованием метода RT-PCR. Продукты ПЦР разделяли с использованием электрофореза на агарозном геле. Верхняя и нижняя полосы соответствуют полноразмерной мРНК и мРНК SMN2 $\Delta 7$, соответственно. Интенсивность каждой полосы пропорциональна количеству РНК, содержащейся в образце.

На фиг. 8, ссылка на которую представлена в биологическом примере 7, отражено дозозависимое усиление экспрессии белка *Smn* в фибробластах человека с SMA 1 типа, обработанных в течение 48 ч соединением 6 (фиг. 8a) и соединением 170 (фиг. 8b).

На фиг. 9, ссылка на которую представлена в биологическом примере 8, отражено увеличение числа ядерных спеклов ("жемчужин") в фибробластах пациента с SMA типа 1, обработанных в течение 48 ч соединением 6 (фиг. 9a) и соединением 170 (фиг. 9b). Спеклы подсчитывали с использованием метода флуоресцентной микроскопии. Число спеклов в образцах, обработанных соединением, нормировали к числу в образцах, обработанных растворителем, и графически отображали как функцию концентрации соединения.

На фиг. 10, ссылка на которую представлена в биологическом примере 9, отображено усиление экспрессии белка *Smn* (черные кружки) в двигательных нейронах, происходящих из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, полученных из фибробластов пациентов с SMA 1 типа, обработанных соединением 6 (фиг. 10). Уровень белка *Smn* количественно оценивали с использованием иммуноокрашивания *Smn* и конфокальной флуоресцентной микроскопии. Уровень белка *Smn* в образцах, обработанных соединением, нормировали к уровню в образцах, обработанных растворителем, и графически ото-

бражали как функцию концентрации соединения.

На фиг. 11, ссылка на которую представлена в биологическом примере 11, отображено усиление экспрессии белка Smn в тканях головного мозга, спинного мозга и мышц в модели с C/C-аллелью SMA у мышей в результате обработки в течение 10 суток BID 10 мг/кг соединения 6 (фиг. 11a, для n=10) и соединения 170 (фиг. 11b, для n=5). Значение p согласно ANOVA на каждой фигуре обозначено тремя звездочками (***) для $p < 0,001$.

На фиг. 12, ссылка на которую представлена в биологическом примере 12, отображено усиление экспрессии белка Smn в тканях в модели новорожденных мышей SMA Δ7 в результате обработки в течение 7 суток один раз в сутки (QD) соединением 6 (головной мозг, фиг. 12a; спинной мозг, фиг. 12b; мышцы, фиг. 12c; и кожа, фиг. 12d, для n=6-9) и соединением 170 (головной мозг, фиг. 12e; спинной мозг, фиг. 12f; мышцы, фиг. 12g, для n=7). Значение p согласно ANOVA на каждой фигуре обозначено одной звездочкой (*) для $p < 0,05$, двумя звездочками (**) для $p < 0,01$ и тремя звездочками (***) для $p < 0,001$.

На фиг. 13, ссылка на которую представлена в биологическом примере 13, отражены различия массы тела в модели новорожденных мышей SMA Δ7 в результате обработки до постнатальных суток (PND) 59 соединением 6 (фиг. 13a) и до PND 92 соединением 170 (фиг. 13b).

На фиг. 14, ссылка на которую представлена в биологическом примере 14, отражено улучшение рефлекса переворачивания в модели новорожденных мышей SMA Δ7 в результате обработки соединением 6 (фиг. 14a) и соединением 170 (фиг. 14b).

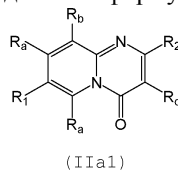
На фиг. 15, ссылка на которую представлена в биологическом примере 15, отражено улучшение выживаемости в модели новорожденных мышей SMA Δ7 в результате обработки соединением 6 (фиг. 15a) и соединением 170 (фиг. 15b).

На фиг. 16, ссылка на которую представлена в биологическом примере 15, отражено усиление экспрессии белка Smn в тканях головного мозга, спинного мозга и мышц в модели мышей SMA Δ7 в результате обработки соединением 6 до PND 156 (фиг. 16a) и соединением 170 до PND 185 (фиг. 16b) относительно мышей, обработанных растворителем, и гетерозиготных мышей соответствующей возрастной группы соответственно.

На фиг. 17, ссылка на которую представлена в биологическом примере 16, отражено дозозависимое увеличение мРНК мини-гена SMN1 FL и дозозависимое уменьшение мРНК мини-гена SMN1 Δ7 в клетках HEK293H человека, обработанных в течение 7 часов соединением 6 (фиг. 17a) и соединением 170 (фиг. 17b). Каждую из полноразмерной мРНК мини-гена SMN1 и мРНК мини-гена SMN1 Δ7 амплифицировали с использованием метода RT-PCR, и полученные продукты ПЦР разделяли с использованием электрофореза на агарозном геле. Верхняя и нижняя полосы соответствуют полноразмерной мРНК мини-гена SMN1 и мРНК мини-гена SMN1 Δ7, соответственно. Интенсивность каждой полосы пропорциональна количеству РНК, присутствующей в образце.

Подробное описание

В настоящем документе представлены соединения формулы (IIa1)



или его свободная кислота, свободное основание, фармацевтически приемлемая соль и стереоизомер, где

R₁ представляет собой гетероцикл, выбранный из оксиранила, оксетанила, азетидинила, тетрагидрофуранила, пирролидинила, имидазолидинила, изоксазолидинила, изотиазолидинила, оксазолидинила, тиазолидинила, триазолидинила, оксадиазолидинила, тиадиазолидинила, тетразолидинила, пиранила, дигидро-2H-пиранила, тиопиранила, 1,3-диоксанила, 1,2,5,6-тетрагидропиридинила, 1,2,3,6-тетрагидропиридинила, пиперидинила, пиперазинила, морфолина, тиоморфолина, 1,4-дiazепанила, бензо[d][1,3]диоксолила, 1,4-бензодиоксанила, 2,3-дигидробензо[b][1,4]диоксинала, гексагидропирроло[3,4-b]пиррол-(1R)-ила, (3aS,6aS)-гексагидропирроло[3,4-b]пиррол-(1R)-ила, (3aR,6aR)-гексагидропирроло[3,4-b]пиррол-(1R)-ила, гексагидропирроло[3,4-b]пиррол-(2R)-ила, (3aS,6aS)-гексагидропирроло[3,4-b]пиррол-(2R)-ила, (3aR,6aR)-гексагидропирроло[3,4-b]пиррол-(2R)-ила, гексагидропирроло[3,4-c]пиррол-(1R)-ила, (3aR,6aS)-гексагидропирроло[3,4-c]пиррол-(1R)-ила, (3aR,6aR)-гексагидропирроло[3,4-c]пиррол-(1R)-ила, октагидро-5R-пирроло[3,2-c]пиридинила, октагидро-6R-пирроло[3,4-b]пиридинила, (4aR,7aR)-октагидро-6R-пирроло[3,4-b]пиридинила, (4aS,7aS)-октагидро-6R-пирроло[3,4-b]пиридинила, гексагидропирроло[1,2-a]пиазин-(1R)-ила, (7R,8aS)-гексагидропирроло[1,2-a]пиазин-(1R)-ила, (8aS)-гексагидропирроло[1,2-a]пиазин-(1R)-ила, (8aR)-гексагидропирроло[1,2-a]пиазин-(1R)-ила, (8aS)-октагидропирроло[1,2-a]пиазин-(1R)-ила, (8aR)-октагидропирроло[1,2-a]пиазин-(1R)-ила, гексагидропирроло[1,2-a]пиазин-(2R)-она, октагидро-2R-пиридо[1,2-a]пиазинила, 3-аза-

бицикло[3.1.0]гексила, (1R,5S)-3-азабицикло[3.1.0]гексила, 8-азабицикло[3.2.1]октила, (1R,5S)-8-азабицикло[3.2.1]октила, 8-азабицикло[3.2.1]окт-2-енила, (1R,5S)-8-азабицикло[3.2.1]окт-2-енила, 9-азабицикло[3.3.1]нонила, (1R,5S)-9-азабицикло[3.3.1]нонила, 2,5-диазабицикло[2.2.1]гептила, (1S,4S)-2,5-диазабицикло[2.2.1]гептила, 2,5-диазабицикло[2.2.2]октила, 3,8-диазабицикло[3.2.1]октила, (1R,5S)-3,8-диазабицикло[3.2.1]октила, 1,4-диазабицикло[3.2.2]нонила, азаспиро[3.3]гептила, 2,6-дiazаспиро[3.3]гептила, 2,7-дiazаспиро[3.5]нонила, 5,8-дiazаспиро[3.5]нонила, 2,7-дiazаспиро[4.4]нонила или 6,9-дiazаспиро[4.5]децила;

где R₁ необязательно замещен одним, двумя или тремя заместителями R₃ и необязательно одним дополнительным заместителем R₄; или

где R₁ необязательно замещен одним, двумя, тремя или четырьмя заместителями R₃;

R₂ представляет собой фенил;

где R₂ необязательно замещен одним, двумя или тремя заместителями R₆ и необязательно одним дополнительным заместителем R₇;

каждый R_a независимо выбирают из водорода, галогена или C₁₋₈алкила;

R_b представляет собой водород, галоген, C₁₋₈алкил или C₁₋₈алкокси;

R_c представляет собой водород, галоген или C₁₋₈алкил;

каждый R₃ независимо выбирают из циано, галогена, гидрокси, оксо, C₁₋₈алкила, галоген-C₁₋₈алкила, C₁₋₈алкилкарбонила, C₁₋₈алкокси, галоген-C₁₋₈алкокси, C₁₋₈алкокси-C₁₋₈алкила, C₁₋₈алкоксикарбонила, амина, C₁₋₈алкиламина, (C₁₋₈алкил)₂-амино, амина-C₁₋₈алкила, C₁₋₈алкиламина-C₁₋₈алкила, (C₁₋₈алкил)₂-амино-C₁₋₈алкила, амина-C₁₋₈алкиламина, C₁₋₈алкиламина-C₁₋₈алкиламина, (C₁₋₈алкиламина-C₁₋₈алкил)₂-амино, (C₁₋₈алкил)₂-амино-C₁₋₈алкиламина, [(C₁₋₈алкил)₂-амино-C₁₋₈алкил]₂-амино, (C₁₋₈алкиламина-C₁₋₈алкил)(C₁₋₈алкил)амино, [(C₁₋₈алкил)₂-амино-C₁₋₈алкил](C₁₋₈алкил)амино, C₁₋₈алкокси-C₁₋₈алкиламина, (C₁₋₈алкокси-C₁₋₈алкил)₂-амино, (C₁₋₈алкокси-C₁₋₈алкил)(C₁₋₈алкил)амино, C₁₋₈алкилкарбониламина, C₁₋₈алкоксикарбониламина, гидрокси-C₁₋₈алкила, гидрокси-C₁₋₈алкокси-C₁₋₈алкила, гидрокси-C₁₋₈алкиламина, (гидрокси-C₁₋₈алкил)₂-амино или (гидрокси-C₁₋₈алкил)(C₁₋₈алкил)амино;

R₄ представляет собой C₃₋₁₄циклоалкил, C₃₋₁₄циклоалкил-C₁₋₈алкил, C₃₋₁₄циклоалкиламина, арил-C₁₋₈алкил, арил-C₁₋₈алкоксикарбонил, арилсульфонилокси-C₁₋₈алкил, гетероцикл или гетероцикл-C₁₋₈алкил; где каждый C₃₋₁₄циклоалкил, арил и гетероцикл необязательно замещен одним, двумя или тремя заместителями R₅;

каждый R₅ независимо выбирают из галогена, гидрокси, циано, нитро, C₁₋₈алкила, галоген-C₁₋₈алкила, C₁₋₈алкокси, галоген-C₁₋₈алкокси, амина, C₁₋₈алкиламина, (C₁₋₈алкил)₂-амино или C₁₋₈алкилтио;

каждый R₆ независимо выбирают из галогена, гидрокси, циано, нитро, C₁₋₈алкила, C₂₋₈алкенила, галоген-C₁₋₈алкила, гидрокси-C₁₋₈алкила, C₁₋₈алкокси, галоген-C₁₋₈алкокси, C₁₋₈алкокси-C₁₋₈алкила, амина, C₁₋₈алкиламина, (C₁₋₈алкил)₂-амино или C₁₋₈алкилтио и

R₇ представляет собой C₃₋₁₄циклоалкил, C₃₋₁₄циклоалкилокси, арил, гетероцикл или гетероарил; где арил представляет собой моноциклический, бициклический или полициклический 6-14-членный ароматический радикал карбоциклической структуры;

гетероарил представляет собой моноциклический, бициклический или полициклический ароматический радикал карбоциклической структуры, в котором один или несколько кольцевых атомов углерода заменены одним или несколькими гетероатомами, выбранными из атома O, S или N;

гетероцикл представляет собой насыщенный или частично ненасыщенный моноциклический, бициклический или полициклический ароматический радикал карбоциклической структуры, в котором один или несколько кольцевых атомов углерода заменены гетероатомом, выбранными из атома O, S или N.

Варианты осуществления

Согласно одному варианту осуществления соединения формулы (IIa1), R₁ представляет собой гетероцикл, выбранный из азетидинила, тетрагидрофуранила, пирролидинила, пиперидинила, пиперазинила, 1,4-дiazепанила, 1, 2, 5, 6-тетрагидропиридинила, 1,2,3,6-тетрагидропиридинила, гексагидропирроло[3,4-b]пиррол-(1H)-ила, (3aS,6aS)-гексагидропирроло[3,4-b]пиррол-(1H)-ила, (3aR,6aR)-гексагидропирроло[3,4-b]пиррол-(1H)-ила, гексагидропирроло[3,4-b]пиррол-(2H)-ила, (3aS,6aS)-гексагидропирроло[3,4-b]пиррол-(2H)-ила, гексагидропирроло[3,4-c]пиррол-(1H)-ила, (3aR,6aS)-гексагидропирроло[3,4-c]пиррол-(1H)-ила, октагидро-5H-пирроло[3,2-c]пиридинила, октагидро-6H-пирроло[3,4-b]пиридинила, (4aR,7aR)-октагидро-6H-пирроло[3,4-b]пиридинила, (4aS,7aS)-октагидро-6H-пирроло[3,4-b]пиридинила, гексагидропирроло[1,2-a]пиазин-(2H)-она, гексагидропирроло[1,2-a]пиазин-(1H)-ила, (7R,8aS)-гексагидропирроло[1,2-a]пиазин-(1H)-ила, (8aS)-гексагидропирроло[1,2-a]пиазин-(1H)-ила, (8aR)-гексагидропирроло[1,2-a]пиазин-(1H)-ила, (8aS)-октагидропирроло[1,2-a]пиазин-(1H)-ила, (8aR)-октагидропирроло[1,2-a]пиазин-(1H)-ила, октагидро-2H-пиридо[1,2-a]пиазинила, 3-азабицикло[3.1.0]гексила, (1R,5S)-3-азабицикло[3.1.0]гексила, 8-азабицикло[3.2.1]октила, (1R,5S)-8-азабицикло[3.2.1]октила, 8-азабицикло[3.2.1]окт-2-енила, (1R,5S)-8-азабицикло[3.2.1]окт-2-енила, 9-азабицикло[3.3.1]нонила, (1R,5S)-9-азабицикло[3.3.1]нонила, 2,5-диазабицикло[2.2.1]гептила, (1S,4S)-2,5-диазабицикло[2.2.1]гептила, 2,5-диазабицикло[2.2.2]октила, 3,8-диазабицикло[3.2.1]октила, (1R,5S)-3,8-диазабицикло[3.2.1]октила, 1,4-диазабицикло[3.2.2]нонила, азаспиро[3.3]гептила, 2,6-дiazаспиро[3.3]гептила, 2,7-дiazаспиро[3.5]нонила, 5,8-дiazаспиро[3.5]нонила, 2,7-дiazаспиро[4.4]нонила или

6,9-дiazаспиро[4.5]децила; где каждый гетероциклil необязательно замещен одним, двумя или тремя заместителями R₃ и необязательно одним дополнительным заместителем R.

Вариант осуществления соединения, выбранное из группы, состоящей из:

- 2-(4-метоксифенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(4-метоксифенил)-7-(4-метилпиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(4-метоксифенил)-7-[(3R)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 7-[(3R,5S)-3,5-диметилпиперазин-1-ил]-2-(4-метоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 7-(1,4-дiazепан-1-ил)-2-(4-метоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(3,4-диметоксифенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(3,4-диметоксифенил)-7-(3,3-диметилпиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-7-[(3R)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-7-(4-этилпиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

7-(1,4-дiazепан-1-ил)-2-(3,4-диметоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-7-(4-метил-1,4-diazепан-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(4-метоксифенил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-7-(4-метилпиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-7-[(3R,5S)-3,5-диметилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-7-(4-пропилпиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(4-метоксифенил)-7-(4-метил-1,4-diazепан-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

7-(3,3-диметилпиперазин-1-ил)-2-(4-метоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3-метоксифенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3-метоксифенил)-7-(4-метилпиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3-метоксифенил)-7-[(3R)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

7-[(3R,5S)-3,5-диметилпиперазин-1-ил]-2-(3-метоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

7-(4-этилпиперазин-1-ил)-2-(3-метоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

7-(1,4-diazепан-1-ил)-2-(3-метоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3-метоксифенил)-7-(4-метил-1,4-diazепан-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-фенил-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-2-фенил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-9-фтор-7-(4-метилпиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3-хлорфенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(4-хлорфенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

7-(пиперазин-1-ил)-2-[3-(трифторметил)фенил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

7-(пиперазин-1-ил)-2-[4-(трифторметил)фенил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3-метилфенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(4-фторфенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(4-нитрофенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-[4-(диметиламино)фенил]-9-фтор-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-[4-(диметиламино)фенил]-9-фтор-7-[(3R)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(2-фторфенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-[4-(диметиламино)фенил]-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-[4-(диметиламино)фенил]-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметилфенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметилфенил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-[3-(диметиламино)фенил]-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-
пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-[3-(диметиламино)фенил]-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-
4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-[4-(дифторметокси)фенил]-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-
пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-[4-(дифторметокси)фенил]-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-
4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3-фторфенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-
а]пиримидин-4-он,

2-(3-нитрофенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-
а]пиримидин-4-он,

2-(4-метилфенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-
а]пиримидин-4-он,

2-(2-фтор-4,5-диметоксифенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-
пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(2-фтор-4,5-диметоксифенил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-
ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

7-(3,8-диазабицикло[3.2.1]окт-3-ил)-2-(3,4-
диметоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-[4-метокси-3-(трифторметил)фенил]-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-
пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-[4-метокси-3-(трифторметил)фенил]-7-[(3R)-3-
метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-[4-метокси-3-(трифторметил)фенил]-7-[(3S)-3-
метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-9-метокси-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-
пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,5-дифтор-4-гидроксифенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-
пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-
пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

4-[4-оксо-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-2-
ил]бензонитрил

2-[3-фтор-5-(трифторметил)фенил]-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-[4-фтор-3-(трифторметил)фенил]-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-[2-метокси-3-(трифторметил)фенил]-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,5-дифторфенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

7-(пиперазин-1-ил)-2-[3-(трифторметокси)фенил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-[4-метокси-3-(трифторметокси)фенил]-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-[4-гидрокси-3-(трифторметокси)фенил]-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-[4-метокси-3-(трифторметокси)фенил]-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-[4-гидрокси-3-(трифторметокси)фенил]-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-[(3R)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(2,4-диметоксифенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(2,4-диметоксифенил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-[3-(дифторметокси)-4-метоксифенил]-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-[3-(дифторметокси)-4-гидроксифенил]-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-[3-(дифторметокси)-4-метоксифенил]-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-[3-(дифторметокси)-4-гидроксифенил]-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,5-дифторфенил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3-хлор-4-метоксифенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3-хлор-4-метоксифенил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3-этоксифенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3-этоксифенил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-7-[(3aR,6aS)-гексагидропирроло[3,4-с]пиррол-2(1H)-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

7-(4-аминопиперидин-1-ил)-2-(3,4-диметоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3-фтор-5-метоксифенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3-фтор-5-метоксифенил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-7-(1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-7-(пиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3-фтор-4,5-диметоксифенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-7-(4-гидроксипиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-7-[(3S)-3-(диметиламино)пирролидин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-7-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(4-метокси-3-метилфенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

3-[4-оксо-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-2-ил] бензонитрил

2-метокси-5-[4-оксо-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-2-ил] бензонитрил

2-(3-фтор-4-гидроксифенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(4-этоксифенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-[3-фтор-4-(2,2,2-трифторэтоксифенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3-фтор-4-метилфенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3-фтор-4-метилфенил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

7-[(3S)-3-аминопирролидин-1-ил]-2-(3,4-диметоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-7-(1-метилпиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-7-[(3S)-3-(пропан-2-иламино)пирролидин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-(4-метил-1,4-дiazепан-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(4-метокси-3-нитрофенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-[3-фтор-4-(метилсульфанил)фенил]-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,5-дифтор-4-метоксифенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,5-дифтор-4-метоксифенил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

7-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-(3-фтор-4-метоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-(1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-7-(1-метил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3-хлор-5-фторфенил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3-хлор-5-фторфенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-(1-метил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

7-[(3S)-3-(диметиламино)пирролидин-1-ил]-2-(3-фтор-4-метоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

7-[(3R,4R)-3-(диметиламино)-4-гидроксипирролидин-1-ил]-2-(3-фтор-4-метоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

7-(4-аминопиперидин-1-ил)-2-(3-фтор-4-метоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-[4-(метиламино)пиперидин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-[(3aR,6aS)-гексагидропирроло[3,4-с]пиррол-2(1H)-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-[(3aR,6aS)-5-метилгексагидропирроло[3,4-с]пиррол-2(1H)-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-7-[1-(2-гидроксиэтил)пиперидин-4-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(4-фтор-3-метоксифенил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(4-фтор-3-метоксифенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-дифтор-5-метоксифенил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-дифтор-5-метоксифенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-[(3S)-3-(метиламино)пирролидин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-{4-[(метиламино)метил]пиперидин-1-ил}-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 7-[(3S)-3-аминопирролидин-1-ил]-2-(3-фтор-4-метоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 7-{4-[(диметиламино)метил]пиперидин-1-ил}-2-(3-фтор-4-метоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 3-фтор-5-{7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4-оксо-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-2-ил}бензонитрил
 3-фтор-5-[4-оксо-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-2-ил]бензонитрил
 2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-[(3'S,4'S)-4'-гидрокси-1,3'-бипирролидин-1'-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 7-(1,4-дiazепан-1-ил)-2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-[(3aR,6aR)-1-метилгексагидропирроло[3,4-b]пиррол-5(1H)-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-7-(1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-7-[1-(2-гидроксиэтил)-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-7-(пиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-7-(1-метил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-7-(1-метилпиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-7-[(3aR,6aS)-гексагидропирроло[3,4-c]пиррол-2(1H)-ил]-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-7-[(3aR,6aS)-5-метилгексагидропирроло[3,4-c]пиррол-2(1H)-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-7-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

7-[(1R,5S)-8-азабицикло[3.2.1]окт-2-ен-3-ил]-2-(3,4-диметоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-7-(1,2,5,6-тетрагидропиперидин-3-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-[(3aR,6aS)-5-(2-гидроксиэтил)гексагидропирроло[3,4-с]пиррол-2(1H)-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-[(3aS,6aS)-1-метилгексагидропирроло[3,4-b]пиррол-5(1H)-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-[(3aR,6aS)-5-(пропан-2-ил)гексагидропирроло[3,4-с]пиррол-2(1H)-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

7-[(3R)-3-(диметиламино)пирролидин-1-ил]-2-(3-фтор-4-метоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-[(4aR,7aR)-октагидро-6Н-пирроло[3,4-b]пиридин-6-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

7-[(3aR,6aS)-5-этилгексагидропирроло[3,4-с]пиррол-2(1H)-ил]-2-(3-фтор-4-метоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3-фтор-4-метоксифенил)-9-метил-7-(1,2,3,6-тетрагидропиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-[(4aR,7aR)-1-метилоктагидро-6Н-пирроло[3,4-b]пиридин-6-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-7-[(3R)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3-фтор-4-метоксифенил)-9-метил-7-(1-метил-1,2,3,6-тетрагидропиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-7-[(1R,5S)-8-метил-8-азабицикло[3.2.1]окт-3-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-7-[(2R)-2-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3-фтор-4-метоксифенил)-9-метил-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

7-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-(3-фтор-4-метоксифенил)-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3-фтор-4-метоксифенил)-9-метил-7-(1-метилпиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

7-[4-(циклопропиламино)пиперидин-1-ил]-2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-7-[(3R,5S)-3,5-диметилпиперазин-1-ил]-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-7-[(3R)-3,4-диметилпиперазин-1-ил]-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-7-(4-метилпиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-7-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-9-этил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-7-[1-(2-гидроксиэтил)-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил]-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-7-(1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-7-[4-(метиламино)пиперидин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-7-[4-(этиламино)пиперидин-1-ил]-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-8-метил-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-7-[4-(пропан-2-иламино)пиперидин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

7-(1-циклобутил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-2-(3,4-диметоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-7-[1-(пропан-2-ил)-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-7-[1-(оксетан-3-ил)-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-7-(1-пропил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-7-(1-этил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-7-(1-пропил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 7-(1-циклобутил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-7-[1-(оксетан-3-ил)-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-7-[1-(пропан-2-ил)-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-7-(1-этил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-8-метил-7-(1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 7-(1-циклопропил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-8-метил-7-(1-метил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-7-(1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиримидо[1,2-б]пиридазин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-7-(1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиразино[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-(пиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-7-(1-этилпиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-7-[цис-4-(метиламино)циклогексил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-7-(пиперидин-3-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-7-[4-(пропиламино)пиперидин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-9-этил-7-(1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-7-[(8aR)-гексагидропирроло[1,2-а]пиразин-2(1H)-ил]-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-9-этил-7-(1-метил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-7-[4-(пропан-2-иламино)пиперидин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-7-[(8aS)-гексагидропирроло[1,2-а]пиразин-2(1H)-ил]-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-9-этил-7-(1-этил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-7-[4-(морфолин-4-ил)пиперидин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-7-{4-[(2-гидроксиэтил)амино]пиперидин-1-ил}-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-9-этил-7-(1-метилпиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

7-[4-(диэтиламино)пиперидин-1-ил]-2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-9-этил-7-(1-этилпиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-7-{4-[(2-гидроксиэтил)(метил)амино]пиперидин-1-ил}-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-9-этил-7-[(3R)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-9-этил-7-[(8aR)-гексагидропирроло[1,2-а]пиразин-2(1H)-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-7-{4-[(2-метоксиэтил)амино]пиперидин-1-ил}-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-7-{4-[(диметиламино)метил]пиперидин-1-ил}-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

2-(3,4-диметоксифенил)-7-[4-(пирролидин-1-илметил)пиперидин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он, и

2-(3,4-диметоксифенил)-7-[4-(пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

Терминология

Если конкретно не указано иное, то среднему специалисту в данной области техники следует понимать, что химические термины, использованные выше и на всем описании настоящего документа, характеризуются следующими указанными значениями.

Используемый в настоящем документе термин "C₁₋₈алкил" в общем случае относится к насыщенным углеводородным радикалам, содержащим в цепи с неразветвленной или разветвленной конфигурацией от одного до восьми атомов углерода, включая без ограничения метил, этил, н-пропил (также называемый пропилом или пропанилом), изопропил, н-бутил (также называемый бутилом или бутанилом), изобутил, втор-бутил, трет-бутил, н-пентил (также называемый пентилом или пентанилом), н-гексил (также называемый гексилом или гексанилом), н-гептил (также называемый гептилом или гептанилом), н-октил и т.п. Согласно некоторым вариантам осуществления, C₁₋₈алкил включает без ограничения C₁₋₆.

алкил, C_{1-4} алкил и т.п. C_{1-8} алкильный радикал необязательно замещен заместителями, описанными в настоящем документе, где это позволяют доступные валентности.

Используемый в настоящем документе термин " C_{2-8} алкенил" в общем случае относится к частично ненасыщенным углеводородным радикалам, содержащим в цепи с неразветвленной или разветвленной конфигурацией от двух до восьми атомов углерода и одну или несколько двойных углерод-углеродных связей, включая без ограничения этенил (также называемый винилом), аллил, пропенил и т.п. Согласно некоторым вариантам осуществления, C_{2-8} алкенил включает без ограничения C_{2-6} алкенил, C_{2-4} алкенил и т.п. C_{2-8} алкенильный радикал необязательно замещен заместителями, описанными в настоящем документе, где это позволяют доступные валентности.

Используемый в настоящем документе термин " C_{1-8} алкокси" в общем случае относится к насыщенным углеводородным радикалам формулы $-O-C_{1-8}$ алкил, содержащим в цепи с неразветвленной или разветвленной конфигурацией от одного до восьми атомов углерода, включая без ограничения метокси, этокси, н-пропокси, изопропокси, н-бутокси, изобутокси, втор-бутокси, трет-бутокси, н-пентокси, н-гексокси и т.п. Согласно некоторым вариантам осуществления, C_{1-8} алкокси включает без ограничения C_{1-6} алкокси, C_{1-4} алкокси и т.п. C_{1-8} алкокси радикал необязательно замещен заместителями, описанными в настоящем документе, где это позволяют доступные валентности.

Используемый в настоящем документе термин "арил" в общем случае относится к моноциклическому, бициклическому или полициклическому ароматическому радикалу карбоциклической структуры, включая без ограничения фенил, нафтил, антраценил, флуоренил, азуленил, фенантренил и т.п. Арильный радикал необязательно замещен заместителями, описанными в настоящем документе, где это позволяют доступные валентности.

Используемый в настоящем документе термин "гетероарил" в общем случае относится к моноциклическому, бициклическому или полициклическому ароматическому радикалу карбоциклической структуры, в котором один или несколько кольцевых атомов углерода заменены, где это позволяет устойчивость структуры, одним или несколькими гетероатомами, такими как атом O, S или N, включая без ограничения фуриил (также называемый фурилом), тиенил (также называемый тифенилом), пирролил, 2Н-пирролил, 3Н-пирролил, пиразолил, 1Н-пиразолил, имидазолил, 1Н-имидазолил, изоксазолил, изотиазолил, оксазолил, 1,3-тиазолил, триазолил (такой как 1Н-1,2,3-триазолил и т.п.), оксадиазолил (такой как 1,2,4-оксадиазолил, 1,3,4-оксадиазолил и т.п.), тиадиазолил, тетразолил (такой как 1Н-тетразолил, 2Н-тетразолил и т.п.), пиридилил (также называемый пиридилом), пиримидинил, пиридазинил, триазинил, индолил, 1Н-индолил, индазолил, 1Н-индазолил, 2Н-индазолил, индолизинил, изоиндолил, бензофуриил, бензотиенил (также называемый бензотифенилом), бензоимидазолил, 1Н-бензоимидазолил, 1,3-бензотиазолил, 1,3-бензоксазолил (также называемый 1,3-бензооксазолилом), пуринил, 9Н-пуринил, хинолинил, изохинолинил, хиназолинил, хиноксалинил, 1,3-дiazинил, 1,2-дiazинил, 1,2-дiazолинил, 1,4-дiazанафталенил, акридинил, фуро[3,2-*b*]пиридилил, фуро[3,2-*c*]пиридилил, фуро[2,3-*c*]пиридилил, 6Н-тиено[2,3-*b*]пирролил, тиено[3,2-*c*]пиридилил, тиено[2,3-*d*]пиримидинил, 1Н-пирроло[2,3-*b*]пиридилил, 1Н-пирроло[2,3-*c*]пиридилил, 1Н-пирроло[3,2-*b*]пиридилил, пирроло[1,2-*a*]пиразинил, пирроло[1,2-*b*]пиридазинил, пиразоло[1,5-*a*]пиридилил, пиразоло[1,5-*a*]пиразинил, имидазо[1,2-*a*]пиридилил, 3Н-имидазо[4,5-*b*]пиридилил, имидазо[1,2-*a*]пиримидинил, имидазо[1,2-*c*]пиримидинил, имидазо[1,2-*b*]пиридазинил, имидазо[1,2-*a*]пиразинил, имидазо[2,1-*b*][1,3]тиазолил, имидазо[2,1-*b*][1,3,4]тиадиазолинил, [1,2,4]триазоло[1,5-*a*]пиридилил, [1,2,4]триазоло[4,3-*a*]пиридилил и т.п. Гетероарильный радикал необязательно замещен на кольцевом атоме углерода или азота заместителями, описанными в настоящем документе, где это позволяют доступные валентности.

Используемый в настоящем документе термин "гетероцикл" в общем случае относится к насыщенному или частично ненасыщенному моноциклическому, бициклическому или полициклическому ароматическому радикалу карбоциклической структуры, в котором один или несколько кольцевых атомов углерода заменены, где это позволяет устойчивость структуры, гетероатомом, таким как атом O, S или N, включая без ограничения оксиранил, оксетанил, азетидинил, тетрагидрофуриил, пирролинил, пирролидинил, пиразолинил, пиразолидинил, имидазолинил, имидазолидинил, изоксазолинил, изоксазолидинил, изотиазолинил, изотиазолидинил, оксазолинил, оксазолидинил, тиазолинил, тиазолидинил, триазолинил, триазолидинил, оксадиазолинил, оксадиазолидинил, тиадиазолинил, тиадиазолидинил, тетразолинил, тетразолидинил, пиранил, дигидро-2Н-пиранил, тиопиранил, 1,3-диоксанил, 1,2,5,6-тетрагидропиридилил, 1,2,3,6-тетрагидропиридилил, пиперидинил, пиперазинил, морфолинил, тиоморфолинил, 1,4-дiazепанил, 1,3-бензодиоксолил (также называемый бензо[*d*][1,3]диоксолилом), 1,4-бензодиоксанил, 2,3-дигидро-1,4-бензодиоксинил (также называемый 2,3-дигидробензо[*b*][1,4]диоксинилом), гексагидропирроло[3,4-*b*]пиррол-(1Н)-ил, (3aS,6aS)-гексагидропирроло[3,4-*b*]пиррол-(1Н)-ил, (3aR,6aR)-гексагидропирроло[3,4-*b*]пиррол-(1Н)-ил, гексагидропирроло[3,4-*b*]пиррол-(2Н)-ил, (3aS,6aS)-гексагидропирроло[3,4-*b*]пиррол-(2Н)-ил, (3aR,6aR)-гексагидропирроло[3,4-*b*]пиррол-(2Н)-ил, гексагидропирроло[3,4-*c*]пиррол-(1Н)-ил, (3aR,6aS)-гексагидропирроло[3,4-*c*]пиррол-(1Н)-ил, (3aR,6aR)-гексагидропирроло[3,4-*c*]пиррол-(1Н)-ил, октагидро-5Н-пирроло[3,2-*c*]пиридилил, октагидро-6Н-пирроло[3,4-*b*]пиридилил, (4aR,7aR)-октагидро-6Н-пирроло[3,4-*b*]пиридилил, (4aS,7aS)-октагидро-6Н-пирроло[3,4-*b*]пиридилил, гексагидропирроло[1,2-*a*]пиразин-(1Н)-ил, (7R,8aS)-гексагидропир-

роло[1,2-а]пиразин-(1H)-ил, (8aS)-гексагидропирроло[1,2-а]пиразин-(1H)-ил, (8aR)-гексагидропирроло[1,2-а]пиразин-(1H)-ил, (8aS)-октагидропирроло[1,2-а]пиразин-(1H)-ил, (8aR)-октагидропирроло[1,2-а]пиразин-(1H)-ил, гексагидропирроло[1,2-а]пиразин-(2H)-он, октагидро-2H-пиридо[1,2-а]пиазинил, 3-азабицикло[3.1.0]гексил, (1R,5S)-3-азабицикло[3.1.0]гексил, 8-азабицикло[3.2.1]октил, (1R,5S)-8-азабицикло[3.2.1]октил, 8-азабицикло[3.2.1]окт-2-енил, (1R,5S)-8-азабицикло[3.2.1]окт-2-енил, 9-азабицикло[3.3.1]нонил, (1R,5S)-9-азабицикло[3.3.1]нонил, 2,5-диазабицикло[2.2.1]гептил, (1S,4S)-2,5-диазабицикло[2.2.1]гептил, 2,5-диазабицикло[2.2.2]октил, 3,8-диазабицикло[3.2.1]октил, (1R,5S)-3,8-диазабицикло[3.2.1]октил, 1,4-диазабицикло[3.2.2]нонил, азаспиро[3.3]гептил, 2,6-дiazаспиро[3.3]гептил, 2,7-дiazаспиро[3.5]нонил, 5,8-дiazаспиро[3.5]нонил, 2,7-дiazаспиро[4.4]нонил, 6,9-дiazаспиро[4.5]децил и т.п.

Гетероциклический радикал необязательно замещен на кольцевом атоме углерода или азота заместителями, описанными в настоящем документе, где это позволяют доступные валентности.

Используемый в настоящем документе термин "C₁₋₈алкокси-C₁₋₈алкил" относится к радикалу формулы -C₁₋₈алкил-O-C₁₋₈алкил.

Используемый в настоящем документе термин "C₁₋₈алкокси-C₁₋₈алкиламино" относится к радикалу формулы -NH-C₁₋₈алкил-O-C₁₋₈алкил.

Используемый в настоящем документе термин "(C₁₋₈алкокси-C₁₋₈алкил)₂-амино" относится к радикалу формулы -N(C₁₋₈алкил-O-C₁₋₈алкил)₂.

Используемый в настоящем документе термин "C₁₋₈алкокси-C₁₋₈алкиламино-C₁₋₈алкокси" относится к радикалу формулы -O-C₁₋₈алкил-NH-C₁₋₈алкил-O-C₁₋₈алкил.

Используемый в настоящем документе термин "(C₁₋₈алкокси-C₁₋₈алкил)₂-амино-C₁₋₈алкокси" относится к радикалу формулы -O-C₁₋₈алкил-N(C₁₋₈алкил-O-C₁₋₈алкил)₂.

Используемый в настоящем документе термин "(C₁₋₈алкокси-C₁₋₈алкил)(C₁₋₈алкил)амино-C₁₋₈алкокси" относится к радикалу формулы -O-C₁₋₈алкил-N(C₁₋₈алкил)(C₁₋₈алкил-O-C₁₋₈алкил).

Используемый в настоящем документе термин "C₁₋₈алкокси-C₁₋₈алкиламино-C₁₋₈алкил" относится к радикалу формулы -C₁₋₈алкил-NH-C₁₋₈алкил-O-C₁₋₈алкил.

Используемый в настоящем документе термин "(C₁₋₈алкокси-C₁₋₈алкил)₂-амино-C₁₋₈алкил" относится к радикалу формулы -C₁₋₈алкил-N(C₁₋₈алкил-O-C₁₋₈алкил)₂.

Используемый в настоящем документе термин "(C₁₋₈алкокси-C₁₋₈алкил)(C₁₋₈алкил)амино-C₁₋₈алкил" относится к радикалу формулы -C₁₋₈алкил-N(C₁₋₈алкил)(C₁₋₈алкил-O-C₁₋₈алкил).

Используемый в настоящем документе термин "C₁₋₈алкоксикарбонил" относится к радикалу формулы -C(O)-O-C₁₋₈алкил.

Используемый в настоящем документе термин "C₁₋₈алкоксикарбониламино" относится к радикалу формулы -NH-C(O)-O-C₁₋₈алкил.

Используемый в настоящем документе термин "C₁₋₈алкиламино" относится к радикалу формулы -NH-C₁₋₈алкил.

Используемый в настоящем документе термин "(C₁₋₈алкил)₂-амино" относится к радикалу формулы -N(C₁₋₈алкил)₂.

Используемый в настоящем документе термин "C₁₋₈алкиламино-C₁₋₈алкокси" относится к радикалу формулы -O-C₁₋₈алкил-NH-C₁₋₈алкил.

Используемый в настоящем документе термин "(C₁₋₈алкил)₂-амино-C₁₋₈алкокси" относится к радикалу формулы -O-C₁₋₈алкил-N(C₁₋₈алкил)₂.

Используемый в настоящем документе термин "C₁₋₈алкиламино-C₁₋₈алкил" относится к радикалу формулы -C₁₋₈алкил-NH-C₁₋₈алкил.

Используемый в настоящем документе термин "(C₁₋₈алкил)₂-амино-C₁₋₈алкил" относится к радикалу формулы -C₁₋₈алкил-N(C₁₋₈алкил)₂.

Используемый в настоящем документе термин "C₁₋₈алкиламино-C₁₋₈алкиламино" относится к радикалу формулы -NH-C₁₋₈алкил-NH-C₁₋₈алкил.

Используемый в настоящем документе термин "(C₁₋₈алкил)₂-амино-C₁₋₈алкиламино" относится к радикалу формулы -NH-C₁₋₈алкил-N(C₁₋₈алкил)₂.

Используемый в настоящем документе термин "(C₁₋₈алкиламино-C₁₋₈алкил)₂-амино" относится к радикалу формулы -N(C₁₋₈алкил-NH-C₁₋₈алкил)₂.

Используемый в настоящем документе термин "[C₁₋₈алкил)₂-амино-C₁₋₈алкил]₂-амино" относится к радикалу формулы -N[C₁₋₈алкил-N(C₁₋₈алкил)₂]₂.

Используемый в настоящем документе термин "(C₁₋₈алкиламино-C₁₋₈алкил)(C₁₋₈алкил)амино" относится к радикалу формулы -N(C₁₋₈алкил)(C₁₋₈алкил-NH-C₁₋₈алкил).

Используемый в настоящем документе термин "[C₁₋₈алкил)₂-амино-C₁₋₈алкил](C₁₋₈алкил)амино" относится к радикалу формулы -N(C₁₋₈алкил)[C₁₋₈алкил-N(C₁₋₈алкил)₂].

Используемый в настоящем документе термин "C₁₋₈алкил-карбонил" относится к радикалу формулы -C(O)-C₁₋₈алкил.

Используемый в настоящем документе термин "C₁₋₈алкил-карбониламино" относится к радикалу формулы -NH-C(O)-C₁₋₈алкил.

Используемый в настоящем документе термин "C₁₋₈алкилтио" относится к радикалу формулы -S-C₁₋₈алкил.

Используемый в настоящем документе термин "амино-C₂₋₈алкенил" относится к радикалу формулы -C₂₋₈алкенил-NH₂.

Используемый в настоящем документе термин "амино-C₁₋₈алкокси" относится к радикалу формулы -O-C₁₋₈алкил-NH₂.

Используемый в настоящем документе термин "амино-C₁₋₈алкил" относится к радикалу формулы -C₁₋₈алкил-NH₂.

Используемый в настоящем документе термин "амино-C₁₋₈алкиламино" относится к радикалу формулы -NH-C₁₋₈алкил-NH₂.

Используемый в настоящем документе термин "(амино-C₁₋₈алкил)₂-амино" относится к радикалу формулы -N(C₁₋₈алкил-NH₂)₂.

Используемый в настоящем документе термин "(амино-C₁₋₈алкил)(C₁₋₈алкил)амино" относится к радикалу формулы -N(C₁₋₈алкил)(C₁₋₈алкил-NH₂).

Используемый в настоящем документе термин "амино-C₂₋₈алкинил" относится к радикалу формулы -C₂₋₈алкинил-NH₂.

Используемый в настоящем документе термин "арил-C₁₋₈алкоксикарбонил" относится к радикалу формулы -C(O)-O-C₁₋₈алкиларил.

Используемый в настоящем документе термин "арил-C₁₋₈алкил" относится к радикалу формулы -C₁₋₈алкиларил.

Используемый в настоящем документе термин "арил-C₁₋₈алкиламино" относится к радикалу формулы -NH-C₁₋₈алкиларил.

Используемый в настоящем документе термин "(арил-C₁₋₈алкил)₂-амино" относится к радикалу формулы -N(C₁₋₈алкиларил)₂.

Используемый в настоящем документе термин "(арил-C₁₋₈алкил)(C₁₋₈алкил)амино" относится к радикалу формулы -N(C₁₋₈алкил)(C₁₋₈алкиларил).

Используемый в настоящем документе термин "арил-C₁₋₈алкиламино-C₁₋₈алкил" относится к радикалу формулы -C₁₋₈алкил-NH-C₁₋₃алкиларил.

Используемый в настоящем документе термин "(арил-C₁₋₈алкил)₂-амино-C₁₋₈алкил" относится к радикалу формулы -C₁₋₈алкил-N(C₁₋₈алкиларил)₂.

Используемый в настоящем документе термин "(арил-C₁₋₈алкил)(C₁₋₈алкил)амино-C₁₋₈алкил" относится к радикалу формулы -C₁₋₈алкил-N(C₁₋₈алкил)(C₁₋₈алкиларил).

Используемый в настоящем документе термин "ариламино" относится к радикалу формулы -NH-арил.

Используемый в настоящем документе термин "ариламинокарбонил" относится к радикалу формулы -C(O)-NH-арил.

Используемый в настоящем документе термин "арилсульфонилокси-C₁₋₈алкил" относится к радикалу формулы -C₁₋₈алкил-O-SO₂-арил.

Используемый в настоящем документе термин "бензоксикарбонил" относится к радикалу формулы -C(O)-O-CH₂-фенил.

Используемый в настоящем документе термин "C₃₋₁₄циклоалкил-C₁₋₈алкил" относится к радикалу формулы -C₁₋₈алкил-C₃₋₁₄циклоалкил.

Используемый в настоящем документе термин "C₃₋₁₄циклоалкиламино" относится к радикалу формулы -NH-C₃₋₁₄циклоалкил.

Используемый в настоящем документе термин "C₃₋₁₄циклоалкилокси" относится к радикалу формулы -O-C₃₋₁₄циклоалкил.

Используемый в настоящем документе термин "гало" или "галоген" в общем случае относится к радикалу атома галогена, включающего фтор, хлор, бром и йод.

Используемый в настоящем документе термин "галоген-C₁₋₈алкокси" относится к радикалу формулы -O-C₁₋₈алкилгалоген, где C₁₋₈алкил является частично или полностью замещенным одним или несколькими атомами галогена, где это позволяют доступные валентности.

Используемый в настоящем документе термин "галоген-C₁₋₈алкил" относится к радикалу формулы -C₁₋₈алкилгалоген, где C₁₋₈алкил является частично или полностью замещенным одним или несколькими атомами галогена, где это позволяют доступные валентности.

Используемый в настоящем документе термин "гетероарил-C₁₋₈алкокси" относится к радикалу формулы -O-C₁₋₈алкилгетероарил.

Используемый в настоящем документе термин "гетероарил-C₁₋₈алкил" относится к радикалу формулы -C₁₋₈алкилгетероарил.

Используемый в настоящем документе термин "гидроксид" относится к радикалу формулы -OH.

Используемый в настоящем документе термин "гидроксид-C₁₋₈алкил" относится к радикалу формулы -C₁₋₈алкил-OH, где C₁₋₈алкил является частично или полностью замещенным одним или несколькими гидроксидрадикалами, где это позволяют доступные валентности.

Используемый в настоящем документе термин "заместитель" означает позиционные переменные при атомах основной молекулы, которые присоединены к атому в указанном положении, заменяя один или несколько атомов водорода указанным атомом, при условии, что валентность атома присоединения не превышает доступную валентность или общие валентности, так что замещение приводит к стабильному соединению. Следовательно, комбинации заместителей и/или переменных допустимы, только если такие комбинации приводят к стабильным соединениям. Также следует отметить, что любой описанный или представленный в настоящем документе атом углерода, а также гетероатом, с валентностью, которая предполагает ненасыщенность, считается обладающим числом атомов углерода, достаточным для насыщения описанных или представленных валентностей.

В целях настоящего описания, если одна или несколько замещающих переменных для соединения формулы (Pa1) охватывают функциональные группы, включенные в соединение формулы (Pa1), каждая функциональная группа, встречающаяся в любом положении в пределах раскрытого соединения, может быть независимо выбрана, и, соответствующим образом, независимо и/или необязательно замещена.

Используемые в настоящем документе термины "независимо выбранный" или "каждый выбранный" относятся к функциональным переменным в перечне заместителей, которые могут быть более чем единожды присоединены к структуре основной молекулы, где паттерн замещения в каждом случае не зависит от паттерна замещения в любом другом случае. Более того, считается, что использование родового заместителя при основной структуре для соединения, представленного в настоящем документе, включает замену родового заместителя разновидностями заместителей, которые находятся в пределах конкретного класса, т.е. арил может быть независимо заменен фенилом или нафталенилом (также называемым нафтилом) и т.п., так что подразумевается, что полученное соединение подпадает под объем соединений, описанных в настоящем документе.

Подразумевается, что используемый в настоящем документе термин "каждый" при использовании в выражении, таком как "...арил, арил-С₁₋₈алкил, гетероциклил и гетероциклил-С₁₋₈алкил, где каждый арил и гетероциклил необязательно замещен одним или двумя заместителями...", включает необязательное, независимое замещение на каждом из арильных и гетероциклических колец и на арильных и гетероциклических фрагментах арил-С₁₋₈алкила и гетероциклил-С₁₋₈алкила.

Используемый в настоящем документе термин "необязательно замещенный" означает, что конкретные замещающие переменные, группы, радикалы или фрагменты представляют собой объем класса и могут быть независимо выбраны при необходимости замены одного или нескольких атомов водорода на указанном атоме присоединения основной молекулы.

Используемые в настоящем документе термины "стабильное соединение" или "стабильная структура" означают соединение, которое является достаточно устойчивым для выделения его из реакционной смеси и содержащих его составов с приемлемой степенью чистоты с получением эффективного терапевтического средства.

Названия соединений, представленные в настоящем документе, получали с использованием программного обеспечения ACD Labs Index Name, предоставленного ACD Labs, и/или программного обеспечения ChemDraw Ultra, предоставленного CambridgeSoft®. Если название соединения, раскрытого в настоящем документе, противоречит представленной структуре, то представленная структура будет отменять использование названия для определения заданного соединения. Номенклатура замещающих радикалов, определенных в настоящем документе, может слегка отличаться от химического названия, от которого они происходят; специалисту в данной области техники будет понятно, что определение замещающего радикала предусматривает включение радикала, определяемого химическим названием.

Если в настоящем документе не указано иное, то термин "SMN" относится к гену, ДНК или РНК SMN2 человека. Согласно конкретному варианту осуществления, термин "SMN2" относится к гену, ДНК или РНК SMN2 человека.

Нуклеотидные последовательности для генов SMN2 человека известны из уровня техники.

Ген SMN2 может быть обнаружен на 5'-3' цепи хромосомы 5 человека приблизительно от нуклеотида 69,345,350 приблизительно до нуклеотида 69,374,349. Приблизительные расположения экзонов 6, 7 и 8 и интронов 6 и 7 SMN2 в хромосоме 5 человека являются следующими:

- от 69,366,468 до 69,366,578 - экзон 6;
- от 69,366,579 до 69,372,347 - интрон 6;
- от 69,372,348 до 69,372,401 - экзон 7;
- от 69,372,402 до 69,372,845 - интрон 7 и
- от 69,372,846 до 69,373,419 - экзон 8.

Согласно другим конкретным вариантам осуществления, нуклеотидные последовательности экзонов 6, 7 и 8 и интронов 6 и 7 SMN2 в примерах, представленных в настоящем документе, используют в нуклеотидных мини-генных конструкциях SMN2, описанных в настоящем документе.

Если в настоящем документе не указано иное, то термин "Smn" или "белок Smn" относится к белку Smn человека, который содержит аминокислотные остатки, кодируемые экзонами 1-7 гена SMN1 и/или гена SMN2. Согласно конкретному варианту осуществления белок Smn является стабильным и функциональным *in vitro* и/или *in vivo* согласно оценке способами, известными специалисту в данной области

техники. Согласно другому конкретному варианту осуществления белок Smp представляет собой полно-размерный белок, кодируемый геном SMN2. Согласно другому конкретному варианту осуществления, белок Smp характеризуется аминокислотной последовательностью, обнаруживаемой в GenBank под учетными номерами NP_000335, AAC50473.1, AAA66242.1 или NP_059107.

Если в настоящем документе не указано иное, то используемый в настоящем документе термин "усиливает включение экзона 7 SMN2 в мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2" и аналогичные термины относятся к включению полной, интактной, неусеченной последовательности экзона 7 SMN2 в зрелую мРНК, которая согласно оценке способами, известными специалисту в данной области техники, транскрибируется *in vitro* и/или *in vivo* с гена SMN2 (т.е., приводит к продукции полноразмерной мРНК SMN2), так что согласно оценке способами, известными специалисту в данной области техники, геном SMN2 *in vitro* и/или *in vivo* продуцируются повышенные количества белка Smp; или так что согласно оценке способами, известными специалисту в данной области техники, геном SMN2 *in vitro* и/или *in vivo* усиливается экспрессия стабильного и функционального белка Smp; или так что согласно оценке способами, известными специалисту в данной области техники, *in vitro* и/или *in vivo* усиливается экспрессия слитого белка, кодируемого мини-геном; или так что геном SMN2 усиливается экспрессия белка Smp у нуждающегося в этом субъекта (например, в животной модели SMA или у субъекта-человека или пациента-человека с SMA).

Используемый в настоящем документе термин "существенное изменение" в контексте количества мРНК означает, что количество мРНК не изменяется на статистически значимую величину, например, значение *p* меньше значения, выбранного из 0,1, 0,05, 0,01, 0,005, 0,001, 0,0005, 0,0001, 0,00005 или 0,00001.

Используемые в настоящем документе термины "субъект" и "пациент" используются взаимозаменяемо и относятся к животному или любому живому организму, обладающему чувствительностью и способностью к произвольному движению и для существования которого требуется кислород и органическая пища.

Неограничивающие примеры включают представителей видов человека, лошадей, свиней, крупного рогатого скота, крыс, мышей, собак и кошек. Согласно некоторым вариантам осуществления субъект представляет собой млекопитающее или теплокровное позвоночное. Согласно определенным вариантам осуществления субъект представляет собой животное, отличное от человека. Согласно конкретным вариантам осуществления субъект представляет собой человека. Согласно одному конкретному варианту осуществления субъект представляет собой человека-пациента с SMA.

Используемый в настоящем документе термин "пожилой человек" относится к человеку в возрасте 65 лет или старше.

Используемый в настоящем документе термин "взрослый человек" относится к человеку в возрасте 18 лет или старше.

Используемый в настоящем документе термин "дети" относится к человеку в возрасте от 1 года до 18 лет.

Используемый в настоящем документе термин "младенец" относится к человеку в возрасте от новорожденного до 1 года.

Используемый в настоящем документе термин "начавший ходить ребенок" относится к человеку в возрасте от 1 года до 3 лет.

Формы соединений

Используемый в настоящем документе термин "форма" означает соединение формулы (I), выбранное из его свободной кислоты, свободного основания, фармацевтически приемлемой соли, стереоизомера.

Согласно определенным описанным в настоящем документе вариантам осуществления соединение формулы (IIa1) или его форму выделяют для использования.

Используемый в настоящем документе термин "выделенный" означает физическое состояние соединения формулы (IIa1) или его формы после выделения и/или очистки в результате синтеза (например, из реакционной смеси) или из натурального источника, или их сочетания, в соответствии со способом или способами выделения или очистки, описанными в настоящем документе или хорошо известными специалисту в данной области техники (например, хроматография, перекристаллизация и т.п.), с чистой, достаточной для охарактеризации посредством стандартных аналитических методик, описанных в настоящем документе или хорошо известных специалисту в данной области техники.

Используемый в настоящем документе термин "защищенный" означает, что функциональная группа на соединении формулы (IIa1) находится в форме, модифицированной для предупреждения нежелательных побочных реакций в защищенном сайте при осуществлении соединением взаимодействия. Подходящие защитные группы будут очевидны среднему специалисту в данной области техники, а также посредством ссылки на стандартные учебники, такие как, например, T.W. Greene et al, *Protective Groups in Organic Synthesis* (1991), Wiley, New York.

Соединения формулы (IIa1) могут образовывать соли, которые подлежат включению в объем настоящего документа. Если не указано иное, то в настоящем документе ссылки на соединение формулы

(Pa1) следует понимать как включающие ссылки на их соли. Используемый в настоящем документе термин "соль(и)" обозначает соли кислот, образованные с неорганическими и/или органическими кислотами, а также соли оснований, образованные с неорганическими и/или органическими основаниями. Кроме того, если соединение формулы (Pa1) содержит как фрагмент основания, такого как без ограничения пиридин или имидазол, так и фрагмент кислоты, такой как без ограничения карбоновая кислота, то могут образовываться цвиттерионы ("внутренние соли"), которые включены в рамки термина "соль(и)", используемого в настоящем документе.

Используемый в настоящем документе термин "фармацевтически приемлемая соль(и)" означает соли соединений, описанных в настоящем документе, которые безопасны и эффективны (т.е., нетоксичны, физиологически приемлемы) для применения на млекопитающих и обладают биологической активностью, хотя также применимы и другие соли. Соли соединений формулы (Pa1) могут быть образованы, например, путем осуществления взаимодействия соединения формулы (Pa1) с некоторым количеством кислоты или основания, например, с эквивалентным или стехиометрическим количеством, в некоторой среде, такой как среда, в которой соль выпадает в осадок, или в водной среде с последующей лиофилизацией.

Фармацевтически приемлемые соли включают одну или несколько солей кислых или основных групп, присутствующих в описанных в настоящем документе соединениях. Варианты осуществления кислотно-аддитивных солей включают без ограничения ацетат, диацетат, кислый фосфат, аскорбат, бензоат, бензолсульфонат, бисульфат, битартрат, борат, бутират, хлорид, цитрат, камфорат, камфорсульфонат, этансульфонат, формиат, fumarат, гентизинат, глюконат, глюкаронат, глутамат, гидробромид, гидрохлорид, дигидрохлорид, тригидрохлорид, гидройодид, изоникотинат, лактат, малеат, метансульфонат, нафталинсульфонат, нитрат, оксалат, памоат, пантотенат, фосфат, пропионат, сахарат, салицилат, сукцинат, сульфат, тартрат, тиоцианат, толуолсульфонат (также известный как тозилат), трифторацетат, соль трифторуксусной кислоты и т.п. Один или несколько вариантов осуществления кислотно-аддитивных солей включают хлорид, гидробромид, гидрохлорид, дигидрохлорид, тригидрохлорид, ацетат, диацетат, трифторацетат, соль трифторуксусной кислоты и т.п. Более конкретные варианты осуществления включают хлорид, гидробромид, гидрохлорид, дигидрохлорид, трифторацетат, соль трифторуксусной кислоты и т.п.

Кроме того, кислоты, которые в целом рассматриваются как подходящие для образования фармацевтически приемлемых солей из фармацевтических соединений-оснований, обсуждаются, например, в P. Stahl et al, Camille G. (eds.) Handbook of Pharmaceutical Salts. Properties, Selection and Use. (2002) Zurich: Wiley-VCH; S. Berge et al, Journal of Pharmaceutical Sciences (1977) 66(1) 1-19; P. Gould, International J. of Pharmaceutics (1986) 33, 201-217; Anderson et al, The Practice of Medicinal Chemistry (1996), Academic Press, New York; и в The Orange Book (см. веб-сайт для Food & Drug Administration, Washington, D.C.). Указанные раскрытия включены в настоящий документ посредством ссылки.

Подходящие основные соли включают без ограничения соли алюминия, аммония, кальция, лития, магния, калия, натрия, цинка и диэтанолamina. Определенные соединения, описанные в настоящем изобретении, также могут образовывать фармацевтически приемлемые соли с органическими основаниями (например, с органическими аминами), такими как без ограничения дициклогексиламины, трет-бутиламины и т.п., и с различными аминокислотами, такими как без ограничения аргинин, лизин и т.п. Основные азотсодержащие группы могут быть кватернизированы такими агентами, как низшие алкилгаллиды (например, метил-, этил- и бутилхлориды, бромиды и йодиды), диалкилсульфаты (например, диметил-, диэтил- и дибутилсульфаты), длинноцепочечные галлиды (например, децил-, лаурил- и стеарилхлориды, бромиды и йодиды), аралкилгаллиды (например, бензил- и фенэтилбромиды) и другие.

Подразумевается, что все такие соли кислот и соли оснований являются фармацевтически приемлемыми солями в рамках объема представленного в настоящем документе описания, и для целей, описанных в настоящем документе, все такие соли кислот и оснований рассматриваются как эквивалентные свободным формам соответствующих соединений.

Соединения формулы (Pa1) могут содержать центры асимметрии или хиральные центры, а потому могут существовать в различных стереоизомерных формах. В настоящее описание подлежат включению все стереоизомерные формы соединений формулы (Pa1), а также их смеси, включая рацемические смеси.

Описанные в настоящем документе соединения формулы (Pa1) могут содержать один или несколько хиральных центров, а потому могут существовать в виде рацемических смесей (R/S) или по существу чистых энантиомеров и диастереоизомеров. Соединения также могут существовать в виде по существу чистых (R) или (S) энантиомеров (если присутствует один хиральный центр). Согласно одному варианту осуществления, описанные в настоящем документе соединения формулы (I) представляют собой (S) изомеры, и могут существовать в виде энантиомерно чистых композиций, по существу содержащих только (S) изомер. Согласно другому варианту осуществления, описанные в настоящем документе соединения формулы (I) представляют собой (R) изомеры, и могут существовать в виде энантиомерно чистых композиций, по существу содержащих только (R) изомер. Специалисту в данной области техники следует осознавать, что при наличии более одного хирального центра, описанные в настоящем документе соединения формулы (I) также могут включать элементы, описываемые согласно рекомендациям по номенкла-

туре IUPAC как (R,R), (R,S), (S,R) или (S,S) изомер.

Используемый в настоящем документе термин "по существу чистый" относится к соединениям, состоящим по существу из одного изомера в количестве, большем или равном 90%, в количестве, большем или равном 92%, в количестве, большем или равном 95%, в количестве, большем или равном 98%, в количестве, большем или равном 99% или в количестве, большем или равном 100% одного изомера.

Согласно одному аспекту, соединение формулы (IIa1) представляет собой по существу чистый (S) энантиомер, присутствующий в количестве, большем или равном 90%, в количестве, большем или равном 92%, в количестве, большем или равном 95%, в количестве, большем или равном 98%, в количестве, большем или равном 99% или в количестве, большем или равном 100%.

Согласно одному аспекту, соединение формулы (IIa) представляет собой по существу чистый (R) энантиомер, присутствующий в количестве, большем или равном 90%, в количестве, большем или равном 92%, в количестве, большем или равном 95%, в количестве, большем или равном 98%, в количестве, большем или равном 99% или в количестве, большем или равном 100%.

Все стереоизомерные формы (например, геометрические изомеры, оптические изомеры, позиционные изомеры и т.п.) соединений согласно настоящему изобретению (включая соли, сольваты, сложные эфиры и пролекарства и их преобразованные пролекарства), которые могут существовать вследствие асимметричных атомов углерода при различных заместителях, включая энантиомерные формы (которые могут существовать даже в отсутствие асимметричных атомов углерода), ротамерные формы, атропоизомеры, диастереоизомерные формы и региоизомерные формы, рассматриваются в рамках объема описания, представленного в настоящем документе. Например, если соединение формулы (IIa1) содержит двойную связь или конденсированное кольцо, то и цис-, и транс-формы, а также смеси охватываются объемом описания, представленного в настоящем документе. Кроме того, например, все кето-енольные и имин-енаминовые таутомерные формы соединений включены в описание, представленное в настоящем документе. Отдельные стереоизомеры соединений формулы (IIa1), описанных в настоящем документе, могут, например, по существу не содержать других изомеров, или могут находиться в рацемической смеси, как описано выше.

Некоторые изотопно-обогащенные соединения (например, соединения, меченные H^3 и C^{14}), описанные в настоящем документе, применимы при анализе распределения соединения и/или субстрата в тканях. Особенно предпочтительными являются изотопы, меченные тритием (т.е., H^3) и углеродом-14 (т.е., C^{14}), вследствие простоты их получения и обнаружения. Кроме того, замещение более тяжелыми изотопами, такими как дейтерий (т.е., «обогащенными дейтерием»), может обеспечивать некоторые терапевтические преимущества, возникающие вследствие большей метаболической стабильности (например, увеличенный период полураспада *in vivo* или сниженные требования к дозировке), а потому в некоторых случаях оно может быть предпочтительным. Изотопно-обогащенные соединения формулы (IIa1), как правило, могут быть получены с использованием способов, известных специалистам в данной области техники, путем замещения соответствующим изотопно-обогащенным реагентом изотопно-необогащенного реагента.

Если соединения обогащены дейтерием, то соотношение дейтерий/водород при дейтерированных атомах молекулы существенно превышает соотношение дейтерий/водород, встречающееся в природе.

Описанный в настоящем документе вариант осуществления может включать соединение формулы (IIa1) и его формы, где атом углерода может содержать от 1 до 3 атомов водорода, которые необязательно заменены дейтерием.

Применения соединений

В настоящем документе представлены соединения формулы (IIa1) или их форма, которые усиливают включение экзона 7 SMN2 в мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2. С применением способов, описанных в настоящем документе (см. ниже раздел "Биологические примеры"), было показано, что такие соединения формулы (IIa1) или их форма усиливают включение экзона 7 SMN2 в мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2. Соответственно, соединения формулы (I) или их форма применимы в качестве усилителей включения экзона 7 SMN2 в мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2.

Согласно одному аспекту в настоящем документе представлены способы модулирования включения экзона 7 SMN2 в РНК, транскрибируемую с гена SMN2, включающие приведение клетки человека в контакт с соединением формулы (IIa1) или его формой. Согласно конкретному варианту осуществления, в настоящем документе представлены способы модулирования включения экзона 7 SMN2 в РНК, транскрибируемую с гена SMN2, включающие приведение клетки человека в контакт с соединением формулы (IIa1) или его формой, которые модулируют экспрессию мини-гена SMN2, описанного в настоящем документе, или в международной публикации № WO 2009/151546 или в публикации заявки на выдачу патента США № 2011/0086833, каждая из которых включена в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте. Согласно одному варианту осуществления, мини-ген представляет собой мини-ген, описанный в разделе "Примеры" международной публикации № WO 2009/151546 или в публикации заявки на выдачу патента США № 2011/0086833. Согласно другому варианту осуществления, мини-ген представляет собой мини-ген, описанный ниже в биологическом примере 1. Клетка человека может быть приведена в контакт с соединением формулы (I) или его формой *in vitro* и/или *in vivo*, например, в орга-

низме отличного от человека животного или в организме человека. Согласно конкретному варианту осуществления клетка человека взята из организма или находится в организме человека. Согласно другому конкретному варианту осуществления клетка человека взята из организма или находится в организме человека-пациента с SMA. Согласно другому конкретному варианту осуществления, клетка человека взята из организма или находится в организме человека-пациента с SMA, где SMA вызвана активационной мутацией или делецией в гене SMN1 в обеих хромосомах, что приводит к утрате функции гена SMN1. Согласно другому варианту осуществления, клетка человека представляет собой клетку из организма человека-пациента с SMA. Согласно определенным вариантам осуществления, клетка человека взята из линии клеток, такой как GM03813, GM00232, GM09677 и/или GM23240 (доступны от Coriell Institute). Согласно одному варианту осуществления, соединение представляет собой соединение формулы (I) или его форму.

Согласно конкретному варианту осуществления в настоящем документе представлен способ усиления включения экзона 7 SMN2 в мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2, включающий приведение клетки человека в контакт с соединением формулы (IIa1) или его формой. Согласно другому варианту осуществления в настоящем документе представлен способ усиления включения экзона 7 SMN2 в мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2, включающий приведение клетки человека в контакт с соединением формулы (IIa1) или его формой, которые усиливают экспрессию мини-гена SMN2, описанного в настоящем документе, или в международной публикации № WO 2009/151546 или в публикации заявки на выдачу патента США № 2011/0086833, каждая из которых включена в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте. Согласно одному варианту осуществления мини-ген представляет собой мини-ген, описанный в разделе "Примеры" международной публикации № WO 2009/151546 или в публикации заявки на выдачу патента США № 2011/0086833. Согласно другому варианту осуществления, мини-ген представляет собой мини-ген, описанный ниже в биологическом примере 1. Клетка человека может быть приведена в контакт с соединением формулы (IIa1) или его формой *in vitro* и/или *in vivo*, например, в организме отличного от человека животного или в организме человека. Согласно конкретному варианту осуществления, клетка человека взята из организма или находится в организме человека. Согласно другому конкретному варианту осуществления, клетка человека взята из организма или находится в организме человека-пациента с SMA. Согласно другому конкретному варианту осуществления, клетка человека взята из организма или находится в организме человека-пациента с SMA, где SMA вызвана активационной мутацией или делецией в гене SMN1 в обеих хромосомах, что приводит к утрате функции гена SMN1. Согласно другому варианту осуществления, клетка человека представляет собой клетку из организма человека-пациента с SMA. Согласно определенным вариантам осуществления, клетка человека взята из линии клеток, такой как GM03813, GM00232, GM09677, и/или GM23240 (доступны от Coriell Institute). Согласно одному варианту осуществления, соединение представляет собой соединение формулы (IIa1) или его форму.

Согласно другому аспекту, в настоящем документе представлен способ модулирования включения экзона 7 SMN2 в РНК, транскрибируемую с гена SMN2, включающий введение в модель SMA на отличном от человека животном соединения формулы (IIa1) или его формы. Согласно конкретному варианту осуществления, в настоящем документе представлен способ модулирования включения экзона 7 SMN2 в РНК, транскрибируемую с гена SMN2, включающий введение в модель SMA на отличном от человека животном соединения формулы (IIa1) или его формы, которые модулируют экспрессию SMN2 мини-гена, описанного в настоящем документе, или в международной публикации № WO2009/151546 или в публикации заявки на выдачу патента США № 2011/0086833, каждая из которых включена в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте. Согласно одному варианту осуществления мини-ген представляет собой мини-ген, описанный в разделе "Примеры" международной публикации № WO 2009/151546 или в публикации заявки на выдачу патента США № 2011/0086833. Согласно другому варианту осуществления мини-ген представляет собой мини-ген, описанный ниже в биологическом примере 1. Согласно конкретному варианту осуществления, соединение представляет собой соединение формулы (IIa1) или его форму.

Согласно конкретному варианту осуществления, в настоящем документе представлен способ усиления включения экзона 7 SMN2 в мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2, включающий введение в модель SMA на отличном от человека животном соединении формулы (IIa1) или его формы. Согласно другому конкретному варианту осуществления в настоящем документе представлен способ усиления включения экзона 7 SMN2 в мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2, включающий введение в модель SMA на отличном от человека животном соединении формулы (IIa1) или его формы, которые усиливают экспрессию мини-гена SMN2, описанного в настоящем документе, или в международной публикации № WO 2009/151546 или в публикации заявки на выдачу патента США № 2011/0086833, каждая из которых включена в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте. Согласно одному варианту осуществления мини-ген представляет собой мини-ген, описанный в разделе "Примеры" международной публикации № WO 2009/151546 или в публикации заявки на выдачу патента США № 2011/0086833. Согласно другому варианту осуществления мини-ген представляет собой мини-ген, описанный ниже в биологическом примере 1. Согласно конкретному варианту осуществления соедине-

ние представляет собой соединение формулы (I) или его форму.

Согласно другому аспекту, в настоящем документе представлен способ увеличения количества белка Smn, включающий приведение клетки человека в контакт с соединением формулы (IIa1) или его формой. Согласно конкретному варианту осуществления, в настоящем документе представлен способ увеличения количества белка Smn, включающий приведение клетки человека в контакт с соединением формулы (IIa1), которое усиливает включение экзона 7 SMN2 в мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2. Согласно другому конкретному варианту осуществления, в настоящем документе представлен способ увеличения количества белка Smn, включающий приведение клетки человека в контакт с соединением формулы (IIa1), которое усиливает включение экзона 7 SMN1 и/или SMN2 в мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2. Клетка человека может быть приведена в контакт с соединением формулы (IIa1) или его формой *in vitro* и/или *in vivo*, например, в организме отличного от человека животного или в организме человека. Согласно конкретному варианту осуществления, клетка человека взята из организма или находится в организме человека. Согласно другому конкретному варианту осуществления, клетка человека взята из организма или находится в организме человека-пациента с SMA. Согласно другому варианту осуществления, клетка человека представляет собой клетку из организма человека-пациента с SMA. Согласно определенным вариантам осуществления, клетка человека взята из линии клеток, такой как GM03813, GM00232, GM09677, и/или GM23240 (доступны от Coriell Institute). Согласно одному варианту осуществления, соединение представляет собой соединение формулы (IIa1) или его форму.

Согласно другому аспекту, в настоящем документе представлен способ увеличения количества белка Smn, включающий введение в модель SMA на отличном от человека животном соединения формулы (IIa1) или его формы. Согласно конкретному варианту осуществления, в настоящем документе представлен способ увеличения количества белка Smn, включающий введение в модель SMA на отличном от человека животном соединения формулы (IIa1), которое усиливает включение экзона 7 SMN2 в мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2, например, в клеточном или бесклеточном методе анализа, таком как описанные в ниже в разделе "Биологические примеры". Согласно другому конкретному варианту осуществления, в настоящем документе представлен способ увеличения количества белка Smn, включающий введение в модель SMA на отличном от человека животном соединения формулы (IIa1), которое усиливает включение экзона 7 SMN2 в мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2, например, в клеточном или бесклеточном методе анализа.

Согласно одному варианту осуществления, соединение формулы (IIa1) усиливает экспрессию мини-гена, описанного в настоящем документе, или в международной публикации № WO 2009/151546 или в публикации заявки на выдачу патента США № 2011/0086833, каждая из которых включена в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте. Согласно конкретному варианту осуществления, соединение формулы (IIa1) усиливает экспрессию мини-гена, описанного в разделе "Примеры" международной публикации № WO 2009/151546 или в публикации заявки на выдачу патента США № 2011/0086833. Согласно другому конкретному варианту осуществления, соединение формулы (IIa1) усиливает экспрессию мини-гена, описанного ниже в биологическом примере 1. Согласно одному варианту осуществления, соединение представляет собой соединение формулы (IIa1) или его форму.

Согласно одному варианту осуществления в настоящем документе представлено применение соединения формулы (IIa1) или его формы для получения лекарственного препарата, который усиливает включение экзона 7 SMN2 в мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2. Согласно другому варианту осуществления, в настоящем документе представлено применение соединения формулы (IIa1) или его формы для получения лекарственного препарата, который усиливает включение экзона 7 SMN2 в мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2, усиливая тем самым экспрессию белка Smn у нуждающегося в этом субъекта-человека. Согласно конкретному варианту осуществления, соединение формулы (IIa1) или его форма усиливают включение экзона 7 SMN2 в мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2 в описанном в настоящем документе методе анализа (см., например, ниже раздел "Биологические примеры"). Согласно конкретному варианту осуществления, соединение представляет собой соединение формулы (IIa1) или его форму.

Согласно другому аспекту в настоящем документе представлены способы усиления включения экзона 7 SMN2 в мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2, у нуждающегося в этом субъекта-человека, включающие введение субъекту-человеку эффективного количества соединения формулы (IIa1) или его формы. Согласно конкретному варианту осуществления, в настоящем документе представлен способ усиления включения экзона 7 SMN2 в мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2, у нуждающегося в этом субъекта-человека, включающий введение субъекту-человеку эффективного количества соединения формулы (IIa1) или его формы, которые усиливают включение экзона 7 SMN2 в мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2, как определено в описанном в настоящем документе методе анализа (см., например, ниже раздел "Биологические примеры"). Согласно конкретным вариантам осуществления эффективное количество соединения формулы (IIa1) или его формы вводят субъекту-человеку в фармацевтической композиции, содержащей фармацевтически приемлемый носитель, наполнитель или разбавитель. Согласно конкретному варианту осуществления соединения формулы (IIa1) или его форма усиливают включение экзона 7 SMN2 в мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2, в опи-

санном в настоящем документе методе анализа (см., например, ниже раздел "Биологические примеры"). Согласно конкретному варианту осуществления субъект-человек является пациентом-человеком с SMA. Согласно другому конкретному варианту осуществления субъект-человек является пациентом-человеком с SMA, где SMA вызвана активационной мутацией или делецией в гене SMN1 в обеих хромосомах, что приводит к утрате функции гена SMN1. Согласно одному варианту осуществления соединение представляет собой соединение формулы (IIa1) или его форму.

Согласно другому аспекту в настоящем документе представлен способ усиления включения экзона 7 SMN2 в мРНК, которая транскрибируется с генов SMN2, у нуждающегося в этом субъекта-человека, включающий введение субъекту-человеку эффективного количества соединения формулы (IIa1) или его формы. Согласно конкретному варианту осуществления, соединение формулы (IIa1) или его форма усиливают включение экзона 7 SMN1 в мРНК, которая транскрибируется с гена SMN1, в методе(ах) анализа, описанном(ых) в международной публикации № WO 2009/151546 или в публикации заявки на выдачу патента США № 2011/0086833 (см., например, в указанных публикациях в разделе "Примеры"), каждая из которых включена в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте. Согласно конкретным вариантам осуществления, эффективное количество соединения формулы (IIa1) или его формы вводят субъекту-человеку в фармацевтической композиции, содержащей фармацевтически приемлемый носитель, наполнитель или разбавитель. Согласно конкретному варианту осуществления субъект-человек является пациентом-человеком с SMA. Согласно другому конкретному варианту осуществления, субъект-человек является пациентом-человеком с SMA, где SMA вызвана активационной мутацией или делецией в гене SMN1 в обеих хромосомах, что приводит к утрате функции гена SMN1. Согласно одному варианту осуществления, соединение представляет собой соединение формулы (IIa1) или его форму.

Согласно другому варианту осуществления в настоящем документе представлено применение соединения формулы (IIa1) или его формы для получения лекарственного препарата, который усиливает экспрессию белка Smp у нуждающегося в этом субъекта-человека. Согласно конкретному варианту осуществления, соединение формулы (IIa1) или его форма усиливают включение экзона 7 SMN2 в мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2, как определено в описанном в настоящем документе методе анализа (см., например, ниже раздел "Биологические примеры"). Согласно другому варианту осуществления соединение формулы (IIa1) или его форма усиливают включение экзона 7 SMN2 в мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2, как определено в описанном в настоящем документе методе анализа (см., например, ниже раздел "Биологические примеры") или в международной публикации № WO 2009/151546 или в публикации заявки на выдачу патента США № 2011/0086833 (см., например, в указанных публикациях в разделе "Примеры"), каждая из которых включена в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте. Согласно конкретному варианту осуществления соединение представляет собой соединение формулы (IIa1) или его форму.

Согласно другому аспекту в настоящем документе представлены способы лечения спинальной мышечной атрофии (SMA), включающие введение субъекту эффективного количества соединения формулы (IIa1) или его формы. Согласно конкретному варианту осуществления, в настоящем документе представлен способ лечения SMA у нуждающегося в этом субъекта-человека, включающий введение субъекту эффективного количества соединения формулы (IIa1) или его формы. Согласно другому конкретному варианту осуществления в настоящем документе представлен способ лечения SMA у нуждающегося в этом субъекта-человека, включающие введение субъекту фармацевтической композиции, содержащей эффективное количество соединения формулы (IIa1) или его формы и фармацевтически приемлемый носитель, наполнитель или разбавитель. Согласно одному варианту осуществления соединение представляет собой соединение формулы (IIa1) или его форму.

Согласно другому варианту осуществления в настоящем документе представлен способ лечения SMA у нуждающегося в этом субъекта-человека, включающий введение субъекту эффективного количества соединения формулы (IIa1) или его формы, которые усиливают включение экзона 7 SMN2 в мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2.

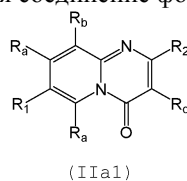
Согласно определенным вариантам осуществления лечение SMA соединением формулы (IIa1) или его формой оказывает терапевтический эффект и/или положительный эффект. Согласно конкретному варианту осуществления лечение SMA соединением формулы (IIa1) или его формой приводит к одному, двум или нескольким из следующих эффектов: (i) снижает или облегчает тяжесть SMA; (ii) задерживает начало SMA; (iii) ингибирует прогрессирование SMA; (iv) снижает число госпитализаций субъекта; (v) снижает продолжительность госпитализации субъекта; (vi) увеличивает выживаемость субъекта; (vii) улучшает качество жизни субъекта; (viii) снижает число симптомов, ассоциированных с SMA; (ix) снижает или облегчает интенсивность симптома(ов), ассоциированного(ых) с SMA; (x) снижает продолжительность симптома, ассоциированного с SMA; (xi) предотвращает возвращение симптома, ассоциированного с SMA; (xii) ингибирует развитие или начало симптома SMA и/или (xiii) ингибирует прогрессирование симптома, ассоциированного с SMA.

Симптомы SMA включают мышечную слабость, слабый мышечный тонус, слабый крик, слабый кашель, вялость или склонность к падениям, трудности с сосанием или глотанием, трудности с дыханием, накопление секрета в легких или горле, сжатые кулаки с потными руками, дрожание/вибрирование

языка; часто, склоненную на одну сторону голову, даже в положении лежа; ноги имеют тенденцию быть более слабыми, чем руки; ноги часто принимают положение «как у лягушки», трудности с кормлением, повышенная восприимчивость к инфекциям дыхательных путей, слабость кишечника/мочевого пузыря, вес ниже нормального значения, неспособность сидеть без посторонней помощи, неспособность ходить, неспособность ползать, гипотонус, арефлексия и множественные врожденные контрактуры (артрогри-поз), ассоциированные с гибелью клеток переднего рога спинного мозга.

Согласно конкретному варианту осуществления лечение SMA соединением формулы (IIa1) или его формой (отдельно или в сочетании с дополнительным средством) приводит к одному, двум или нескольким из следующих эффектов: (i) снижение потери мышечной силы; (ii) увеличение мышечной силы; (iii) снижение мышечной атрофии; (iv) снижение потери двигательной функции; (v) увеличение двигательных нейронов; (vi) снижение гибели двигательных нейронов; (vii) защита от дегенерации дефицитных по SMN двигательных нейронов; (ix) усиление двигательной функции; (x) усиление дыхательной функции; и/или (xi) снижение потери дыхательной функции.

Согласно одному варианту осуществления соединение формулы (IIa1)



или его свободная кислота, свободное основание, фармацевтически приемлемая соль и стереоизомер, где

R_1 представляет собой гетероцикл, выбранный из оксиранила, оксетанила, азетидинила, тетрагидрофуранила, пирролидинила, имидазолидинила, изоксазолидинила, изотиазолидинила, оксазолидинила, тиазолидинила, триазолидинила, оксадиазолидинила, тиадиазолидинила, тетразолидинила, пиранила, дигидро-2H-пиранила, тиопиранила, 1,3-диоксанила, 1,2,5,6-тетрагидропиридинила, 1,2,3,6-тетрагидропиридинила, пиперидинила, пиперазинила, морфолинила, тиоморфолинила, 1,4-дiazепанила, бензо[d][1,3]диоксолила, 1,4-бензодиоксанила, 2,3-дигидробензо[b][1,4]диоксинила, гексагидропирроло[3,4-b]пиррол-(1R)-ила, (3aS,6aS)-гексагидропирроло[3,4-b]пиррол-(1R)-ила, (3aR,6aR)-гексагидропирроло[3,4-b]пиррол-(1R)-ила, гексагидропирроло[3,4-b]пиррол-(2R)-ила, (3aS,6aS)-гексагидропирроло[3,4-b]пиррол-(2R)-ила, (3aR,6aR)-гексагидропирроло[3,4-b]пиррол-(2R)-ила, гексагидропирроло[3,4-c]пиррол-(1R)-ила, (3aR,6aR)-гексагидропирроло[3,4-c]пиррол-(1R)-ила, (3aR,6aR)-гексагидропирроло[3,4-c]пиррол-(1R)-ила, октагидро-5R-пирроло[3,2-c]пиридинила, октагидро-6R-пирроло[3,4-b]пиридинила, (4aR,7aR)-октагидро-6R-пирроло[3,4-b]пиридинила, (4aS,7aS)-октагидро-6R-пирроло[3,4-b]пиридинила, гексагидропирроло[1,2-a]пиазин-(1R)-ила, (7R,8aS)-гексагидропирроло[1,2-a]пиазин-(1R)-ила, (8aS)-гексагидропирроло[1,2-a]пиазин-(1R)-ила, (8aR)-гексагидропирроло[1,2-a]пиазин-(1R)-ила, (8aS)-октагидропирроло[1,2-a]пиазин-(1R)-ила, (8aR)-октагидропирроло[1,2-a]пиазин-(1R)-ила, гексагидропирроло[1,2-a]пиазин-(2R)-она, октагидро-2R-пирроло[1,2-a]пиазинила, 3-азабицикло[3.1.0]гексила, (1R,5S)-3-азабицикло[3.1.0]гексила, 8-азабицикло[3.2.1]октила, (1R,5S)-8-азабицикло[3.2.1]октила, 8-азабицикло[3.2.1]окт-2-енила, (1R,5S)-8-азабицикло[3.2.1]окт-2-енила, 9-азабицикло[3.3.1]нонила, (1R,5S)-9-азабицикло[3.3.1]нонила, 2,5-дизабицикло[2.2.1]гептила, (1S,4S)-2,5-дизабицикло[2.2.1]гептила, 2,5-дизабицикло[2.2.2]октила, 3,8-дизабицикло[3.2.1]октила, (1R,5S)-3,8-дизабицикло[3.2.1]октила, 1,4-дизабицикло[3.2.2]нонила, азаспиро[3.3]гептила, 2,6-дизаспиро[3.3]гептила, 2,7-дизаспиро[3.5]нонила, 5,8-дизаспиро[3.5]нонила, 2,7-дизаспиро[4.4]нонила или 6,9-дизаспиро[4.5]децила;

где R_1 необязательно замещен одним, двумя или тремя заместителями R_3 и необязательно одним дополнительным заместителем R_4 ; или

где R_1 необязательно замещен одним, двумя, тремя или четырьмя заместителями R_3 ;

R_2 представляет собой фенил;

где R_2 необязательно замещен одним, двумя или тремя заместителями R_6 и необязательно одним дополнительным заместителем R_7 ;

каждый R_a независимо выбирают из водорода, галогена или C_{1-8} алкила;

R_b представляет собой водород, галоген, C_{1-8} алкил или C_{1-8} алкокси;

R_c представляет собой водород, галоген или C_{1-8} алкил;

каждый R_3 независимо выбирают из циано, галогена, гидрокси, оксо, C_{1-8} алкила, галоген- C_{1-8} алкила, C_{1-8} алкилкарбонила, C_{1-8} алкокси, галоген- C_{1-8} алкокси, C_{1-8} алкокси- C_{1-8} алкила, C_{1-8} алкоксикарбонила, amino, C_{1-8} алкиламино, $(C_{1-8}алкил)_2$ -амино, amino- C_{1-8} алкила, C_{1-8} алкиламино- C_{1-8} алкила, $(C_{1-8}алкил)_2$ -амино- C_{1-8} алкила, amino- C_{1-8} алкиламино, C_{1-8} алкиламино- C_{1-8} алкиламино, $(C_{1-8}алкиламино-С_{1-8}алкил)_2$ -амино, $(C_{1-8}алкил)_2$ -амино- $C_{1-8}алкиламино$, $[(C_{1-8}алкил)_2$ -амино- $C_{1-8}алкил]_2$ -амино, $(C_{1-8}алкиламино-С_{1-8}алкил)(C_{1-8}алкил)амино$, $[(C_{1-8}алкил)_2$ -амино- $C_{1-8}алкил](C_{1-8}алкил)амино$, $C_{1-8}алкокси-С_{1-8}алкиламино$, $(C_{1-8}алкокси-С_{1-8}алкил)_2$ -амино, $(C_{1-8}алкокси-С_{1-8}алкил)(C_{1-8}алкил)амино$, $C_{1-8}алкилкарбониламино$, $C_{1-8}алкоксикарбониламино$, гидрокси- $C_{1-8}алкила$, гидрокси- $C_{1-8}алкокси-С_{1-8}алкила$, гидрокси- $C_{1-8}алкиламино$, $(гидрокси-С_{1-8}алкил)_2$ -

амино или (гидрокси- C_{1-8} алкил)(C_{1-8} алкил)амино;

R_4 представляет собой C_{3-14} циклоалкил, C_{3-14} циклоалкил- C_{1-8} алкил, C_{3-14} циклоалкиламино, арил- C_{1-8} алкил, арил- C_{1-8} алкоксикарбонил, арилсульфонилокси- C_{1-8} алкил, гетероциклил или гетероциклил- C_{1-8} алкил; где каждый C_{3-14} циклоалкил, арил и гетероциклил необязательно замещен одним, двумя или тремя заместителями R_5 ;

каждый R_5 независимо выбирают из галогена, гидрокси, циано, нитро, C_{1-8} алкила, галоген- C_{1-8} алкила, C_{1-8} алкокси, галоген- C_{1-8} алкокси, amino, C_{1-8} алкиламино, (C_{1-8} алкил) $_2$ -амино или C_{1-8} алкилтио;

каждый R_6 независимо выбирают из галогена, гидрокси, циано, нитро, C_{1-8} алкила, C_{2-8} алкенила, галоген- C_{1-8} алкила, гидрокси- C_{1-8} алкила, C_{1-8} алкокси, галоген- C_{1-8} алкокси, C_{1-8} алкокси- C_{1-8} алкила, amino, C_{1-8} алкиламино, (C_{1-8} алкил) $_2$ -амино или C_{1-8} алкилтио и

R_7 представляет собой C_{3-14} циклоалкил, C_{3-14} циклоалкилокси, арил, гетероциклил или гетероарил; где

арил представляет собой моноциклический, бициклический или полициклический 6-14-членный ароматический радикал карбоциклической структуры;

гетероарил представляет собой моноциклический, бициклический или полициклический ароматический радикал карбоциклической структуры, в котором один или несколько кольцевых атомов углерода заменены одним или несколькими гетероатомами, выбранными из атома O, S или N;

гетероциклил представляет собой насыщенный или частично ненасыщенный моноциклический, бициклический или полициклический ароматический радикал карбоциклической структуры, в котором один или несколько кольцевых атомов углерода заменены гетероатомом, выбранными из атома O, S или N.

Популяция пациентов

Согласно некоторым вариантам осуществления, соединение формулы (IIa1) или его форму вводят субъекту, страдающему SMA. Согласно другим вариантам осуществления, соединение формулы (IIa1) или его форму вводят субъекту с предрасположенностью к SMA или чувствительному к ней. Согласно конкретному варианту осуществления, соединение формулы (IIa1) или его форму вводят субъекту, который получит или может получить положительный эффект от усиления включения экзона 7 SMN2 в мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2. Согласно конкретным вариантам осуществления, соединение формулы (IIa1) или его форму вводят субъекту, который получит или может получить положительный эффект от усиления экспрессии белка Smn.

Согласно определенным вариантам осуществления соединение формулы (IIa1) или его форму вводят человеку в возрасте приблизительно от 0 приблизительно до 6 месяцев, приблизительно от 6 приблизительно до 12 месяцев, приблизительно от 6 приблизительно до 18 месяцев, приблизительно от 18 приблизительно до 36 месяцев, приблизительно от 1 года приблизительно до 5 лет, приблизительно от 5 приблизительно до 10 лет, приблизительно от 10 приблизительно до 15 лет, приблизительно от 15 приблизительно до 20 лет, приблизительно от 20 приблизительно до 25 лет, приблизительно от 25 приблизительно до 30 лет, приблизительно от 30 приблизительно до 35 лет, приблизительно от 35 приблизительно до 40 лет, приблизительно от 40 приблизительно до 45 лет, приблизительно от 45 приблизительно до 50 лет, приблизительно от 50 приблизительно до 55 лет, приблизительно от 55 приблизительно до 60 лет, приблизительно от 60 приблизительно до 65 лет, приблизительно от 65 приблизительно до 70 лет, приблизительно от 70 приблизительно до 75 лет, приблизительно от 75 приблизительно до 80 лет, приблизительно от 80 приблизительно до 85 лет, приблизительно от 85 приблизительно до 90 лет, приблизительно от 90 приблизительно до 95 лет, приблизительно от 95 приблизительно до 100 лет.

Согласно некоторым вариантам осуществления соединение формулы (IIa1) или его форму вводят младенцу. Согласно другим вариантам осуществления, соединение формулы (IIa1) или его форму вводят начавшему ходить ребенку. Согласно другим вариантам осуществления, соединение формулы (IIa1) или его форму вводят ребенку. Согласно другим вариантам осуществления, соединение формулы (IIa1) или его форму вводят взрослому человеку. Согласно еще другим вариантам осуществления,

соединение формулы (IIa1) или его форму вводят пожилому человеку.

Согласно некоторым вариантам осуществления, соединение формулы (IIa1) или его форму вводят пациенту для предотвращения начала SMA у пациента с риском развития SMA. Согласно другим вариантам осуществления эффективное количество соединения формулы (IIa1) или его формы вводят пациенту для предотвращения начала SMA у пациента с риском развития SMA. Согласно другим вариантам осуществления профилактически эффективное количество соединения формулы (IIa1) или его формы вводят пациенту для предотвращения начала SMA у пациента с риском развития SMA. Согласно другим вариантам осуществления терапевтически эффективное количество соединения формулы (IIa1) или его формы вводят пациенту для предотвращения начала SMA у пациента с риском развития SMA.

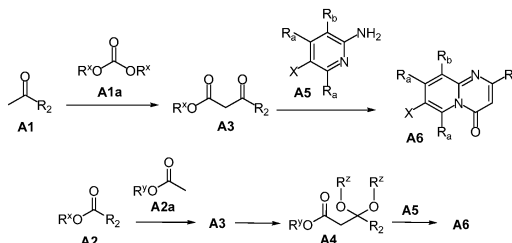
Раскрытые в настоящем документе общие способы получения соединений формулы (IIa1) или их форм, описанных в настоящем документе, доступны посредством стандартной хорошо известной методологии синтеза. Многие из исходных веществ являются коммерчески доступными или, в случае недоступности, могут быть получены с использованием описанных ниже путей с использованием методик, известных специалистам в данной области техники. Представленные в настоящем документе схемы син-

теза включают несколько реакционных стадий, каждая из которых, как подразумевается, является самостоятельной и может быть проведена с или без любой(ых) предшествующей(их) или последующей(их) стадии(й). Другими словами, каждая из отдельных стадий реакций в схемах синтеза, приводимых в настоящем документе, рассматривается в отдельности.

Общие схемы синтеза

Схема А.

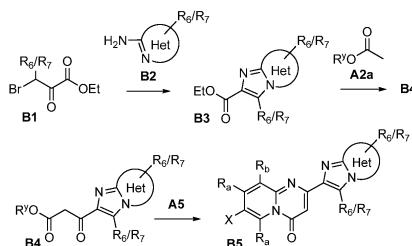
Соединения формулы (IIa1), где R_2 представляет собой моноциклическую или бициклическую арильную, гетероциклическую или гетероарильную кольцевую систему, могут быть получены, как представлено ниже на схеме А.



Метилкетоновое соединение A1 взаимодействует с диалкилкарбонатным соединением A1a (где R^x представляет собой C_{1-4} алкил и т.п.) в присутствии основания (такого как NaH и т.п.) в подходящем растворителе (таком как THF и т.п.) с получением соединения A3. В качестве альтернативы, сложноэфирное соединение A2 взаимодействует со сложноэфирным соединением уксусной кислоты A2a (где R^y представляет собой C_{1-4} алкил и т.п.) в присутствии основания (такого как LDA и т.п.) в подходящем растворителе (таком как THF и т.п.) с получением соединения A3. Соединение A3 далее взаимодействует в присутствии спирта (такого как MeOH и т.п.) и катализатора-кислоты (такого как p-TsOH и т.п.) с получением ацетального соединения A4 (где R^z представляет собой C_{1-4} алкил и т.п.). Соединение A3 или соединение A4 взаимодействует с соединением A5 (где X представляет собой различные реакционноспособные группы, которые могут быть использованы для получения множества функциональных групп-заместителей R_1 путем осуществления взаимодействия подходящих исходных веществ с соединением A5 или соединением A6 с использованием способов, известных среднему специалисту в данной области техники) в присутствии кислоты (такой как PPA, p-TsOH и т.п.) и подходящего растворителя (такого как DMA и т.п.) с получением соединения A6.

Схема В.

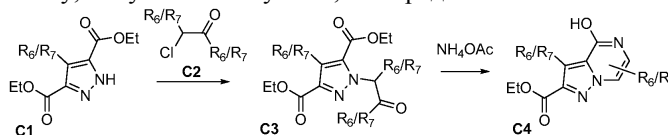
Соединения формулы (IIa1), где R_2 представляет собой моноциклическую или бициклическую гетероциклическую или гетероарильную кольцевую систему, могут быть получены, как представлено ниже на схеме В.

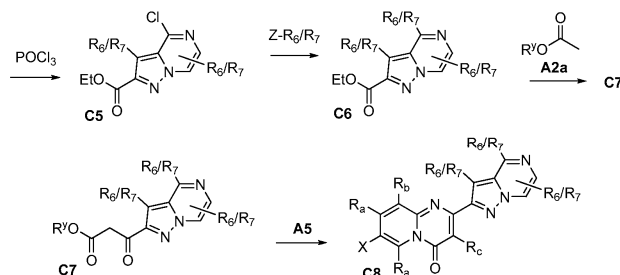


Соединение B1 взаимодействует с соединением B2, необязательно замещенной гетероциклической или гетероарильной кольцевой системой (где термин "Het" относится к амидиноподобному фрагменту, такому как без ограничения 2-аминопиридин, 2-аминопиримидин, 2-аминопиразин, 3-аминопиридазин, 2-аминотиазол, 4-аминотиазол, 4-аминопиримидин и т.п.), в подходящем растворителе (таком как MeOH и т.п.) с получением соединения B3. Соединение B3 взаимодействует со сложноэфирным соединением уксусной кислоты A2a (где R^y представляет собой C_{1-4} алкил и т.п.) в присутствии основания (такого как LDA и т.п.) в подходящем растворителе (таком как THF и т.п.) с получением соединения B4. Соединение B4 взаимодействует с соединением A5 в присутствии кислоты (такой как PPA, p-TsOH и т.п.) и подходящего растворителя (такого как DMA и т.п.) с получением соединения B5.

Схема С.

Соединения формулы (IIa1), где R_2 представляет собой моноциклическую или бициклическую гетероарильную кольцевую систему, могут быть получены, как представлено ниже на схеме С.

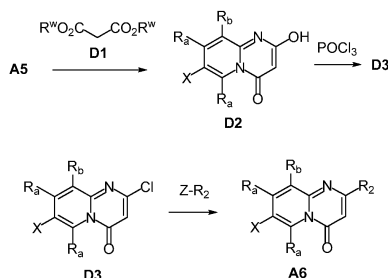




2,4-Диэфирпиразольное соединение C1 взаимодействует с α -хлоркетоновым соединением C2 в присутствии основания (такого как K_2CO_3 и т.п.) и подходящего растворителя (такого как ацетон и т.п.) с получением соединения C3. Соединение C3 обрабатывают ацетатом аммония в подходящем растворителе (таком как $AcOH$ и т.п.) с получением соединения C4. Соединение C4 обрабатывают хлорирующим реагентом (таким как $POCl_3$ и т.п.) с получением соединения C5. Соединение C5 взаимодействует с алкилбороновой кислотой (где Z представляет собой $B(OH)_2$, и R^z представляет собой C_{1-4} алкил и т.п.) или сложным эфиром алкилбороновой кислоты (где Z представляет собой $B_2(pin)_2$, также называемый бис(пинаколято)дифороном, и R^z представляет собой C_{1-4} алкил и т.п.) в присутствии катализатора (такого как $Pd(dppf)Cl_2$ и т.п.) и основания (такого как K_2CO_3 и т.п.) в подходящем растворителе (таком как DMF и т.п.) с проведением кросс-сочетания по Судзуки с получением соединения C6. Соединение C6 взаимодействует со сложноэфирным соединением уксусной кислоты A2a (где R^y представляет собой C_{1-4} алкил и т.п.) в присутствии основания (такого как LDA и т.п.) в подходящем растворителе (таком как THF и т.п.) с получением соединения C7. Соединение C7 взаимодействует с соединением A5 в присутствии кислоты (такой как p-TsOH, PPTs и т.п.) и подходящим растворителем с получением соединения C8.

Схема D.

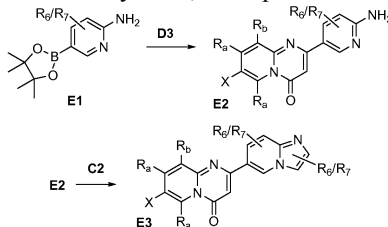
Соединения формулы (IIa1), где R_2 представляет собой моноциклическую или бициклическую арильную или гетероарильную кольцевую систему, могут быть получены, как представлено ниже на схеме D.



Соединение A5 взаимодействует со сложноэфирным малоновым соединением D1 (где R^w представляет собой C_{1-4} алкил, 2,4,6-трихлорфенил и т.п.) с получением соединения D2. Соединение D2 обрабатывают хлорирующим реагентом (таким как $POCl_3$ и т.п.) с получением соединения D3. Соединение D3 взаимодействует с R_2 -замещенной алкилбороновой кислотой (где Z представляет собой $B(OH)_2$) или сложным эфиром алкилбороновой кислоты (где Z представляет собой $B_2(pin)_2$), где R_2 представляет собой арил или гетероарил, в присутствии катализатора (такого как $Pd(dppf)Cl_2$ и т.п.) и основания (такой как K_2CO_3 и т.п.) в подходящем растворителе (таком как DMF и т.п.) с проведением кросс-сочетания по Судзуки с получением соединения A6.

Схема E.

Соединения формулы (IIa1), где R_2 представляет собой моноциклическую или бициклическую гетероарильную кольцевую систему, могут быть получены, как представлено ниже на схеме E.

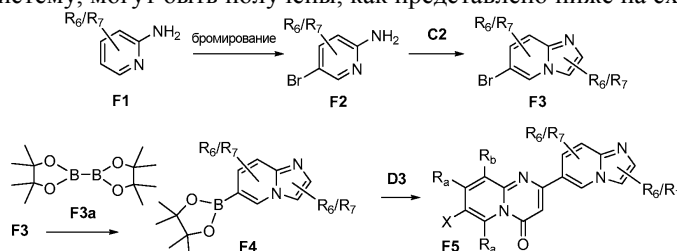


Соединение E1 взаимодействует с соединением D3 в присутствии катализатора (такого как $Pd(dppf)Cl_2$ и т.п.) и основания (такого как K_2CO_3 и т.п.) в подходящем растворителе (таком как DMF и т.п.) с проведением кросс-сочетания по Судзуки с получением соединения E2. Соединение E2 взаимодействует с соединением C2 в подходящем растворителе (таком как DMSO и т.п.) с получением соединения E3.

Схема F.

Соединения формулы (IIa1), где R_2 представляет собой моноциклическую или бициклическую гете-

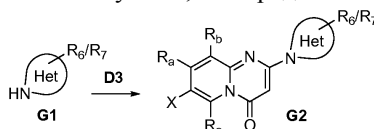
роарильную кольцевую систему, могут быть получены, как представлено ниже на схеме F.



Необязательно замещенное 2-аминопиридиновое соединение F1 взаимодействует с бромлирующим реагентом (таким как Br_2 и NBS и т.п.) с получением соединения F2. Соединение F2 взаимодействует с соединением C2 в подходящем растворителе (таком как DMSO и т.п.) с получением соединения F3. Соединение F3 взаимодействует с соединением F3a в присутствии катализатора (такого как Pd(dppf)Cl_2 и т.п.) и основания (такого как K_2CO_3 и т.п.) в подходящем растворителе (таком как ацетонитрил и т.п.) с получением соединения F4. Соединение F4 взаимодействует с соединением D3 в присутствии катализатора (такого как Pd(dppf)Cl_2 и т.п.) и основания (такого как K_2CO_3 и т.п.) в подходящем растворителе (таком как DMF и т.п.) с проведением кросс-сочетания по Судзуки с получением соединения F5.

Схема G.

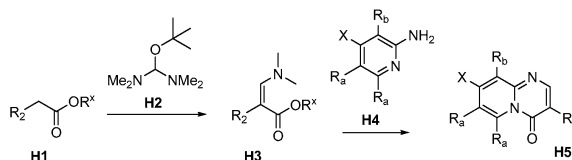
Соединения формулы (IIa1), где R_2 представляет собой моноциклическую или бициклическую гетероарильную кольцевую систему, могут быть получены, как представлено ниже на схеме G.



Необязательно замещенное азольное соединение G1 (где термин "Het" относится к азольной кольцевой системе, необязательно дополнительно содержащей один, два или три дополнительных кольцевых атома азота, где это допустимо с точки зрения валентности) взаимодействует с соединением D3 в подходящем растворителе (таком как DMSO и т.п.) с получением соединения G2.

Схема H.

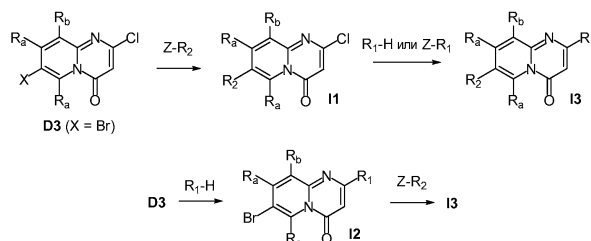
Соединения формулы (IIa1), где R_2 представляет собой моноциклическую или бициклическую арильную, гетероциклическую или гетероарильную кольцевую систему, могут быть получены, как представлено ниже на схеме H.



Соединение H1 (где R_2 представляет собой моноциклическую или бициклическую арильную, гетероциклическую или гетероарильную кольцевую систему) взаимодействует с реагентом Бредерика, соединением H2 (или DMF-DMA и т.п.), с образованием соединения H3. Соединение H3 взаимодействует с соединением H4 (где X представляет собой различные реакционноспособные группы, которые могут быть использованы для получения множества функциональных групп-заместителей R_1 путем осуществления взаимодействия подходящих исходных веществ с соединением H4 или соединением H5 с использованием методик, известных среднему специалисту в данной области техники) с получением соединения H5.

Схема I.

Соединения формулы (IIa1), где R_2 представляет собой моноциклическую или бициклическую арильную или гетероарильную кольцевую систему, могут быть получены, как представлено ниже на схеме I.



Соединение D3 (где X представляет собой бром и т.п.) взаимодействует с R_2 -замещенной алкилбороновой кислотой (где Z представляет собой B(OH)_2) или сложным эфиром алкилбороновой кислоты (где Z представляет собой $\text{B}_2(\text{pin})_2$), где R_2 представляет собой моноциклическую или бициклическую арильную или гетероарильную кольцевую систему и т.п., в присутствии катализатора (такого как

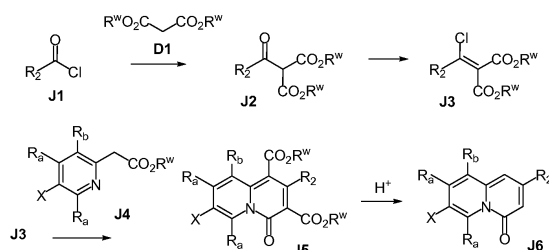
Pd(dppf)Cl_2 и т.п.) и основания (такого как K_2CO_3 и т.п.) в подходящем растворителе (таком как DMF и т.п.) с проведением кросс-сочетания по Судзуки с получением соединения II. Соединение II взаимодействует с $\text{R}_1\text{-H}$ (где R_1 содержит нуклеофильную amino или гидроксильную группу и т.п.) в подходящем растворителе (таком как DMSO и т.п.) с получением соединения 13.

Соединение II также может взаимодействовать с R_1 -замещенной алкилбороновой кислотой (где Z представляет собой B(OH)_2) или сложным эфиром алкилбороновой кислоты (где Z представляет собой $\text{B}_2(\text{pin})_2$) в присутствии палладиевого катализатора (такого как Pd(dppf)Cl_2 и т.п.) и основания (такого как K_2CO_3 и т.п.) в подходящем растворителе (таком как DMF и т.п.) с проведением сочетания по Судзуки с получением соединения 13.

В качестве альтернативы, соединение D3 (где X представляет собой бром и т.п.) может взаимодействовать с $\text{R}_1\text{-H}$ (где R_1 содержит нуклеофильную amino или гидроксильную группу и т.п.) в подходящем растворителе (таком как DMSO и т.п.) с получением соединения 12. Соединение 12 взаимодействует с R_2 -замещенной алкилбороновой кислотой (где Z представляет собой B(OH)_2) или сложным эфиром алкилбороновой кислоты (где Z представляет собой $\text{B}_2(\text{pin})_2$) в присутствии катализатора (такого как Pd(dppf)Cl_2 и т.п.) и основания (такого как K_2CO_3 и т.п.) в подходящем растворителе (таком как DMF и т.п.) с проведением кросс-сочетания по Судзуки с получением соединения 13.

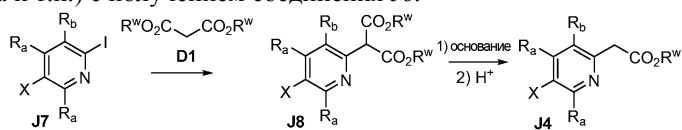
Схема J.

Соединения формулы (IIa1), где R_2 представляет собой моноциклическую или бициклическую арильную, гетероциклическую или гетероарильную кольцевую систему, могут быть получены, как представлено ниже на схеме J.



Соединение J1 (где R_2 представляет собой моноциклическую или бициклическую арильную, гетероциклическую или гетероарильную кольцевую систему) взаимодействует со сложноэфирным малоновым соединением D1 в присутствии основания (такого как TEA или DIEA и т.п.), кислоты Льюиса (такой как MgCl_2 и т.п.) и подходящего растворителя (такого как ACN и т.п.) с получением соединения J2. Соединение J2 обрабатывают хлорирующим реагентом (таким как POCl_3 и т.п.) в присутствии основания (такого как основание Хунига и т.п.) с получением соединения J3.

Соединение J3 взаимодействует с соединением J4 (где X представляет собой различные реакционноспособные группы, которые могут быть использованы для получения множества функциональных групп-заместителей R_1 путем осуществления взаимодействия подходящих исходных веществ с соединением J4, соединением J5 или соединением J6 с использованием методик, известных среднему специалисту в данной области техники) в присутствии основания (такого как NaH и т.п.) и подходящего растворителя (такого как DMF и т.п.) с получением соединения J5. Сложноэфирные группы соединения J5 могут быть гидролизированы и декарбоксилированы в кислых условиях (таких как TFA и т.п.) в подходящем растворителе (таком как вода и т.п.) с получением соединения J6.



Соединение J7 (где X представляет собой различные реакционноспособные группы, которые могут быть использованы для получения множества функциональных групп-заместителей R_1 путем осуществления взаимодействия подходящих исходных веществ с соединением J7, соединением J8 или соединением J4 с использованием методик, известных среднему специалисту в данной области техники) взаимодействует со сложным диэфирным малоновым соединением D1 в присутствии основания (такого как Cs_2CO_3 и т.п.), катализатора-металла (такого как CuI и т.п.) и лиганда (такого как 2-никотиновая кислота и т.п.) в присутствии подходящего растворителя (такого как 1,4-диоксан и т.п.) с получением сложного диэфирного соединения J8. Сложноэфирные группы соединения J8 могут быть гидролизированы с использованием основания (такого как NaOH и т.п.) в подходящей системе растворителей (такой как MeOH и вода и т.п.), с последующим декарбоксилированием и подкислением добавлением кислоты (такой как HCl и т.п.) в подходящем растворителе (таком как вода и т.п.) с получением соединения J4.

Конкретные примеры синтеза

Для более детального описания и содействия в понимании, последующие неограничивающие примеры предложены с целью более полной иллюстрации объема соединений, описанных в настоящем документе, и не должны истолковываться как прямо ограничивающие их объем. Варианты соединений,

описанных в настоящем документе, которые могут быть известны к настоящему времени или разработаны позднее, которые установлены как находящиеся в компетенции специалиста в данной области техники, считаются подпадающими под объем соединений, описанных в настоящем документе и заявленных в представленной ниже формуле изобретения. Указанные примеры иллюстрируют получение определенных соединений. Специалистам в данной области техники следует понимать, что описанные в указанных примерах методики представляют собой методики, описанные средними специалистами в данной области техники, которые хорошо работают в приктике синтеза, а потому представляют собой предпочтительные условия их практического осуществления. Однако следует учитывать, что специалисты в данной области техники должны в полной мере понимать, что в свете раскрытия настоящего изобретения в конкретно раскрытых способах могут быть осуществлены многие изменения с получением, тем не менее, похожего или того же самого результата без выхода рамки сущности и объема настоящего описания.

Если не указано обратное, что кроме как в последующих примерах представленных соединений, все использованные в описании и формуле изобретения числовые показатели, выражающие количества ингредиентов, условия проведения реакций, экспериментальные данные, и т.д., следует понимать с учетом применения термина "приблизительно". Соответственно, все такие числовые показатели представляют собой приблизительные значения, которые могут варьировать в зависимости от целевых свойств, которые стремятся получить в реакции, или в результате варьирующих условий проведения реакций. Поэтому, в рамках ожидаемого диапазона воспроизводимости проводимого эксперимента, термин "приблизительно" относится в контексте полученных данных к диапазону представленных данных, которые могут варьировать в соответствии со стандартным отклонением от среднего значения. Кроме того, применительно к представленным результатам экспериментов полученные данные могут быть округлены в большую или меньшую сторону для единообразного представления данных без ущерба для значащих цифр. Как самое меньшее, но не как попытка ограничить применение теории эквивалентов к объему формулы изобретения, каждый числовой параметр следует истолковывать в свете методик определения числа значимых цифр и округления, использованных специалистами в данной области техники.

Хотя числовые диапазоны и параметры, изложенные в широком понимании объема настоящего описания, представляют собой приблизительные значения, числовые значения, приведенные в представленных ниже примерах, приводятся настолько это возможно точно. Тем не менее, любое числовое значение изначально содержит определенные ошибки, являющиеся результатом непременно существующего стандартного отклонения, обнаруживаемого при их соответствующих опытных замерах.

Примеры соединений

Если не указано иное, то следует понимать, что следующие сокращения, использованные выше и на всем протяжении настоящего документа, характеризуются следующими значениями:

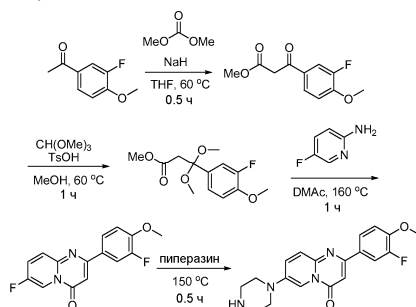
Сокращение	Значение
Δ	нагревание (химия) или деления (биология)
AcOH или HOAc	уксусная кислота
Ac ₂ O	уксусный ангидрид
Ar	аргон
ACN	ацетонитрил
BINAP	2,2'-бис(дифенилфосфино)-1,1'-бинафалин
B(OiPr) ₃	триизопропилборат
Boc	трет-бутоксикарбонил
Boc ₂ O	ди-трет-бутилдикарбонат
BuOH	н-бутанол
°C	градусы Цельсия
CDI	1,1-карбонилдиимидазол или N,N'-карбонилдиимидазол
(CHO) _n или (HCHO) _n	параформальдегид

сут/ч/мин/с	сутки (суток) / час (часов) / минута (минут) / секунда (секунд)
DavePhos	2-дициклогексилфосфино-2'- (N,N-диметиламино) бифенил
DCE	1,2-дихлорэтан
DCM	дихлорметан (CH ₂ Cl ₂)
DIAD	диизопропилазодикарбоксилат
DIEA или DIPEA	N,N-диизопропилэтиламин
DMA	диметилацетамид
DMAP	4- (диметиламино) пиридин
DME	1,2-диметоксиэтан
DMF	диметилформамид
DMSO	диметилсульфоксид
EDC или EDCI	N- (3-диметиламинопропил) -N'-этилкарбодиимида гидрохлорид
EtOAc	этилацетат
EtOH	этанол
Et ₂ O	диэтиловый эфир
HCON	формальдегид
iPrI	йодпропан
JohnPhos	(2-бифенил) -ди-трет-бутилфосфин
KOAc	ацетат калия
LAH	алюмогидрид лития
LC/MS, LCMS или LC-MS	жидкостная хроматография/масс-спектрометрия
LDA	диизопропиламин лития
LiHMDS или LHMDS	бис (триметилсилил) амид лития
MeOH	метанол
MeI	йодметан
Me-THF	2-метилтетрагидрофуран
Me ₂ Zn	диметилцинк
MnO ₂	диоксид марганца
MS	масс-спектрометрия
NaNH	гидрид натрия
NaHS	гидросульфид натрия

NaHMDS	бис (триметилсилил) амид натрия или гексаметилдисилазид натрия
NaI	йодид натрия
NaOAc	ацетат натрия
NaOMe	метоксид натрия
NBS	N-бромсукцинимид
NMP	N-метилпирролидон
ЯМР	ядерный магнитный резонанс
o/n	в течение ночи
Pd	палладий
Pd/C	палладированный уголь
Pd (dba) ₂	бис (добензилиденацетон) палладий
Pd ₂ (dba) ₃ или Pd ₂ dba ₃	трис (добензилиденацетон) дипалладий (0)
PdCl ₂ (PhCN) ₂	транс-бис (бензонитрил) дихлорпалладий (II)
PdCl ₂ (dppf) , PdCl ₂ dppf или Pd (dppf) Cl ₂	[1,1'-бис (дифенилфосфино) ферроцен] дихлорпалладий (II)
Pd (OAc) ₂	ацетат палладия (II)
Pd (PPh ₃) ₄ или Pd (Ph ₃ P) ₄	тетракис (трифенилфосфин) палладий (0)
Pd (PPh ₃) ₂ Cl ₂ , PdCl ₂ (PPh ₃) ₂ или PdCl ₂ (Ph ₃ P) ₂	дихлорид бис (трифенилфосфин) палладия (II)
PNBu ₃ BF ₄ или tBu ₃ PNBF ₄	тетрафторборат три-трет-бутилфосфония
PhI	йодбензол
PhI (OTFA) ₂	[бис (трифторацетокси) йод] бензол
PhMe	толуол
Ph-NTf ₂ или PhNTf ₂	N-фенилтрифлиимид, также называемый как N-фенил- бис (трифторметансульфонамид)
POCl ₃	фосфорилхлорид
PPh ₃	трифенилфосфин
PPA	полифосфорная кислота
PPTs	пара-толуолсульфонат пиридиния

Psi	давление в фунтах на квадратный дюйм
PyBOP	гексафторфосфат (бензотриазол-1-илокси) трипирролидинофосфония
к.т.	комнатная температура
S-Phos, SPhos или Sphos	2-дициклогексилфосфино-2', 6'-диметоксибифенил
T ₃ P	пропилфосфоновый ангидрид
TEA, Et ₃ N или NEt ₃	триэтиламин
Tf ₂ O	трифторметансульфоновый ангидрид
TFA	трифторуксусная кислота
THF	тетрагидрофуран
TLC	тонкослойная хроматография
TMS	триметилсилан
TMSCl	триметилхлорсилан или триметилсилилхлорид
TMSOK	триметилсианолят калия
t-Bu	трет-бутил
TsOH, p-TsOH или pTSA	тозилловая кислота или пара-толуолсульфоновая кислота
xantphos	4,5-бис(дифенилфосфино)-9,9-диметилксантен

Пример 1. Получение соединения 72



Стадия А:

3'-Фтор-4'-метоксиацетофенон (336 мг, 2 ммоль) растворяли в THF (4 мл). К раствору последовательно добавляли диметилкарбонат (0,42 мл, 5 ммоль) и гидрид натрия (200 мг, 5 ммоль, 60% дисперсия в минеральном масле). Смесь нагревали до 60°C в течение 30 мин. После охлаждения смеси до 0°C, оставшийся гидрид натрия гасили добавлением 1н водного HCl (20 мл). Смесь экстрагировали EtOAc (20 мл). Органический слой промывали солевым раствором, сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали. Остаток элюировали с силикагеля EtOAc (25%) в гексанах, с получением метил-3-(3-фтор-4-метоксифенил)-3-оксoproпаноата в виде бледно-желтого масла (405 мг, 89%). МС m/z 227,2 [M+H]⁺;

¹H ЯМР (CDCl₃, 500 МГц): δ 7,76 (1H, дд, J=8,6 Гц, 2,1 Гц), 7,72 (1H, дд, J=11,7 Гц, 2,2 Гц), 7,04 (1H, т, J=8,4 Гц), 3,99 (3H, с), 3,97 (2H, с), 3,78 (3H, с).

Стадия В:

Метил-3-(3-фтор-4-метоксифенил)-3-оксoproпаноат (405 мг, 1,8 ммоль) растворяли в метаноле (1 мл). К раствору добавляли моногидрат пара-толуолсульфоновой кислоты (17 мг, 0,09 ммоль), а затем триметилортоформиат (0,30 мл, 2,7 ммоль). Раствор перемешивали при 60°C в течение 1 ч. Летучие вещества удаляли под струей азота с получением неочищенного метил-3-(3-фтор-4-метоксифенил)-3,3-диметоксипропаноата.

¹H ЯМР (DMSO-d₆, 500 МГц): δ 7,18-7,15 (3H, м), 3,85 (3H, с), 3,38 (3H, с), 3,10 (6H, с), 2,98 (2H, с).

Стадия С:

К неочищенному веществу (1,8 ммоль), полученному на стадии В, добавляли 5-фторпиридин-2-амин (213 мг, 1,9 ммоль). Смесь нагревали неразбавленной до 160°C в течение 1 ч с получением 7-фтор-2-(3-фтор-4-метоксифенил)-4H-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (475 мг, 92%). МС m/z 289,2 [M+H]⁺;

¹H ЯМР (CDCl₃, 500 МГц): δ 8,99 (1H, м), 7,92 (1H, дд, J=12,5 Гц, 2,2 Гц), 7,90 (1H, д, 8,5 Гц), 7,88 (1H, м), 7,73 (1H, м), 7,10 (1H, т, J=8,5 Гц), 6,85 (1H, с), 3,99 (3H, с).

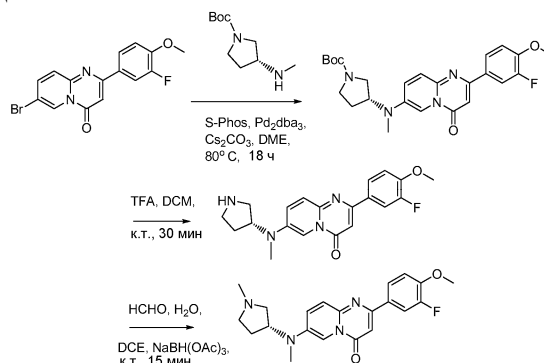
Стадия D:

7-Фтор-2-(3-фтор-4-метоксифенил)-4H-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он (200 мг, 0,7 ммоль) объединяли с пиперазином (430 мг, 3,5 ммоль) в диметилацетамиде (0,5 мл). Смесь перемешивали при 150°C в течение 0,5 ч, а затем подвергали хроматографии на силикагеле, элюируя 0% → 8% MeOH (3% NH₃) в CH₂Cl₂. Указанное в заголовке соединение получали в виде желтого порошка (175 мг, 71%). Т.пл. 191-195°C; МС m/z 355,0 [M+H]⁺;

¹H ЯМР (DMSO-d₆, 500 МГц): δ 8,20 (1H, д, J=2,7 Гц), 8,07-8,02 (3H, м), 7,67 (1H, д, J=9,7 Гц), 7,28 (1H, т, J=8,7 Гц), 6,93 (1H, с), 3,13 (4H, м), 2,90 (3H, с), 2,88 (4H, м), 2,34 (1H, шир.с).

Как представлено ниже в табл. 1, дополнительные соединения, раскрытые в настоящем документе, могут быть получены в соответствии с примером 1 путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции.

Пример 2. Получение соединения 239



Стадия А:

Смесь 7-бром-2-(3-фтор-4-метоксифенил)-4H-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (250 мг, 0,72 ммоль), (R)-трет-бутил-3-(метиламино)пирролидин-1-карбоксилата (180 мг, 0,90 ммоль), Pd₂dba₃ (61 мг, 0,065 ммоль), дициклогексил(2',6'-диметоксибифенил-2-ил)фосфина (SPhos, 78 мг, 0,19 ммоль), Cs₂CO₃ (500 мг, 1,53 ммоль) и 1,2-диметоксиэтана (DME, 2,0 мл) перемешивали в атмосфере аргона при 80°C в течение 18 ч. Реакционную смесь затем разбавляли CH₂Cl₂/MeOH (9/1) и фильтровали для удаления твердых веществ. Фильтрат концентрировали в условиях вакуума. Путем проведения хроматографии на силикагеле (10% → 20% ацетон в CH₂Cl₂) с последующей промывкой эфиром получали (R)-трет-бутил-3-((2-(3-фтор-4-метоксифенил)-4-оксо-4H-пиридо[1,2-а]пиримидин-7-ил)(метил)амино)пирролидин-1-карбоксилат (132 мг, 39%) в виде светло-рыжеватого твердого вещества. МС m/z 469,0 [M+H]⁺.

Стадия В:

Раствор (R)-трет-бутил-3-((2-(3-фтор-4-метоксифенил)-4-оксо-4H-пиридо[1,2-а]пиримидин-7-ил)(метил)амино)пирролидин-1-карбоксилата (130 мг, 0,28 ммоль) в CH₂Cl₂ (2,0 мл) и TFA (500 мкл) перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Смесь вливали в 1н раствор NaOH (50 мл). Продукт экстрагировали введением в CH₂Cl₂/EtOH (9/1). Органический слой концентрировали в условиях вакуума. Путем проведения хроматографии на силикагеле (CH₂Cl₂/MeOH/NH₄OH = 9/1/0,1) получали (R)-2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-(метил(пирролидин-3-ил)амино)-4H-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он (82 мг, 79%) в виде желтого твердого вещества. МС m/z 369,1 [M+H]⁺.

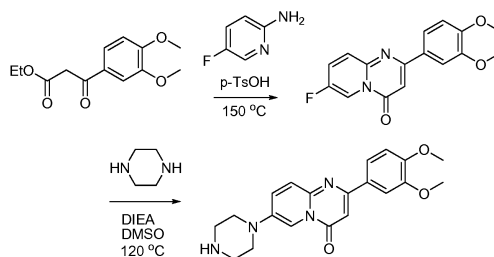
Стадия С:

Смесь (R)-2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-(метил(пирролидин-3-ил)амино)-4H-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (45 мг, 0,12 ммоль), DCE (500 мкл), формальдегида (37% мас./мас. в H₂O, 200 мкл) и NaBH(OAc)₃ (85 мг, 0,40 ммоль) перемешивали при комнатной температуре в течение 15 мин. Реакционную смесь добавляли к водному раствору K₂CO₃, и экстрагировали указанный в заголовке продукт введением в CH₂Cl₂. Органический слой концентрировали в условиях вакуума. Путем проведения хроматографии на силикагеле (10% MeOH в CH₂Cl₂) получали указанное в заголовке соединение (39 мг, 85%) в виде не совсем белого твердого вещества. Т.пл. 143-149°C; МС m/z 383,5 [M+H]⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆): δ 8,13 (д, 1H, J=3 Гц), 8,0-8,1 (м, 3H), 7,69 (д, 1H, J=10 Гц), 7,29 (т, 1H, J=9,0 Гц), 6,90 (с, 1H), 4,58 (м, 1H), 3,92 (с, 3H), 2,93 (3H, с), 2,81 (м, 1H), 2,75 (м, 1H), 2,49 (м, 1H, замаскированный DMSO-d₆), 2,20 (м, 2H), 2,28 (с, 3H), 1,76 (м, 1H).

Как представлено ниже в табл. 1, дополнительные соединения, раскрытые в настоящем документе, могут быть получены в соответствии с примером 2 путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции.

Пример 3. Получение соединения 6



Стадия А:

Смесь этил-3-(3,4-диметоксифенил)-3-оксопропаноата (2,02 г, 8,0 ммоль), 2-амино-5-фторпиридина

(0,897 г, 8,0 ммоль) и *p*-TsOH (152 мг, 0,8 ммоль) нагревали при 150°C. Смесь плавилась, а затем отверждалась. Спустя 1 ч смесь охлаждали до комнатной температуры и промывали MeCN с получением 2-(3,4-диметоксифенил)-7-фтор-4Н-пиридо[1,2-

а]пиримидин-4-она в виде желтого твердого вещества (1,356 г, 56%). МС m/z 367,5 $[M+H]^+$;

^1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6): δ 8,92 (1H, дд, $J=2,9$ Гц, 4,8 Гц), 8,11-8,07 (1H, м), 7,85-7,82 (1H, м), 7,77 (1H, д, $J=2,1$ Гц), 7,09 (1H, д, $J=8,6$ Гц), 7,06 (1H, с), 6,93 (1H, с), 3,88 (3H, с), 3,84 (3H, с).

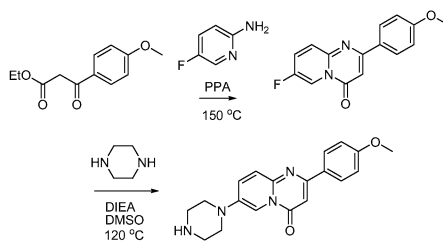
Стадия В:

Смесь 2-(3,4-диметоксифенил)-7-фтор-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (1,50 г, 5,0 ммоль), пиперазина (1,29 г, 15 ммоль) и DIEA (1,3 мл, 7,5 ммоль) в DMSO (10 мл) нагревали при 120°C. Спустя 15 ч, летучие вещества удаляли и промывали остаток MeCN с получением указанного в заголовке соединения в виде желтого твердого вещества (1,674 г, 91%). Т.пл. 182-184°C; МС m/z 367,5 $[M+H]^+$;

^1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6): δ 8,20 (1H, д, $J=2,7$ Гц), 8,04 (1H, дд, $J=2,8$ Гц, 9,8 Гц), 7,79 (1H, дд, $J=2,1$ Гц, 8,5 Гц), 7,74 (1H, д, $J=2,1$ Гц), 7,67 (1H, д, $J=9,7$ Гц), 7,07 (1H, д, $J=8,5$ Гц), 6,93 (1H, с), 3,87 (3H, с), 3,83 (3H, с), 3,12 (4H, м), 2,88 (4H, м).

Как представлено ниже в табл. 1, дополнительные соединения, раскрытые в настоящем документе, могут быть получены в соответствии с примером 3 путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции.

Пример 4. Получение соединения 1



Стадия А:

Смесь этил-3-(3-метоксифенил)-3-оксoproпаноата (2,68 мл, 14,0 ммоль) и 2-амино-5-фторпиридина (1,12 г, 10,0 ммоль) в PPA (~5 г) нагревали при 120°C. Спустя 0,5 ч темно-пурпурную смесь охлаждали до комнатной температуры и обрабатывали водой со льдом. Осадок фильтровали, промывали водой и MeCN с получением 2-(4-метоксифенил)-7-фтор-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она в виде слегка желтого твердого вещества (1,758 г, 65%). МС m/z 271,2 $[M+H]^+$.

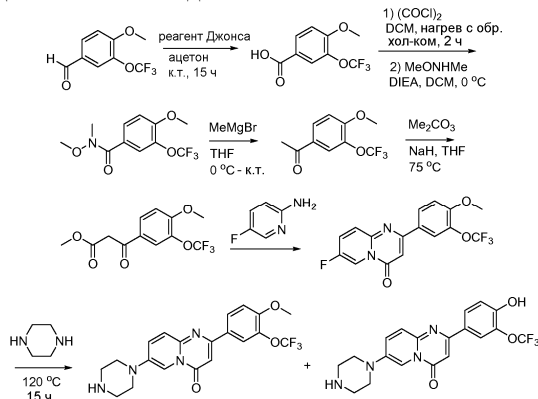
Стадия В:

Следуя методике, описанной в примере 3, стадия В, из 7-фтор-2-(4-метоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (81 мг, 0,3 ммоль) и пиперазина (12,9 мг, 1,5 ммоль) в DMSO (1 мл) получали указанное в заголовке соединения в виде желтого твердого вещества (66 мг, 66%). Т.пл. 182-184°C; МС m/z 337,3 $[M+H]^+$;

^1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6): δ 8,20 (1H, д, $J=2,6$ Гц), 8,16 (2H, дд, $J=2,0$ Гц, 7,0 Гц), 8,05 (1H, дд, $J=2,7$ Гц, 9,7 Гц), 7,67 (1H, д, $J=9,7$ Гц), 7,05 (2H, д, $J=1,9$ Гц, 7,0 Гц), 6,86 (1H, с), 3,83 (3H, с), 3,12 (4H, м), 2,87 (4H, м).

Как представлено ниже в табл. 1, дополнительные соединения, раскрытые в настоящем документе, могут быть получены в соответствии с примером 4 путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции.

Пример 5. Получение соединения 81 и соединения 82



Стадия А:

К раствору 4-метокси-3-(трифторметокси)бензальдегида (1,0 г, 4,5 ммоль) в ацетоне (30 мл) добавляли реагент Джонса (5 мл). После перемешивания при комнатной температуре в течение 15 ч добавляли метанол (2 мл) и фильтровали смесь. Фильтрат концентрировали, растворяли в EtOAc и промывали во-

дой. Органические фазы сушили и концентрировали с получением 4-метокси-3-(трифторметокси)бензойной кислоты в виде белого твердого вещества (1,02 г, 96%). МС m/z 235,2 $[M+H]^+$.

Стадия В:

К раствору 4-метокси-3-(трифторметокси)бензойной кислоты (1,02 г, 4,32 ммоль) в DCM (10 мл) добавляли оксалилхлорид (5 мл). После нагревания с обратным холодильником в течение 6 ч раствор концентрировали с получением 4-метокси-3-(трифторметокси)бензоилхлорида. Неочищенный хлорангидрид растворяли в DCM (10 мл) и охлаждали до 0°C. Добавляли диизопропилэтиламин (1,56 мл, 9,0 ммоль) и N,O-диметилгидроксиламин (0,658 г, 6,7 ммоль). После перемешивания при комнатной температуре в течение 2 ч смесь промывали водой. Органические фазы сушили, концентрировали и подвергали хроматографии (5% EtOAc в CH_2Cl_2) с получением 4-диметокси-N-метил-3-(трифторметокси)бензамид в виде янтарного масла (0,58 г, 48%).

Стадия С:

К раствору 4-диметокси-N-метил-3-(трифторметокси)бензамида (0,58 г, 2,08 ммоль) в THF (8 мл) при 0°C добавляли MeMgBr (3,0M, 0,83 мл, 2,5 ммоль). После перемешивания при комнатной температуре в течение 15 ч раствор промывали водой. Органические фазы сушили и концентрировали с получением 1-(4-метокси-3-(трифторметокси)фенил)этанона в виде белого твердого вещества (0,45 г, 96%).

Стадия D:

К раствору неочищенного 1-(2-фтор-4,5-диметоксифенил)этанона (0,45 г, 2,0 ммоль) и диметилкарбоната (1,5 мл, 18,2 ммоль) в THF (8 мл) при комнатной температуре добавляли NaN (60%, 0,44 г, 10,9 ммоль). После нагревания при 75°C в течение 20 мин смесь гасили добавлением NH_4Cl (нас.). Значение pH смеси корректировали до нейтральных значений добавлением 1N HCl. Смесь экстрагировали EtOAc. Органические фазы сушили и концентрировали с получением метил-3-(4-метокси-3-(трифторметокси)фенил)-3-оксопропаноата. МС m/z 299,1 $[M+H]^+$. Неочищенный продукт использовали непосредственно на следующей стадии.

Стадия E:

Раствор неочищенного метил-3-(4-метокси-3-(трифторметокси)фенил)-3-оксопропаноата (2 ммоль), полученного на стадии D, p-TsOH (38 мг, 0,2 ммоль) и триметоксиметана в MeOH (4 мл) нагревали при 60°C. Спустя 1 ч летучие вещества удаляли и добавляли 2-амино-5-фторпиридин (0,224 г, 2,0 ммоль). Смесь нагревали при 150°C в течение 1 ч охлаждали до комнатной температуры и промывали MeCN с получением 7-фтор-2-(4-метокси-3-(трифторметокси)фенил)-4H-пиридо[1,2-a]пиримидин-4-она (146 мг, 21%). МС m/z 355,1 $[M+H]^+$.

Стадия F:

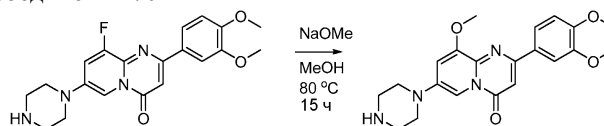
Смесь 7-фтор-2-(4-метокси-3-(трифторметокси)фенил)-4H-пиридо[1,2-a]пиримидин-4-она (71 мг, 0,2 ммоль), пиперазина (38 мг, 0,4 ммоль) и диизопропилэтиламина (69 мкл, 0,4 ммоль) в DMSO (0,5 мл) нагревали при 120°C. Спустя 15 ч летучие вещества удаляли и подвергали остаток хроматографии (20% MeOH в DCM) с получением двух продуктов:

Соединение 81 (8 мг, 9%) получали в виде желтого твердого вещества. Т.пл. 158-162°C; МС m/z 421,1 $[M+H]^+$; ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6): δ 8,26 (1H, д, J=2,6 Гц), 8,24 (1H, дд, J=2,2 Гц, 8,8 Гц), 8,19 (1H, м), 8,08 (1H, дд, J=2,8 Гц, 9,7 Гц), 7,75 (1H, д, J=9,7 Гц), 7,37 (1H, д, J=8,8 Гц), 6,99 (1H, с), 3,94 (3H, с), 3,07 (4H, м), 2,50 (4H, м, замаскированный DMSO- d_6); и

соединение 82 (9 мг, 11%) получали в виде желтого твердого вещества. Т.пл. 245-248°C; МС m/z 407,2 $[M+H]^+$; ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6): δ 8,21 (1H, д, J=2,7 Гц), 8,11 (1H, м), 8,07-8,03 (2H, м), 7,68 (1H, д, J=9,7 Гц), 7,11 (1H, д, J=8,6 Гц), 6,87 (1H, с), 3,14 (4H, м), 2,88 (4H, м).

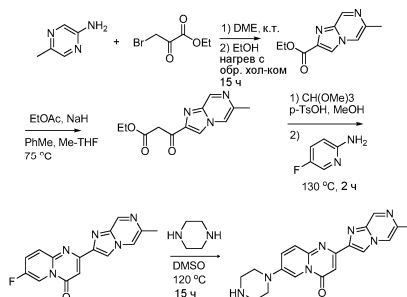
Как представлено ниже в табл. 1, дополнительные соединения, раскрытые в настоящем документе, могут быть получены в соответствии с примером 5 путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции.

Пример 6. Получение соединения 70



К суспензии 2-(3,4-диметоксифенил)-9-фтор-7-(пиперазин-1-ил)-4H-пиридо[1,2-a]пиримидин-4-она (38 мг, 0,1 ммоль, полученного в соответствии с методиками, описанными в примере 3, стадии А и В, в MeOH (0,5 мл) добавляли NaOMe (0,5M в MeOH, 1 мл, 0,5 ммоль). После нагревания при 80°C в течение 15 ч летучие вещества удаляли и подвергали остаток хроматографии (10-15% MeOH в CH_2Cl_2) с получением указанного в заголовке соединения в виде желтого твердого вещества (18 мг, 45%). Т.пл. 185-187°C; МС m/z 397,3 $[M+H]^+$; ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6): δ 8,20 (1H, д, J=2,5 Гц), 7,80 (2H, м), 7,08 (1H, д, J=9,0 Гц), 7,00 (1H, с), 6,97 (1H, д, J=2,5 Гц), 3,89 (3H, с), 3,87 (3H, с), 3,83 (3H, с), 3,30 (4H, м), 2,98 (4H, м).

Пример 7. Получение соединения 74



Стадия А:

К раствору 2-амино-5-метилпиридина (1,09 г, 10 ммоль) в DME (10 мл) добавляли этил-3-бром-2-оксoproпаноат (1,57 мл, 12,5 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 45 мин. Осадок фильтровали, промывали Et₂O и сушили с получением желтого твердого вещества. Твердое вещество суспендировали в EtOH (20 мл) и нагревали при 90 °C. Спустя 1,5 ч полученный коричневый раствор концентрировали и корректировали значение pH до 7. Смесь экстрагировали EtOAc. Органические фазы концентрировали, остаток растирали и промывали MeCN с получением этил-6-метилимидазо[1,2-а]пиазин-2-карбоксилата в виде коричневого твердого вещества (0,993 г, 48%). MC m/z 206,2 [M+H]⁺.

Стадия В:

К раствору этил-6-метилимидазо[1,2-а]пиазин-2-карбоксилата (0,971 г, 4,73 ммоль) и EtOAc (0,98 мл, 10 ммоль) в толуоле (2 мл) и Me-THF (8 мл) при комнатной температуре добавляли NaH (60%, 0,503 мг, 12,6 ммоль). После нагревания при 70 °C в течение 30 мин, смесь охлаждали до комнатной температуры, гасили добавлением льда, корректировали значение pH до 7 добавлением 1н HCl и экстрагировали EtOAc. Органические фазы объединяли, сушили, концентрировали и подвергали хроматографии с получением этил-3-(6-метилимидазо[1,2-а]пиазин-2-ил)-3-оксoproпаноата в виде коричневатого масла (0,93 г, 78%).

Стадия С:

Следуя методике, описанной в примере 1, стадия В, из этил-3-(6-метилимидазо[1,2-а]пиазин-2-ил)-3-оксoproпаноата (0,913 г, 3,7 ммоль), моногидрата пара-толуолсульфоновой кислоты (70 мг, 0,37 ммоль) и триметилортоформиата (0,81 мл, 7,4 ммоль) в MeOH (10 мл) получали кеталь, который использовали непосредственно на следующей стадии.

Стадия D:

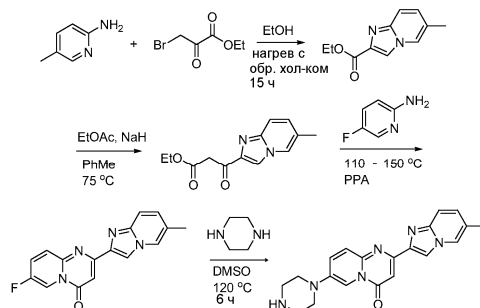
Следуя методике, описанной в примере 1, стадия С, из неочищенного диметоксипропаноата (полученного на стадии С) и 2-амино-5-фторпиридина (0,422 г, 3,7 ммоль) получали 7-фтор-2-(6-метилимидазо[1,2-а]пиазин-2-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он в виде коричневатого твердого вещества (0,344 г, 31%). MC m/z 295,9 [M+H]⁺; ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆): δ 9,09 (1H, с), 8,97-8,96 (1H, м), 8,67 (1H, с), 8,47 (1H, с), 8,15-8,11 (1H, м), 7,85-7,82 (1H, м), 7,08 (1H, с), 2,42 (3H, с).

Стадия Е:

Следуя методике, описанной в примере 3, стадия В, из 7-фтор-2-(6-метилимидазо[1,2-а]пиазин-2-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (59 мг, 0,2 ммоль) и пиперазина (52 мг, 0,6 ммоль) в DMSO (0,5 мл) получали указанное в заголовке соединения в виде желтого твердого вещества (28 мг, 39%). Т.пл. 221-225 °C; MC m/z 362,2 [M+H]⁺; ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆): δ 9,07 (1H, с), 8,62 (1H, с), 8,46 (1H, с), 8,25 (1H, д, J=2,6 Гц), 8,09 (1H, д, J=2,7 Гц, 9,7 Гц), 7,67 (1H, д, J=9,7 Гц), 7,00 (1H, с), 3,16 (4H, м), 2,90 (4H, м), 2,44 (3H, с).

Как представлено ниже в табл. 1, дополнительные соединения, раскрытые в настоящем документе, могут быть получены в соответствии с примером 7 путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции.

Пример 8. Получение соединения 29



Стадия А:

Следуя методике, описанной в примере 7, стадия А, из 2-амино-5-метилпиридина (5,41 г, 50 ммоль)

и этил-3-бром-2-оксопропаноата (7,0 мл, 50 ммоль) в MeOH (50 мл) получали этил-6-метилимидазо[1,2-а]пиридин-2-карбоксилат в виде желтоватого твердого вещества (9,50 г, 93%). МС m/z 205,1 [M+H]⁺.

Стадия В:

Следуя методике, описанной в примере 7, стадия В, из этил-6-метилимидазо[1,2-а]пиридин-2-карбоксилата (0,55 г, 2,5 ммоль), EtOAc (0,29 мл, 5,0 ммоль) и NaN (60%, 0,20 г, 5 ммоль) в толуоле (5 мл) получали этил-3-(6-метилимидазо[1,2-а]пиридин-2-ил)-3-оксопропаноат в виде желтого твердого вещества (0,62 г, 100%). МС m/z 243,1 [M+H]⁺.

Стадия С:

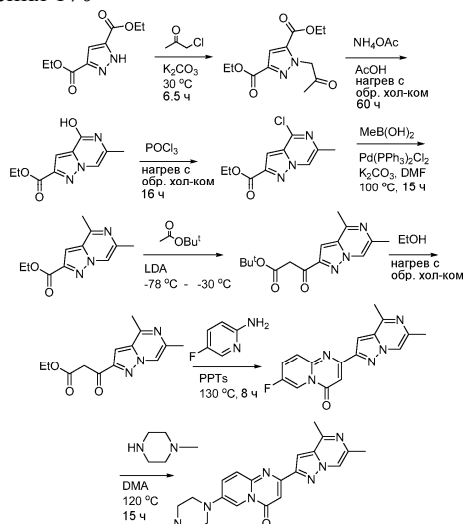
Следуя методике, описанной в примере 4, стадия А, из этил-3-(6-метилимидазо[1,2-а]пиридин-2-ил)-3-оксопропаноата (246 мг, 1,0 ммоль) и 2-амино-5-фторпиридина (334 мг, 1,2 ммоль) в PPA (~5 г) получали 7-фтор-2-(6-метилимидазо[1,2-а]пиридин-2-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он в виде желтого твердого вещества (17 мг, 6%). МС m/z 295,2 [M+H]⁺.

Стадия D:

Следуя методике, описанной в примере 3, стадия В, из 7-фтор-2-(6-метилимидазо[1,2-а]пиридин-2-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (17 мг, 0,06 ммоль) и пиперазина (30 мг, 0,3 ммоль) в DMSO (10 мл) получали указанное в заголовке соединение в виде светло-коричневого твердого вещества (19 мг, 83%). Т.пл. 193-198°C; МС m/z 361,3 [M+H]⁺;

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆): δ 8,48 (1H, c), 8,41 (1H, c), 8,25 (1H, д, J=2,6 Гц), 8,06 (1H, дд, J=2,7 Гц, 9,7 Гц), 7,66 (1H, д, J=9,7 Гц), 7,55 (1H, д, 9,3 Гц), 7,18 (1H, д, J=9,3 Гц), 6,96 (1H, c), 3,23 (4H, м), 3,01 (4H, м), 2,29 (3H, c).

Пример 9. Получение соединения 170



Стадия А:

К раствору диэтил-1Н-пиразол-3,5-дикарбоксилата (10,0 г, 47 ммоль) и хлорацетона (3,76 мл, 47 ммоль) в ацетоне (200 мл) добавляли карбонат калия (7,2 г, 52 ммоль). После нагревания при 30°C в течение 6 ч смесь концентрировали для удаления летучих веществ. Остаток переносили в EtOAc и промывали водой. Органические фазы сушили над MgSO₄ и концентрировали с получением диэтил-1-(2-оксопропил)-1Н-пиразол-3,5-дикарбоксилата в виде светло-коричневого твердого вещества, которое использовали непосредственно на следующей стадии. МС m/z 269,1 [M+H]⁺.

Стадия В:

К раствору диэтил-1-(2-оксопропил)-1Н-пиразол-3,5-дикарбоксилата (~47 ммоль) в уксусной кислоте (300 мл) добавляли ацетат аммония (72 г, 940 ммоль). После нагревания с обратным холодильником в течение 48 ч смесь концентрировали до минимального объема и разбавляли водой. Осадок фильтровали, промывали водой и MeCN с получением этил-4-гидрокси-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-карбоксилата в виде рыжеватого твердого вещества (6,7 г, 64%). МС m/z 222,1 [M+H]⁺.

Стадия С:

Смесь этил-4-гидрокси-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-карбоксилата (7,18 г, 32,5 ммоль) в POCl₃ (80 мл) нагревали с обратным холодильником в течение 15 ч. Темную смесь концентрировали и промывали MeCN с получением этил-4-хлор-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-карбоксилата (5,197 г) в виде не совсем белого твердого вещества. Фильтрат концентрировали и подвергали хроматографии с получением дополнительно 1,42 г продукта (6,617 г, 85%). МС m/z 240,1 [M+H]⁺, 242,1 [M+2H]⁺.

Стадия D:

Смесь этил-4-хлор-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-карбоксилата (5,197 г, 21,7 ммоль), MeB(OH)₂ (3,90 г, 65,1 ммоль), K₂CO₃ (14,8 г, 107,5 ммоль) и Pd(PPh₃)₂Cl₂ (456 мг, 0,65 ммоль) в DMF (100 мл) дегазировали и нагревали в атмосфере N₂ в течение 15 ч. Смесь концентрировали на ротационном испарителе с

удалением большей части DMF и промывали водой. Остаток подвергали хроматографии (2% → 5% MeOH в CH₂Cl₂) с получением этил-4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-карбоксилата в виде желтого твердого вещества (3,90 г, 82%). МС m/z 220,1 [M+H]⁺;

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆): δ 8,54 (1H, c), 7,49 (1H, c), 4,36 (2H, кв., J=7,2 Гц), 2,70 (3H, c), 2,42 (3H, c), 1,34 (3H, т, J=7,2 Гц).

Стадия Е:

К раствору трет-бутилацетата (1,63 мл, 12,1 ммоль) в THF (50 мл) при -78°C добавляли LDA (1,5M, 0,97 мл, 14,5 ммоль). Спустя 0,5 ч раствор при -30°C добавляли через канюлю к раствору этил-4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-карбоксилата (1,33 г, 6,07 ммоль) в THF (100 мл). Спустя 1 ч смесь гасили добавлением насыщенного NH₄Cl, значение pH корректировали до 5-6 и экстрагировали EtOAc. Объединенные органические фазы сушили и концентрировали. Остаток подвергали хроматографии (2% → 4% MeOH в CH₂Cl₂) с получением трет-бутил-3-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-3-оксопропаноата в виде желтого масла (1,696 г, 97%). МС m/z 290,2 [M+H]⁺;

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆): δ 8,57 (1H, c), 7,50 (1H, c), 4,02 (2H, c), 2,70 (3H, c), 2,43 (3H, c), 1,38 (9H, c).

Стадия F:

Раствор трет-бутил-3-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-3-оксопропаноата (4,86 г, 16,8 ммоль) в EtOH (30 ммоль) нагревали при 120°C в закрытой крышечкой пробирке. Спустя 1 ч раствор охлаждали до комнатной температуры, и удаляли летучие вещества с получением этил-3-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-3-оксопропаноата в виде желтого твердого вещества (4,44 г, 98%). МС m/z 262,2 [M+H]⁺.

Стадия G:

Смесь 2-амино-5-фторпиридина (134 мг, 1,2 ммоль), этил-3-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-3-оксопропаноата (261 мг, 1,0 ммоль) и PPTs (12,6 мг, 0,05 ммоль) нагревали при 130°C. Спустя 8 ч смесь охлаждали до комнатной температуры и подвергали хроматографии с получением 2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-фтор-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она в виде желтого твердого вещества (220 мг, 71%). МС m/z 310,2 [M+H]⁺;

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆): δ 8,97-8,95 (1H, м), 8,55 (1H, c), 8,16-8,12 (1H, м), 7,87-7,85 (1H, м), 7,56 (1H, c), 7,03 (1H, c), 2,73, (3H, c), 2,43 (3H, c).

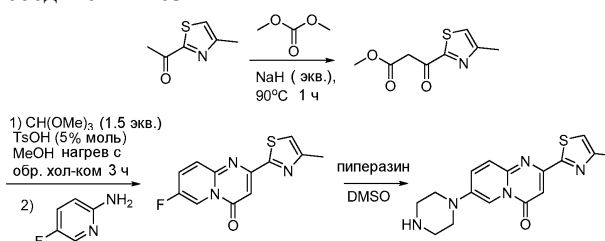
Стадия H:

Следуя методике, описанной в примере 3, стадия В, из 2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-фтор-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (309 мг, 1,0 ммоль) и пиперазина (1,1 мл, 10 ммоль) в DMA (1,0 мл), получали указанное в заголовке соединение в виде желтого твердого вещества (313 мг, 80%). Т.пл. 254-256°C;

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆): δ 8,55 (1H, c), 8,27 (1H, д, J=2,7 Гц), 8,12 (1H, дд, J=2,8 Гц, 9,7 Гц), 7,71 (1H, д, J=9,7 Гц), 7,54 (1H, c), 6,95 (1H, c), 3,25 (4H, м), 2,72 (3H, c), 2,51 (4H, м, замаскированный DMSO-d₆), 2,43 (3H, c), 2,25 (3H, c).

Как представлено ниже в табл. 1, дополнительные соединения, раскрытые в настоящем документе, могут быть получены в соответствии с примером 9 путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции.

Пример 10. Получение соединения 163



Стадия А: Следуя методике, описанной в примере 5, стадия Е, из 2-ацетил-4-метилтиазола (706 мг, 5 ммоль), диметилкарбоната (15 мл, 178 ммоль) и NaH (60% дисперсия в минеральном масле, 1,14 г, 28,5 ммоль) получали метил-3-(4-метилтиазол-2-ил)-3-оксопропаноат. Неочищенный продукт использовали непосредственно на следующей стадии. МС m/z 200,1 [M+H]⁺.

Стадия В:

Следуя методике, описанной в примере 1, стадия В, из 3-(4-метилтиазол-2-ил)-3-оксопропаноата (199 мг, 1,0 ммоль), триметилортоформиата (0,25 мл, 2,25 ммоль) и моногидрата толуолсульфоновой кислоты (14,3 мг, 0,075 ммоль) в MeOH (1,5 мл) получали диметоксипропаноат.

Стадия С:

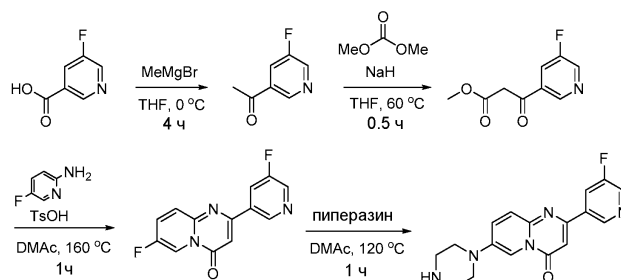
Следуя методике, описанной в примере 1, стадия С, из диметоксипропаноата, полученного на стадии В, и 2-амино-4-фторпиридина (201,8 мг, 1,8 ммоль) в DMA (1,5 мл) получали 7-фтор-2-(4-метилтиазол-2-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он (175,5 мг, 67%). МС m/z 262,1 [M+H]⁺.

Стадия D:

Следуя методике, описанной в примере 3, стадия В, из 7-фтор-2-(4-метилтиазол-2-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (52,2 мг, 0,2 ммоль) и пиперазина (86 мг, 1 ммоль) в DMSO (0,8 мл) получали указанное в заголовке соединения (20 мг, 30%). Т.пл. 142-147°C; МС m/z 328,2 [M+H]⁺; ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆): δ 8,27 (1H, дд, J=2,7 Гц, 18,6 Гц), 8,11-8,16 (1H, м), 7,73 (1H, т, J=9,2 Гц), 7,56 (1H, с), 6,88 (1H, д, J=3,2 Гц), 3,29-3,31 (2H, м), 3,16-3,18 (2H, м), 2,89-2,91 (2H, м), 2,67-2,69 (2H, м), 2,47 (3H, с).

Как представлено ниже в табл. 1, дополнительные соединения, раскрытые в настоящем документе, могут быть получены в соответствии с примером 10 путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции.

Пример 11. Получение соединения 92



Стадия А:

5-Фторникотиновую кислоту (1,0 г, 7,1 ммоль) растворяли в THF (10 мл) и охлаждали до 0°C. К раствору по каплям добавляли 1,4М раствор метилмагнийбромида в THF/толуоле (3/1) (11,2 мл, 15,6 ммоль). Раствор оставляли нагреваться до комнатной температуры. Раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 4 ч, после чего медленно добавляли 1н водный HCl (50 мл). Смесь распределяли между EtOAc (200 мл) и 1н водным NaOH (200 мл). Органический слой промывали солевым раствором, сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали. Остаток подвергали хроматографии на силикагеле, элюируя EtOAc (0% → 50%) в гексанах, с получением 1-(5-фторпиридин-3-ил) этанона в виде белого порошка (290 мг, 29%).

Стадия В:

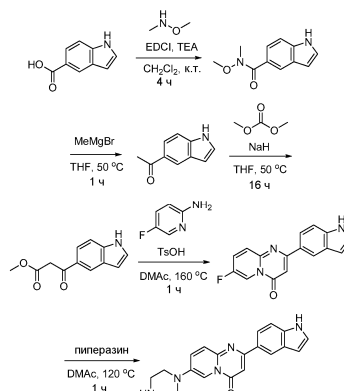
Следуя методике, описанной в примере 5, стадия D, из метилкетона, полученного на стадии А, диметилкарбоната (0,44 мл, 5,25 ммоль) и гидроксида натрия (210 мг, 60% дисперсия в минеральном масле, 5,25 ммоль) в THF (6 мл) получали метил-3-(5-фторпиридин-3-ил)-3-оксопропаноата в виде не совсем белого порошка (278 мг, 67%).

Стадия С:

Метил-3-(5-фторпиридин-3-ил)-3-оксопропаноат (138 мг, 0,7 ммоль) объединяли с 5-фторпиридин-2-амином (90 мг, 0,8 ммоль) и моногидратом толуолсульфоновой кислоты (6 мг, 0,03 ммоль) в диметилацетамиде (0,5 мл). Смесь нагревали до 160°C в течение 1 ч. Смесь охлаждали до 120°C, после чего добавляли пиперазин (300 мг, 3,5 ммоль). Смесь перемешивали при 120°C в течение 1 ч. Смесь наносили на силикагель в CH₂Cl₂ и элюировали 0% → 8% MeOH (3% NH₃) в CH₂Cl₂. Указанное в заголовке соединения получали в виде желтого порошка (37 мг, 16%). Т.пл. 201-208°C; МС m/z 326,2 [M+H]⁺; ¹H ЯМР (DMSO-d₆, 500 МГц): δ 9,25 (1H, с), 8,70 (1H, д, J=2,8 Гц), 8,42 (1H, д, J=10,2 Гц), 8,22 (1H, д, 2,7 Гц), 8,12 (1H, дд, J=9,8 Гц, 2,8 Гц), 7,74 (1H, д, J=9,7 Гц), 7,11 (1H, с), 3,16 (4H, м), 2,89 (4H, м), 2,37 (1H, шир.с).

Как представлено ниже в табл. 1, дополнительные соединения, раскрытые в настоящем документе, могут быть получены в соответствии с примером 11 путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции.

Пример 12. Получение соединения 98



Стадия А:

1Н-индол-5-карбоновую кислоту (1,0 г, 6,2 ммоль) объединяли с гидрохлоридом N,O-диметилгидроксиламина (907 мг, 9,3 ммоль), гидрохлоридом N-(3-диметиламинопропил)-N'-этилкарбодиимида (1,78 г, 9,3 ммоль) и N,N-диизопропилэтиламином (3,2 мл, 18,6 ммоль) в CH₂Cl₂ (12 мл). После перемешивания в течение 4 ч при комнатной температуре, смесь промывали водным HCl (1н, 20 мл). Органический слой сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Неочищенный продукт использовали непосредственно на следующей стадии.

Стадия В:

Неочищенный продукт, полученный на стадии А, растворяли в THF (20 мл). К раствору по каплям добавляли 1,4М раствор метилмагнийбромида (11,2 мл, 15,6 ммоль) в THF/толуоле (3/1). Раствор оставляли нагреваться до комнатной температуры. Раствор перемешивали при 50°C в течение 1 ч, после чего медленно добавляли 1н водный HCl (50 мл). Смесь распределяли между EtOAc (200 мл) и 1н водным NaOH (200 мл). Органический слой промывали солевым раствором, сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали. Остаток подвергали хроматографии на силикагеле, элюируя EtOAc (0% → 50%) в гексанах, с получением 1-(1Н-индол-5-ил)этанона в виде белого порошка (323 мг, 33%).

Стадия С:

Следуя методике, описанной в примере 5, стадия Е, из метилкетона, полученного на стадии В, диметилкарбоната (0,46 мл, 5,5 ммоль) и гидрида натрия (220 мг, 60% дисперсия в минеральном масле, 5,5 ммоль) в THF (6 мл) получали метил-3-(1Н-индол-5-ил)-3-оксопропаноат в виде не совсем белого порошка (120 мг, 27%). МС m/z 216,1 [M-H]⁻.

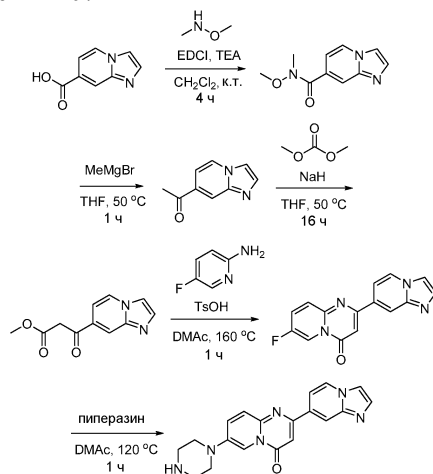
Стадия D:

Следуя методике, описанной в примере 11, стадия С, из метил-3-(1Н-индол-5-ил)-3-оксопропаноата (98 мг, 0,45 ммоль), 5-фторпиридин-2-амин (56 мг, 0,5 ммоль), моногидрата толуолсульфоновой кислоты (9 мг, 0,05 ммоль) и пиперазина (194 мг, 2,25 ммоль) в диметилацетамиде (0,5 мл) получали указанное в заголовке соединение в виде не совсем белого порошка (40 мг, 26%). Т.пл. 266-272°C. МС m/z 346,2 [M+H]⁺;

¹H ЯМР (DMSO-d₆, 500 МГц): δ 11,3 (1H, с), 8,46 (1H, с), 8,22 (1H, д, J=2,8 Гц), 8,04 (1H, дд, J=9,7 Гц, 2,8 Гц), 7,95 (1H, д, J=8,7 Гц), 7,69 (1H, д, J=9,7 Гц), 7,49 (1H, д, J=8,6 Гц), 7,42 (1H, т, J=2,7 Гц), 6,90 (1H, с), 6,57 (1H, м), 3,14 (4H, м), 2,89 (4H, м), 2,36 (1H, шир.с).

Как представлено ниже в табл. 1, дополнительные соединения, раскрытые в настоящем документе, могут быть получены в соответствии с примером 12 путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции.

Пример 13. Получение соединения 107



Стадия А:

Следуя методике, описанной в примере 12, стадия А, из имидазо[1,2-а]пиридин-7-карбоновой кислоты (1,0 г, 6,2 ммоль), гидрохлорида N,O-диметилгидроксиламина (907 мг, 9,3 ммоль), гидрохлорида N-(3-диметиламинопропил)-N'-этилкарбодиимида (1,78 г, 9,3 ммоль) и N,N-диизопропилэтиламина (3,2 мл, 18,6 ммоль) в CH₂Cl₂ (12 мл) получали N-метокси-N-метилимидазо[1,2-а]пиридин-7-карбоксамид (505 мг, 40%).

Стадия В:

Следуя методике, описанной в примере 12, стадия В, из продукта (505 мг, 2,5 ммоль), полученного на стадии А, метилмагнийбромида (3,6 ммоль) в THF (10 мл) получали 1-(имидазо[1,2-а]пиридин-7-ил)этанон (275 мг, 70%).

Стадия С:

Следуя методике, описанной в примере 5, стадия Е, из метилкетона (275 мг, 1,7 ммоль), полученного на стадии В, диметилкарбоната (0,35 мл, 4,25 ммоль) и гидрида натрия (170 мг, 60% дисперсия в ми-

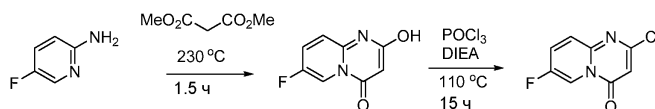
неральном масле, 4,25 ммоль) в THF (5 мл) получали метил-3-(имидазо[1,2-а]пиридин-7-ил)-3-оксопропаноат в виде не совсем белого порошка (215 мг, 58%).

Стадия D:

Следуя методике, описанной в примере 11, стадия C, из метил-3-(имидазо[1,2-а]пиридин-7-ил)-3-оксопропаноата (215 мг, 1,0 ммоль), 5-фторпиридин-2-амин (123 мг, 1,1 ммоль), моногидрата толуолсульфоновой кислоты (19 мг, 0,1 ммоль) и пиперазина (430 мг, 5 ммоль) в диметилацетамиде (1,0 мл) получали указанное в заголовке соединение в виде не совсем белого порошка (40 мг, 12%). Т.пл. 258-270°C; МС m/z 347,0 [M+H]⁺;

¹H ЯМР (DMSO-d₆, 500 МГц): δ 8,65 (1H, д, J=7,2 Гц), 8,46 (1H, с), 8,24 (1H, д, J=2,7 Гц), 8,11 (1H, дд, J=9,7 Гц, 2,7 Гц), 8,06 (1H, с), 7,75 (1H, д, J=9,7 Гц), 7,73 (1H, дд, J=7,2 Гц, 2,7 Гц), 7,71 (1H, с), 7,10 (1H, с), 3,16 (4H, м), 2,89 (4H, м), 2,34 (1H, шир.с).

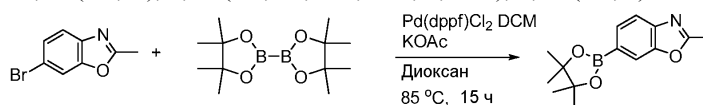
Пример 14. Получение соединения 171



Часть 1, стадия A: Смесь 2-амино-5-фторпиридина (11,20 г, 0,10 моль) и диметилмалонат (57,0 мл, 0,50 моль) нагревали при 230°C в течение 1,5 ч. После охлаждения до комнатной температуры осадок фильтровали и промывали ACN (3×) с получением 7-фтор-2-гидрокси-4H-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она в виде темного твердого вещества (14 г), которое использовали непосредственно на следующей стадии. МС m/z 181,3 [M+H]⁺.

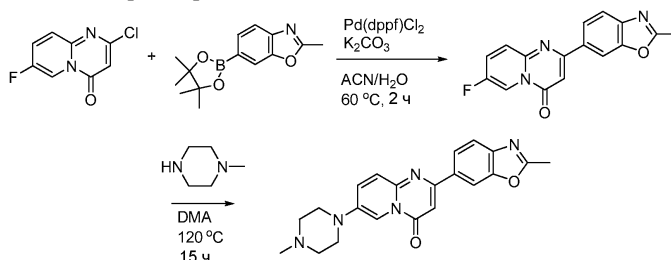
Часть 1, стадия B:

Темную смесь неочищенного 7-фтор-2-гидрокси-4H-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (14 г, ~77 ммоль) в POCl₃ (50 мл) и DIEA (13,3 мл, 77 ммоль) нагревали при 110°C в течение 15 ч. Летучие вещества удаляли, темный остаток обрабатывали водой со льдом, промывали водой (3×) и сушили с получением коричневого твердого вещества. Неочищенное коричневое твердое вещество подвергали хроматографии (5% MeOH в CH₂Cl₂) с получением 2-хлор-7-фтор-4H-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она в виде желтого твердого вещества (9,84 г, 50%, 2 этапа). МС m/z 199,2 [M+H]⁺; ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆): δ 8,99 (1H, дд, J=2,8 Гц, 4,7 Гц), 8,27-8,23 (1H, м), 7,85 (1H, дд, J=5,4 Гц, 9,8 Гц), 6,56 (1H, с).



Часть 2:

Смесь 6-бром-2-метилбензо[d]оксазола (1,06 г, 5,0 ммоль), 4,4,4',4',5,5,5'-октаметил-2,2'-би(1,3,2-диоксаборолана) (1,40 г, 5,5 ммоль), KOAc (1,47 г, 15 ммоль) и Pd(dppf)Cl₂·CH₂Cl₂ (122 мг, 0,15 ммоль) в диоксане (8 мл) дегазировали и нагревали в атмосфере N₂ при 85°C. Спустя 15 ч смесь разбавляли EtOAc, фильтровали через целит и концентрировали. Остаток подвергали хроматографии с получением 2-метил-6-(4,4,5,5-тетрамethyl-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бензо[d]оксазола в виде светло-оранжевого твердого вещества (1,30 г, 100%). МС m/z 260,4 [M+H]⁺.



Часть 3, стадия A:

Смесь 2-хлор-7-фтор-4H-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (0,436 г, 2,2 ммоль), 2-метил-6-(4,4,5,5-тетрамethyl-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бензо[d]оксазола (0,647 г, 2,5 ммоль), Pd(dppf)Cl₂ в DCM (90 мг, 0,11 ммоль), K₂CO₃ (2M, 3,0 мл, 6,0 ммоль) и ACN (6 мл) дегазировали, а затем нагревали в атмосфере N₂ при 60°C в течение 3,5 ч. Летучие вещества удаляли и подвергали остаток хроматографии (2,5% MeOH в CH₂Cl₂) с получением 7-фтор-2-(2-метилбензо[d]оксазол-6-ил)-4H-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она в виде не совсем белого твердого вещества (0,64 г, 98%). МС m/z 296,4 [M+H]⁺; ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆): δ 8,96-8,95 (1H, м), 8,51 (1H, д, J=1,6 Гц), 8,26 (1H, дд, J=8,5 Гц, 1,6 Гц), 8,16-8,12 (1H, м), 7,91-7,88 (1H, м), 7,78 (1H, д, J=8,4 Гц), 7,17 (1H, с), 2,67 (3H, с).

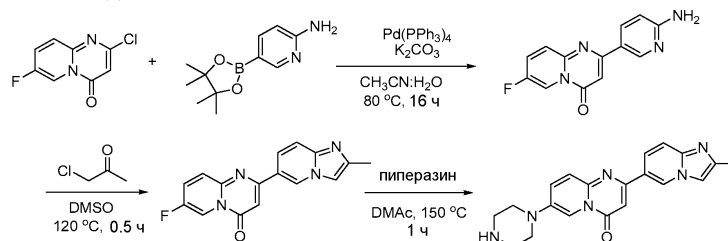
Часть 3, стадия B:

Смесь 7-фтор-2-(2-метилбензо[d]оксазол-6-ил)-4H-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (60 мг, 0,2 ммоль) и 1-метилпиперазина (0,11 мл, 1,0 ммоль) в DMA (0,3 мл) нагревали при 120°C в течение 15 ч. Летучие вещества удаляли и подвергали остаток хроматографии с получением указанного в заголовке

соединения в виде желтого твердого вещества (46 мг, 61%). Т.пл. 178-183°C; МС m/z 376,5 $[M+H]^+$; ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6): δ 8,47 (1H, д, $J=1,5$ Гц), 8,25 (1H, д, $J=2,7$ Гц), 8,23 (1H, дд, $J=1,6$ Гц, 8,4 Гц), 8,11 (1H, дд, $J=2,8$ Гц, 9,7 Гц), 7,76 (1H, д, $J=8,6$ Гц), 7,74 (1H, д, $J=9,9$ Гц), 7,06 (1H, с), 3,25 (4H, м), 2,66 (3H, с), 2,25 (3H, с).

Как представлено ниже в табл. 1, дополнительные соединения, раскрытые в настоящем документе, могут быть получены в соответствии с примером 14 путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции.

Пример 15. Получение соединения 109



Стадия А:

2-Хлор-7-фтор-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он (990 мг, 5 ммоль, полученный в соответствии с методикой, описанной в примере 14, часть 1) объединяли с пинаколовым эфиром 2-аминопиридин-5-бороновой кислоты (1,21 г, 5,5 ммоль), тетраис(трифенилфосфин)палладием(0) (281 мг, 0,25 ммоль), CH_3CN (10 мл) и водным K_2CO_3 (1M, 10 мл). Смесь нагревали до 80°C в течение 6 ч. Смесь охлаждали до комнатной температуры, а затем фильтровали. Собранный осадок промывали CH_3CN и сушили в условиях вакуума с получением 2-(6-аминопиридин-3-ил)-7-фтор-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она в виде желтого порошка (1,13 г, 88%). МС m/z 257,0 $[M+H]^+$; ^1H ЯМР (DMSO- d_6 , 500 МГц): δ 8,90 (1H, м), 8,83 (1H, д, $J=2,1$ Гц), 8,17 (1H, дд, $J=8,8$ Гц, 2,5 Гц), 8,07 (1H, м), 7,78 (1H, дд, $J=9,8$ Гц, 5,3 Гц), 6,87 (1H, с), 6,58 (2H, с), 6,53 (1H, д, 8,9 Гц).

Стадия В:

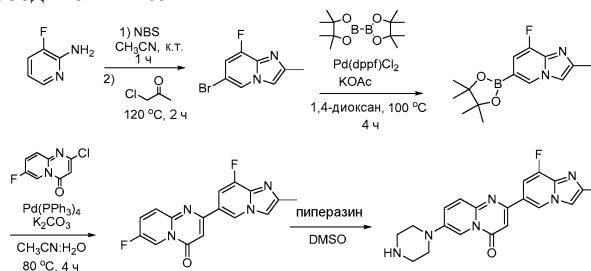
2-(6-Аминопиридин-3-ил)-7-фтор-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он (254 мг, 1,0 ммоль) объединяли с хлорацетоном (100 мкл, 1,2 ммоль) в DMSO (360 мкл, 1,65 ммоль). Смесь нагревали до 120°C в течение 30 мин. После охлаждения до комнатной температуры смесь распределяли между CH_2Cl_2 и насыщенным водным $NaHCO_3$. Органический слой концентрировали. Остаток элюировали с силикагеля MeOH (0% $\rightarrow$ 6%) в CH_2Cl_2 с получением 7-фтор-2-(2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она в виде рыжеватого порошка (136 мг, 46%). МС m/z 295,0 $[M+H]^+$; ^1H ЯМР (DMSO- d_6 , 500 МГц): δ 9,40 (1H, с), 8,95 (1H, м), 8,14 (1H, м), 7,96 (1H, дд, $J=9,5$ Гц, 1,9 Гц), 7,85 (2H, м), 7,54 (1H, $J=9,4$), 7,08 (1H, с), 2,36 (3H, с).

Стадия С:

7-Фтор-2-(2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он (45 мг, 0,15 ммоль) объединяли с пиперазином (65 мг, 0,75 ммоль) в диметилацетамиде (0,5 мл). Смесь нагревали до 150°C в течение 1 ч. Смесь наносили на силикагель и элюировали 0% $\rightarrow$ 8% MeOH (3% NH_3) в CH_2Cl_2 с получением указанного в заголовке соединения в виде рыжеватого порошка (33 мг, 61%). Т.пл. 259-267°C; МС m/z 361,1 $[M+H]^+$; ^1H ЯМР (DMSO- d_6 , 500 МГц): δ 9,36 (1H, с), 8,23 (1H, д, $J=2,7$ Гц), 8,10 (1H, дд, $J=9,7$ Гц, 2,7 Гц), 7,94 (1H, дд, $J=9,5$ Гц, 1,8 Гц), 7,82 (1H, с), 7,70 (1H, д, $J=9,7$ Гц), 7,52 (1H, д, $J=9,5$ Гц), 6,96 (1H, с), 3,15 (4H, м), 2,89 (4H, м), 2,36 (3H, с).

Как представлено ниже в табл. 1, дополнительные соединения, раскрытые в настоящем документе, могут быть получены в соответствии с примером 15 путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции.

Пример 16. Получение соединения 209



Стадия А:

3-Фторпиридин-2-амин (5,0 г, 45 ммоль) объединяли с N-бромсукцинимидом (8,0 г, 45 ммоль) в CH_3CN (40 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. К смеси добавляли хлорацетон (4,3 мл, 54 ммоль). Смесь нагревали до 100°C, позволяя выпариться CH_3CN . Спустя 1 ч температуру повышали до 120°C в течение 2 ч. Смесь отверждалась при охлаждении. Твердое вещество рас-

творяли в H₂O (50 мл). К водному раствору добавляли 100 мл насыщенного водного NaHCO₃. Формировался осадок, и его собирали путем вакуум-фильтрования. Твердое вещество промывали H₂O и сушили в условиях вакуума. Вещество наносили на силикагель в CH₂Cl₂ и элюировали EtOAc (0% → 30%) в CH₂Cl₂, с получением 6-бром-8-фтор-2-метилимидазо[1,2-а]пиридина в виде рыжеватого порошка (4,65 г, 45%). МС m/z 229,2 [M+H]⁺, 231,2 [M+2+H]⁺; ¹H ЯМР (DMSO-d₆, 500 МГц): δ 8,72 (1H, c), 7,79 (1H, c), 7,39 (1H, д, J=10,7 Гц), 2,35 (3H, c).

Стадия В:

Следуя методике, описанной в примере 14, часть 2, из 6-бром-8-фтор-2-метилимидазо[1,2-а]пиридина (912 мг, 4 ммоль), 4,4,4',4',5,5,5'-октаметил-2,2'-би(1,3,2-диоксаборолана) (1,32 г, 4,8 ммоль), [1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен]дихлорпалладия(II) (163 мг, 0,2 ммоль) и ацетата калия (784 мг, 8 ммоль) получали 8-фтор-2-метил-6-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)имидазо[1,2-а]пириндин. Неочищенный продукт использовали непосредственно на следующей стадии.

Стадия С:

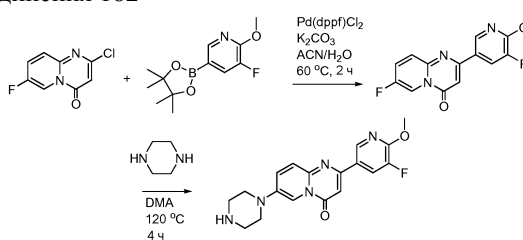
Следуя методике, описанной в примере 14, часть 3, стадия А, из неочищенного 8-фтор-2-метил-6-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)имидазо[1,2-а]пиридина, полученного на стадии А, 2-хлор-7-фтор-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (4 ммоль, полученного в примере 14, часть 1, стадия В), тетраakis(трифенилфосфин)палладия(0) (225 мг, 0,2 ммоль) и водного K₂CO₃ (1М, 8 мл) получали 7-фтор-2-(8-фтор-2-метилимидазо[1,2-а]пириндин-6-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он в виде рыжеватого порошка (860 мг, 69%). МС m/z 313,0 [M+H]⁺.

Стадия D:

Следуя методике, описанной в примере 14, часть 3, стадия В, из 7-фтор-2-(8-фтор-2-метилимидазо[1,2-а]пириндин-6-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (65 мг, 0,21 ммоль) и пиперазина (90 мг, 1,05 ммоль) получали указанное в заголовке соединение в виде рыжеватого порошка (34 мг, 43%). Т.пл. 282-288°C; МС m/z 379,4 [M+H]⁺; ¹H ЯМР (DMSO-d₆, 500 МГц): δ 9,26 (1H, c), 8,21 (1H, д, J=2,6 Гц), 8,10 (1H, дд, J=9,7 Гц, 2,7 Гц), 7,93 (1H, д, J=2,3 Гц), 7,84 (1H, д, J=12,7 Гц), 7,68 (1H, д, J=9,8 Гц), 6,98 (1H, c), 3,14 (4H, м), 2,88 (4H, м), 2,39 (3H, c), 2,35 (1H, шир.с).

Как представлено ниже в табл. 1, дополнительные соединения, раскрытые в настоящем документе, могут быть получены в соответствии с примером 16 путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции.

Пример 17. Получение соединения 182



Стадия А:

Следуя методике, описанной в примере 14, часть 3, стадия А, из 3-фтор-2-метокси-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)пиридина (~4,85 ммоль, неочищенный продукт, полученный в соответствии с методикой, описанной в примере 14, часть 2) и 2-хлор-7-фтор-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (0,64 г, 3,23 ммоль, полученного в примере 14, часть 1) получали 7-фтор-2-(5-фтор-6-метокси-3-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он (1,0 г, 100%) в виде коричневого твердого вещества. МС m/z 290,4 [M+H]⁺.

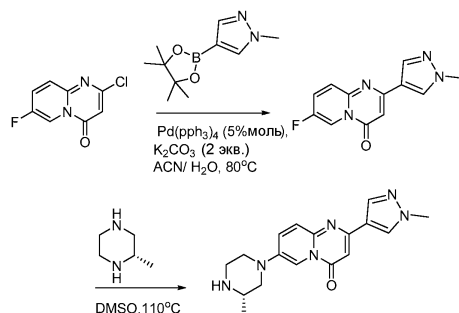
Стадия В:

Смесь 7-фтор-2-(5-фтор-6-метокси-3-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (145 мг, 0,5 ммоль) и пиперазина (43 мг, 0,5 ммоль) в DMA (1 мл) нагревали при 120°C. Спустя 4 ч летучие вещества удаляли и подвергали остаток хроматографии (20% MeOH в CH₂Cl₂) с получением указанного в заголовке соединения в виде желтого твердого вещества (63 мг, 36%). Т.пл. 166-170°C; МС m/z 356,4 [M+H]⁺;

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆): δ 8,83 (1H, д, J=1,9 Гц), 8,39 (1H, дд, J=1,9 Гц, 11,8 Гц), 8,23 (1H, д, J=2,6 Гц), 8,10 (1H, дд, J=2,7 Гц, 9,7 Гц), 7,71 (1H, д, J=9,7 Гц), 7,02 (1H, c), 4,03 (3H, c), 3,20 (4H, м), 2,94 (4H, м).

Как представлено ниже в табл. 1, дополнительные соединения, раскрытые в настоящем документе, могут быть получены в соответствии с примером 17 путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции.

Пример 18. Получение соединения 191



Стадия А:

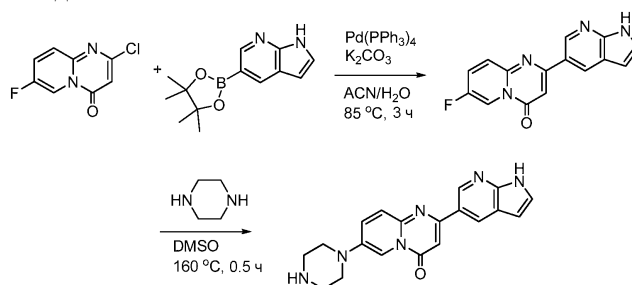
Следуя методике, описанной в примере 14, часть 3, стадия А, из 2-хлор-7-фтор-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (199 мг, 1 ммоль, полученного в примере 14, часть 1), 1-метил-4-(4,4,5,5-тетрамethyl-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1Н-пиразола (239,2 мг, 1,15 ммоль), Pd(PPh₃)₄ (57,8 мг, 0,05 ммоль) и K₂CO₃ (276,4 мг, 2 ммоль) в CH₃CN/H₂O (1,0 мл/1,0 мл) получали 7-фтор-2-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он (97,6 мг, 40%). МС m/z 245,1 [M+H]⁺.

Стадия В:

Следуя методике, описанной в примере 14, часть 3, стадия В, из 7-фтор-2-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (48,8 мг, 0,2 ммоль) и (S)-2-метилпиперазина (100 мг, 1 ммоль) в DMSO (0,5 мл) получали указанное в заголовке соединения (32,1 мг, 49,5%). Т.пл. 168-170°C; МС m/z 325,2 [M+H]⁺; ¹Н ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆): δ 8,35 (1H, с), 8,18 (1H, д, J=2,8 Гц), 8,06 (1H, с), 8,02 (1H, дд, J=9,7 Гц, 2,6 Гц), 7,56 (1H, д, J=9,8 Гц), 6,63 (1H, с), 3,89 (3H, с), 3,54-3,57 (2H, м), 2,99-3,02 (1H, м), 2,80-2,85 (2H, м), 2,58-2,64 (1H, м), 2,24-2,28 (1H, м), 1,05 (3H, д, J=6,3 Гц).

Как представлено ниже в табл. 1, дополнительные соединения, раскрытые в настоящем документе, могут быть получены в соответствии с примером 18 путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции.

Пример 19. Получение соединения 128



Стадия А:

К раствору 2-хлор-7-фтор-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (199 мг, 1,0 ммоль, полученного в примере 14, часть 1) в 2 мл ацетонитрила при комнатной температуре добавляли 5-(4,4,5,5-тетрамethyl-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1Н-пирроло[2,3-б]пиридин (293 мг, 1,2 ммоль), тетра-кис(трифенилфосфин)палладий(0) (57,8 мг, 0,05 ммоль) и водный K₂CO₃ (1М в воде, 2 ммоль). Смесь перемешивали при 85°C в течение 3 ч и охлаждали до комнатной температуры. Твердое вещество отфильтровывали и промывали дихлорметаном, водой и ацетонитрилом с получением 7-фтор-2-(1Н-пирроло[2,3-б]пиридин-5-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (249 мг, 89%). МС m/z 281,1 [M+H]⁺.

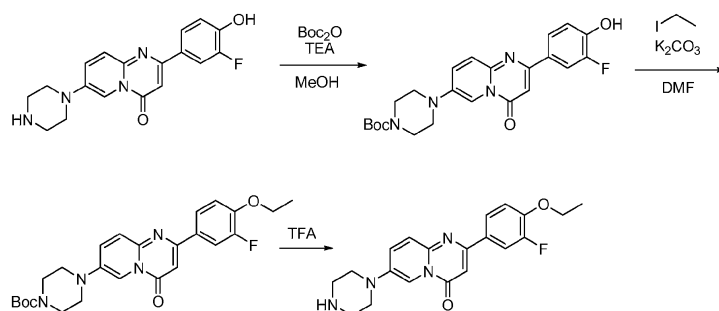
Стадия В:

Раствор 7-фтор-2-(1Н-пирроло[2,3-б]пиридин-5-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (100 мг, 0,36 ммоль) в DMSO (1 мл) обрабатывали пиперазином (154 мг, 1,79 ммоль) при комнатной температуре. Раствор перемешивали при 160°C в течение 30 мин и охлаждали до комнатной температуры. Реакционную смесь наносили на силикагель без концентрирования и элюировали MeOH (0% → 20%) в CH₂Cl₂ с получением указанного в заголовке соединения (74,8 мг, 60%). Т.пл. 252-255°C; МС m/z 347,1 [M+H]⁺;

¹Н ЯМР (DMSO-d₆, 500 МГц) δ 11,8 (1H, с), 8,95 (1H, д, J=2,0 Гц), 8,64 (1H, д, J=1,7 Гц), 8,14 (1H, д, J=2,3 Гц), 8,0-7,9 (1H, м), 7,62 (1H, д, J=9,6 Гц), 7,45 (1H, м), 6,9 (1H, с), 6,48 (1H, шир.м), 3,1 (4H, м), 2,85 (4H, м).

Как представлено ниже в табл. 1, дополнительные соединения, раскрытые в настоящем документе, могут быть получены в соответствии с примером 19 путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции.

Пример 20. Получение соединения 153



Стадия А:

2-(3-Фтор-4-гидроксифенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он (180 мг, 0,53 ммоль), полученный сочетанием по Судзуки в соответствии с методикой, описанной в примере 14, часть 3, стадия А, объединяли с ди-трет-бутилдикарбонатом (131 мг, 0,6 ммоль) и триэтиламино (85 мкл, 0,6 ммоль) в MeOH (4 мл). Смесь перемешивали при 50°C в течение 2 ч. Смесь фильтровали с получением желтого порошка, который промывали MeOH и сушили в условиях вакуума с получением трет-бутил-4-(2-(3-фтор-4-гидроксифенил)-4-оксо-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-7-ил)пиперазин-1-карбоксилата (230 мг, 99%). МС m/z 441,0 $[M+H]^+$.

Стадия В:

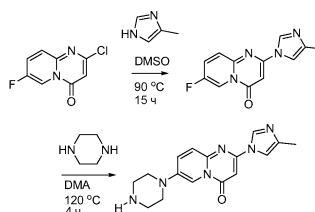
трет-Бутил-4-(2-(3-фтор-4-гидроксифенил)-4-оксо-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-7-ил)пиперазин-1-карбоксилат (60 мг, 0,14 ммоль) объединяли с K_2CO_3 (39 мг, 0,28 ммоль) и йодэтаном (48 мкл, 0,21 ммоль) в DMF (1 мл). Смесь перемешивали при 50°C в течение 1 ч. После охлаждения до комнатной температуры к смеси по каплям добавляли H_2O (0,5 мл). Осадок собирали, промывали H_2O и сушили в условиях вакуума.

Стадия С:

К неочищенному продукту, полученному на стадии В, добавляли трифторуксусную кислоту (1 мл). После отстаивания в течение 10 минут удаляли летучие вещества. Остаток распределяли между CH_2Cl_2 (4 мл) и водным K_2CO_3 (1М, 2 мл). Органический слой удаляли и концентрировали с получением указанного в заголовке соединения (36 мг, 70%). Т.пл. 180-186°C; МС m/z 369,1 $[M+H]^+$; ^1H ЯМР ($DMSO-d_6$, 500 МГц): δ 8,21 (1H, д, $J=2,7$ Гц), 8,02 (3H, м), 7,68 (1H, д, $J=9,7$ Гц), 7,27 (1H, т, $J=8,8$ Гц), 6,93 (1H, с), 4,20 (2H, кв., $J=7,0$ Гц), 3,14 (4H, м), 2,88 (4H, м), 2,36 (1H, шир.), 1,39 (3H, т, $J=7,0$ Гц).

Как представлено ниже в табл. 1, дополнительные соединения, раскрытые в настоящем документе, могут быть получены в соответствии с примером 20 путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции.

Пример 21. Получение соединения 179



Стадия А:

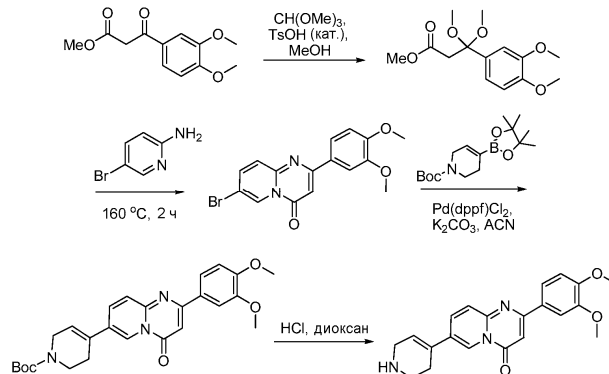
Смесь 2-хлор-7-фтор-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (300 мг, 1,5 ммоль) и 4-метил-1Н-имидазола (429 мг, 6,0 ммоль) в DMSO (1,5 мл) нагревали при 90°C в течение 15 ч. Смесь охлаждали до комнатной температуры и разбавляли CH_3CN . Осадок фильтровали, промывали CH_3CN (3×) и сушили с получением 2-(4-метил-1Н-имидазол-1-ил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она в виде не совсем белого твердого вещества (225 мг, 61%). МС m/z 345,4 $[M+H]^+$.

Стадия В:

Смесь 2-(4-метил-1Н-имидазол-1-ил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (73 мг, 0,3 ммоль) и пиперазина (129 мг, 1,5 ммоль) в DMA (0,6 мл) нагревали при 120°C в течение 4 ч. Удаляли DMA и разбавляли смесь CH_3CN . Осадок фильтровали, промывали CH_3CN (3×) и сушили с получением указанного в заголовке соединения в виде желтого твердого вещества (310 мг, 95%). Т.пл. 204-206°C; МС m/z 311,1 $[M+H]^+$; ^1H ЯМР (500 МГц, $DMSO-d_6$): δ 8,47 (1H, д, $J=1,2$ Гц), 8,22 (1H, д, $J=2,7$ Гц), 8,13 (1H, дд, $J=2,8$ Гц, 9,6 Гц), 7,69 (1H, д, $J=1,1$ Гц), 7,63 (1H, д, $J=9,6$ Гц), 6,68 (1H, с), 3,14 (4H, м), 2,87 (4H, м), 2,16 (3H, с).

Как представлено ниже в табл. 1, дополнительные соединения, раскрытые в настоящем документе, могут быть получены в соответствии с примером 21 путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции.

Пример 22. Получение соединения 143



Стадия А:

Следуя методике, описанной в примере 1, стадия А, из метил-3-(3,4-диметоксифенил)-3-оксoproпаноата (5,0 г, 20 ммоль), триметилортоформиата (3,5 мл, 30 ммоль) и моногидрата паратолуолсульфоновой кислоты (380 мг, 2 ммоль) в метаноле (50 мл) получали метил-3-(3,4-диметоксифенил)-3,3-диметоксипропаноат. Неочищенный продукт использовали непосредственно на следующей стадии без очистки.

^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 500 МГц): δ 6,93 (3H, м), 3,82 (2H, кв., $J=7,2$ Гц), 3,75 (3H, с), 3,73 (3H, с), 3,12 (6H, с), 2,92 (2H, с), 0,92 (3H, т, $J=7,1$ Гц).

Стадия В: К полученному выше кetalю добавляли 5-бромпиридин-2-амин (3,5 г, 20 ммоль). Смесь нагревали до 150°C в течение 2 часов, а затем охлаждали до комнатной температуры. Неочищенный продукт растирали с ацетонитрилом и фильтровали с получением указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества (6,8 г, 94%). МС m/z 360,9 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 362,9 $[\text{M}+2+\text{H}]^+$.

Стадия С:

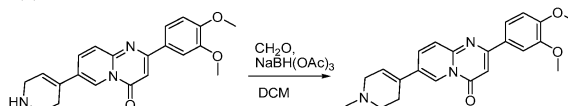
Следуя методике, описанной в примере 14, часть 3, стадия А, из 7-бром-2-(3,4-диметоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (181 мг, 0,5 ммоль), трет-бутил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-5,6-дигидропиридин-1(2Н)-карбоксилата (170 мг, 0,55 ммоль), карбонат калия (207 мг, 1,5 ммоль) и Pd(dppf)Cl_2 (36,5 мг, 0,05 ммоль) в ацетонитриле (2 мл) получали трет-бутил-4-(2-(3,4-диметоксифенил)-4-оксо-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-7-ил)-5,6-дигидропиридин-1(2Н)-карбоксилат в виде белого твердого вещества (0,22 мг, 95%). МС m/z 464,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$; ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6) δ 8,82 (с, 1H), 8,24 (дд, $J=1,5$, 9 Гц, 1H), 7,85 (дд, $J=2$, 8,5 Гц, 1H), 7,78 (д, $J=2$ Гц, 1H), 7,73 (д, $J=9,5$ Гц, 1H), 7,10 (д, $J=9$ Гц, 1H), 7,05 (с, 1H), 6,54 (с, 1H), 4,09 (шир.с, 2H), 3,89 (с, 3H), 3,85 (с, 3H), 3,60-3,59 (м, 2H), 2,64-2,63 (м, 2H), 1,45 (с, 9H).

Стадия D:

Промежуточный продукт, полученный на стадии А, суспендировали в растворе HCl в диоксане (4М, 4 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Смесь концентрировали и распределяли остаток между дихлорметаном и насыщенным водным бикарбонатом натрия. Органические фазы сушили, концентрировали и подвергали хроматографии на колонке с щелочным оксидом алюминия, элюируя дихлорметаном с метанолом (10%), с получением указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества (150 мг, 88%). Т.пл. $196\text{--}198^\circ\text{C}$; МС m/z 364,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$; ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6) δ 8,77 (д, $J=2$ Гц, 1H), 8,24 (дд, $J=2$, 9,5 Гц, 1H), 7,85 (дд, $J=2$, 8,5 Гц, 1H), 7,78 (д, $J=2$ Гц, 1H), 7,71 (д, $J=9,5$ Гц, 1H), 7,09 (д, $J=8,5$ Гц, 1H), 7,03 (с, 1H), 6,60 (с, 1H), 3,89 (с, 3H), 3,85 (с, 3H), 3,45 (д, $J=2,5$ Гц, 2H), 2,97 (т, $J=5,5$ Гц, 2H), 2,41 (шир.с, 2H).

Как представлено ниже в табл. 1, дополнительные соединения, раскрытые в настоящем документе, могут быть получены в соответствии с примером 22 путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции.

Пример 23. Получение соединения 188

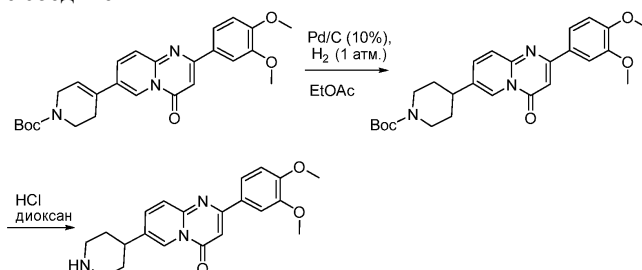


Смесь 2-(3,4-диметоксифенил)-7-(1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (30 мг, 0,08 ммоль), формальдегида (0,05 мл, 37%, ~0,8 ммоль) и триацетоксиборгидрида натрия (50 мг, 0,24 ммоль) перемешивали в дихлорметане (1 мл) в течение 2 ч. Реакционную смесь разбавляли дихлорметаном и нейтрализовывали добавлением бикарбоната натрия. Органические фазы сушили и концентрировали с получением указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества (26 мг, 83%). Т.пл. $165\text{--}168^\circ\text{C}$; МС m/z 378,4 $[\text{M}+\text{H}]^+$; ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6) δ 8,79 (д, $J=2$ Гц, 1H), 8,25 (дд, $J=2$, 9,5 Гц, 1H), 7,85 (дд, $J=2$, 8,5 Гц, 1H), 7,78 (д, $J=2$ Гц, 1H), 7,71 (д, $J=9,5$ Гц, 1H), 7,10 (д, $J=8,5$ Гц, 1H), 7,04 (с, 1H), 6,56 (с, 1H), 3,89 (с, 3H), 3,85 (с, 3H), 3,09 (шир.с, 2H), 2,64-2,61 (м, 2H), 2,56 (шир.с,

2H), 2,51 (с, 3H).

Как представлено ниже в табл. 1, дополнительные соединения, раскрытые в настоящем документе, могут быть получены в соответствии с примером 23 путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции.

Пример 24. Получение соединения 144



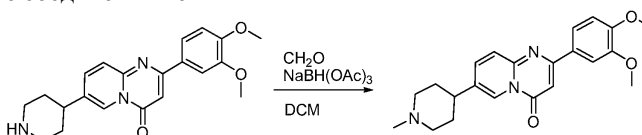
Стадия А:

Смесь трет-бутил-4-(2-(3,4-диметоксифенил)-4-оксо-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-7-ил)-5,6-дигидропиридин-1(2Н)-карбоксилата (100 мг, 0,22 ммоль, полученного как описано в примере 22, стадия С) и Pd/C (10%) (10 мг) в этилацетате (25 мл) перемешивали в атмосфере водорода (1 атм) в течение ночи. Реакционную смесь фильтровали через целит, концентрировали и подвергали хроматографии на силикагеле, элюируя EtOAc/CH₂Cl₂ (30/70), с получением трет-бутил-4-(2-(3,4-диметоксифенил)-4-оксо-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-7-ил)пиперидин-1-карбоксилата в виде белого твердого вещества (75 мг, 75%), которое использовали непосредственно на следующей стадии без дополнительной очистки. MS m/z 466,4 [M+H]⁺; ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 8,57 (с, 1H), 7,80 (дд, J=2,5, 9,5 Гц, 1H), 7,64 (дд, J=2, 8,5 Гц, 1H), 7,57 (д, J=2 Гц, 1H), 7,53 (д, J=9 Гц, 1H), 6,9 (д, J=9 Гц, 1H), 6,82 (с, 1H), 3,92 (шир.с, 2H), 3,69 (с, 3H), 3,65 (с, 3H), 2,78-2,71 (м, 2H), 2,69-2,65 (1H, м), 1,69-1,67 (м, 2H), 1,41-1,38 (м, 2H), 1,24 (с, 9H).

Стадия В:

Следуя методике, описанной в примере 22, стадия D, из продукта, полученного на стадии А, и HCl в диоксане (4М, 3 мл) получали указанное в заголовке соединение в виде белого твердого вещества (49 мг, 83%). Т.пл. 214-217°C; MS m/z 366,4 [M+H]⁺; ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 8,88 (д, J=2 Гц, 1H), 8,09 (дд, J=2, 9,5 Гц, 1H), 7,98 (дд, J=2, 8,5 Гц, 1H), 7,91 (д, J=2 Гц, 1H), 7,88 (д, J=9 Гц, 1H), 7,23 (д, J=8,5 Гц, 1H), 7,15 (с, 1H), 4,02 (с, 3H), 3,98 (с, 3H), 3,30 (д, J=11,5 Гц, 2H), 3,01 (тт, J=2 Гц, 12 Гц, 1H), 2,87 (т, J=12 Гц, 2H), 2,02 (д, J=12,5 Гц, 2H), 1,80-1,73 (м, 2H).

Пример 25. Получение соединения 164

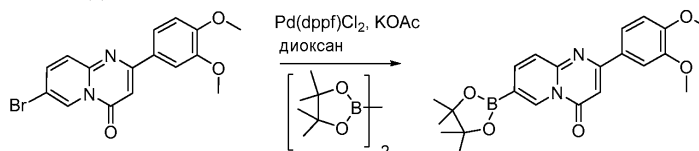


Следуя методике, описанной в примере 23, из 2-(3,4-диметоксифенил)-7-(пиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (10 мг, 0,027 ммоль), формальдегида (10 мкл, 37%, 0,13 ммоль) и триацетоксигидрида натрия (17 мг, 5,7 ммоль) в дихлорметане (0,5 мл) получали указанное в заголовке соединение в виде белого твердого вещества (7,6 мг, 73%). Т.пл. 181-183°C; MS m/z 380,1 [M+H]⁺;

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 8,76 (д, J=2 Гц, 1H), 8,0 (дд, J=2, 9 Гц, 1H), 7,84 (дд, J=2, 8,5 Гц, 1H), 7,77 (д, J=2 Гц, 1H), 7,72 (д, J=9,5 Гц, 1H), 7,09 (д, J=8,5 Гц, 1H), 7,01 (с, 1H), 3,89 (с, 3H), 3,84 (с, 3H), 2,91 (д, J=9,5 Гц, 2H), 2,73-2,64 (м, 1H), 2,22 (с, 3H), 2,01 (т, J=8,5 Гц, 2H), 1,88-1,85 (м, 2H), 1,71-1,69 (м, 2H).

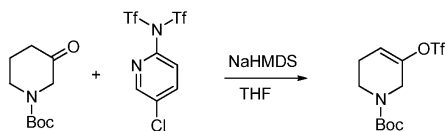
Как представлено ниже в табл. 1, дополнительные соединения, раскрытые в настоящем документе, могут быть получены в соответствии с примером 25 путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции.

Пример 26. Получение соединения 263



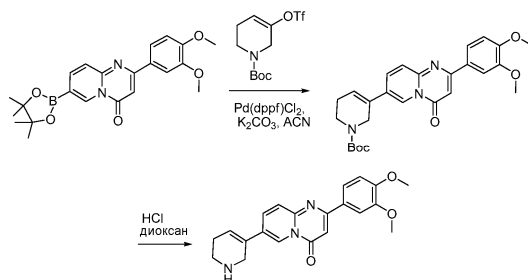
Часть 1:

Следуя методике, описанной в примере 14, часть 2, из 7-бром-2-(3,4-диметоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (661 мг, 1,8 ммоль), полученного в примере 22, стадия В, KOAc (530 мг, 5,4 ммоль), бис (пинаколата) дибора (700 мг, 2,7 ммоль) и Pd(dppf)Cl₂ (60 мг, 0,09 ммоль) в диоксане (5 мл) получали 2-(3,4-диметоксифенил)-7-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он в виде белого твердого вещества (560 мг, 76%). MS m/z 327,1 [M+H]⁺ для бороновой кислоты.



Часть 2:

К раствору трет-бутил-3-оксопиперидин-1-карбоксилата (482 мг, 2,4 ммоль) в 2-метилтетрагидрофуране (2,5 мл) при -78°C в атмосфере аргона по каплям добавляли раствор бис(триметилсилил)амида натрия (2,6 мл, 2,6 ммоль, 1,0М в THF). Смесь перемешивали при -78°C в течение 1 ч, а затем добавляли раствор N-(5-хлорпиридин-2-ил)-1,1,1-трифтор-N-(трифторметилсульфонил)метансульфонамида (1,0 г, 2,5 ммоль) в 2-метилтетрагидрофуране (2,5 мл), а затем оставляли реакционную смесь нагреваться до комнатной температуры в течение 2 ч. После перемешивания при комнатной температуре в течение ночи реакционную смесь гасили добавлением насыщенного водного карбоната натрия, разбавляли эфиром, органические фазы промывали водой, сушили и концентрировали. Неочищенный продукт подвергали хроматографии на колонке с щелочным оксидом алюминия, элюируя 5% этилацетатом в гексане, с получением указанного в заголовке соединения в виде бесцветного масла (290 мг, 37%).



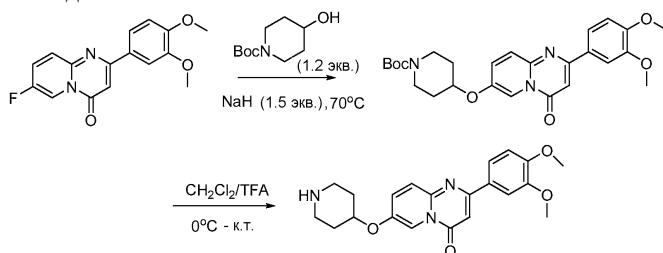
Часть 3, стадия А:

Следуя методике, описанной в примере 14, часть 3, стадия А, из 2-(3,4-диметоксифенил)-7-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (370 мг, 0,91 ммоль), трет-бутил-3-(трифторметилсульфонилокси)-5,6-дигидропиридин-1(2Н)-карбоксилата (290 мг, 0,88 ммоль), карбоната калия (364 мг, 2,6 ммоль) и Pd(dppf)Cl₂ (58 мг, 0,08 ммоль) в ацетонитриле (4 мл) получали трет-бутил-3-(2-(3,4-диметоксифенил)-4-оксо-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-7-ил)-5,6-дигидропиридин-1(2Н)-карбоксилат в виде белого твердого вещества (0,22 мг, 62%). МС m/z 464,3 [M+H]⁺.

Часть 3, стадия В:

Следуя методике, описанной в примере 22, стадия В, из трет-бутил-3-(2-(3,4-диметоксифенил)-4-оксо-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-7-ил)-5,6-дигидропиридин-1(2Н)-карбоксилата (220 мг, 0,47 ммоль) и HCl в диоксане (4М, 5 мл) получали указанное в заголовке соединение (160 мг, 79%). Т.пл. $146-150^{\circ}\text{C}$; МС m/z 364,2 [M+H]⁺; ¹Н ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 8,73 (д, J=2 Гц, 1H), 8,23 (дд, J=2, 9,5 Гц, 1H), 7,85 (дд, J=2, 8,5 Гц, 1H), 7,78 (д, J=2,5 Гц, 1H), 7,71 (д, J=9,5 Гц, 1H), 7,10 (д, J=8,5 Гц, 1H), 7,05 (с, 1H), 6,60 (с, 1H), 3,89 (с, 3H), 3,85 (с, 3H), 3,29 (шир.с, 2H), 2,40-2,36 (м, 4H).

Пример 27. Получение соединения 237



Стадия А:

К 1-Вос-4-гидроксипиперидину (48,3 мг, 0,24 ммоль) в безводном THF при комнатной температуре медленно добавляли NaNH (60% дисперсия в минеральном масле, 12 мг, 0,3 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин и добавляли 2-(3,4-диметоксифенил)-7-F-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он (60 мг, 0,2 ммоль). Реакционную смесь затем нагревали при 70°C в течение 3 ч. Для гашения реакционной смеси добавляли небольшое количество воды со льдом. После выпаривания большей части THF к смеси добавляли эфир, осадок фильтровали и сушили с получением трет-бутил-4-(2-(3,4-диметоксифенил)-4-оксо-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-7-илокси)пиперидин-1-карбоксилата, который использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

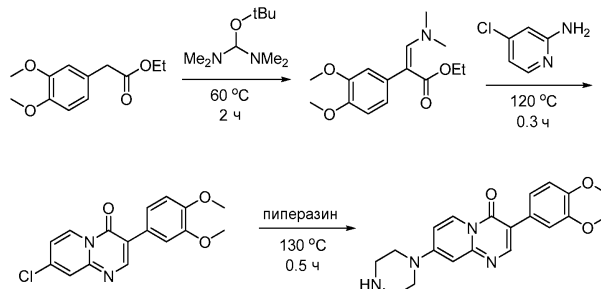
Стадия В:

трет-Бутил-4-(2-(3,4-диметоксифенил)-4-оксо-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-7-илокси)пиперидин-1-карбоксилат при 0°C растворяли в CH₂Cl₂/TFA (0,5 мл/0,5 мл). Смесь перемешивали при 0°C в течение 2 ч до исчезновения исходного вещества. После выпаривания большей части TFA к реакционной смеси

добавляли ледяной насыщенный NaHCO_3 . Смесь экстрагировали CH_2Cl_2 . Органический слой сушили над MgSO_4 и концентрировали с получением указанного в заголовке соединения (57 мг, 74,8% в 2 стадии). Т.пл. 221-224°C; МС m/z 382,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$; ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6): δ 8,58 (1H, д, $J=2,9$ Гц), 7,81-7,86 (2H, м), 7,73-7,78 (2H, м), 7,08 (1H, д, $J=8,7$ Гц), 7,01 (1H, с), 4,82-4,86 (1H, м), 3,87 (3H, с), 3,83 (3H, с), 3,23-3,27 (2H, м), 3,04-3,09 (2H, м), 2,13-2,18 (2H, м), 1,85-1,91 (2H, м).

Как представлено ниже в табл. 1, дополнительные соединения, раскрытые в настоящем документе, могут быть получены в соответствии с примером 27 путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции.

Пример 28. Получение соединения 52



Стадия А:

Этил-2-(3,4-диметоксифенил)ацетат (673 мг, 3 ммоль) объединяли с 1-трет-бутоксидиметилметанамин (0,68 мл, 3,3 ммоль). Смесь нагревали до 60°C в течение 2 ч. Смесь использовали непосредственно на следующей стадии без выделения продукта реакции.

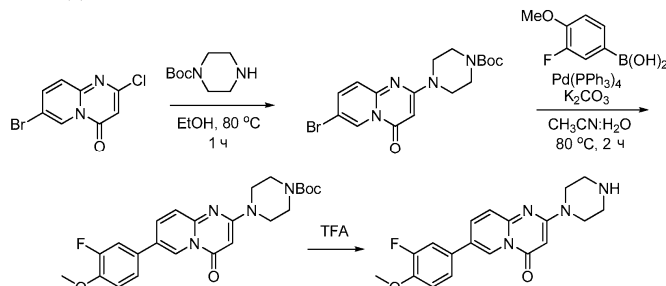
Стадия В:

4-Хлорпиридин-2-амин (424 мг, 3,3 ммоль) добавляли непосредственно к смеси. Смесь нагревали до 120°C в течение 20 мин. Смесь использовали непосредственно на следующей стадии без выделения продукта реакции.

Стадия С:

К смеси, полученной на стадии В, которую дополнительно перемешивали в течение 30 минут при 120°C, добавляли пиперазин (1,3 г, 15 ммоль). Смесь подвергали хроматографии на силикагеле, элюируя 10% MeOH (1% триэтиламина) в CH_2Cl_2 , с получением указанного в заголовке соединения в виде желтого порошка (120 мг, 11%). Т.пл. 175-179°C; МС m/z 367,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$; ^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 500 МГц): δ 8,84 (1H, д, $J=8,2$ Гц), 8,40 (1H, с), 7,44 (1H, д, $J=2,1$ Гц), 7,34 (1H, дд, $J=8,4$ Гц, 2,1 Гц), 7,28 (1H, дд, $J=8,2$ Гц, 2,8 Гц), 6,99 (1H, д, $J=8,5$ Гц), 6,73 (1H, д, $J=2,8$ Гц), 3,80 (3H, с), 3,78 (3H, с), 3,48 (4H, м), 2,82 (4H, м).

Пример 29. Получение соединения 220



Стадия А: 7-Бром-2-хлор-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он (130 мг, 0,5 ммоль), полученный в соответствии с примером 14, часть 1, объединяли с трет-бутилпиперазин-1-карбоксилатом (140 мг, 0,75 ммоль) и триэтиламин (0,14 мл, 1,0 ммоль) в EtOH (2 мл). Смесь нагревали до 80°C в течение 1 часа. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, а затем фильтровали. Собранное вещество подвергали хроматографии на силикагеле, элюируя 0% → 50% EtOAc в CH_2Cl_2 , с получением трет-бутил-4-(7-бром-4-оксо-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-2-ил)пиперазин-1-карбоксилата (130 мг, 64%). МС m/z 409,4 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Стадия В:

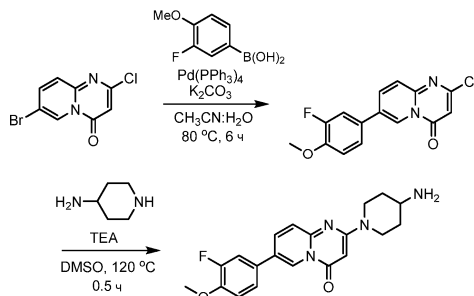
Промежуточный продукт (0,3 ммоль), полученный на стадии А, объединяли с 3-фтор-4-метоксифенилбороновой кислотой (77 мг, 0,45 ммоль) и тетраakis(трифенилфосфин)палладием(0) (35 мг, 0,03 ммоль) в CH_3CN (2 мл) и водном K_2CO_3 (1М, 2 мл). Смесь нагревали при 80°C при энергичном перемешивании в атмосфере аргона в течение 2 ч. Органический слой удаляли и концентрировали. Остаток подвергали хроматографии на силикагеле, элюируя 0% → 50% EtOAc в CH_2Cl_2 .

Стадия С: Вос-защищенный промежуточный продукт, полученный на стадии В, растворяли в трифторуксусной кислоте (1 мл). Спустя 20 минут, летучие вещества удаляли. Остаток распределяли между CH_2Cl_2 и водным K_2CO_3 (1М). Органический слой удаляли и концентрировали, с получением указанного в заголовке соединения в виде белого порошка (30 мг, 17%). Т.пл. 202-206°C; МС m/z 355,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$; ^1H

ЯМР (DMSO- d_6 , 500 МГц): δ 8,93 (1H, д, $J=2,0$ Гц), 8,15 (1H, дд, $J=9,3$ Гц, 2,3 Гц), 7,67 (1H, дд, $J=12,7$ Гц, 2,3 Гц), 7,54 (1H, м), 7,37 (1H, д, $J=9,2$), 7,30 (1H, т, $J=8,8$ Гц), 5,62 (1H, с), 3,90 (3H, с), 3,57 (4H, м), 2,75 (4H, м), 2,42 (1H, шир.с).

Как представлено ниже в табл. 1, дополнительные соединения, раскрытые в настоящем документе, могут быть получены в соответствии с примером 29 путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции.

Пример 30. Получение соединения 276



Стадия А.

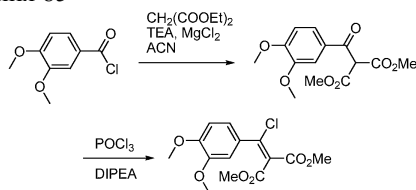
7-Бром-2-хлор-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он (1,29 г, 5 ммоль) объединяли с 3-фтор-4-метоксифенилбороновой кислотой (850 мг, 5 ммоль), тетраис(трифенилфосфин)палладием(0) (281 мг, 0,25 ммоль), CH_3CN (10 мл) и водным K_2CO_3 (1М, 10 мл). Смесь нагревали до 80°C в течение 6 ч. После охлаждения до комнатной температуры смесь распределяли между CH_2Cl_2 (75 мл) и H_2O (50 мл). Органический слой собирали и концентрировали. Остаток подвергали хроматографии на силикагеле, элюируя EtOAc (0% $\rightarrow$ 50%) в CH_2Cl_2 , с получением 2-хлор-7-(3-фтор-4-метоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она в виде белого порошка (520 мг, 34%). МС m/z 305,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Стадия В.

2-Хлор-7-(3-фтор-4-метоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он (180 мг, 0,6 ммоль) объединяли с 4-аминопиперидином (90 мг, 0,9 ммоль) и триэтиламин (165 мкл, 1,2 ммоль) в DMSO (0,75 мл). Смесь нагревали до 120°C в течение 30 мин. После охлаждения до комнатной температуры к смеси добавляли CH_3CN (2 мл). Смесь фильтровали. Собранное вещество промывали CH_3CN и сушили в условиях вакуума с получением указанного в заголовке соединения в виде белого порошка (115 мг, 52%). Т.пл. 268-283°C; МС m/z 369,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$; ^1H ЯМР (DMSO- d_6 , 500 МГц): δ 8,94 (1H, д, $J=2,0$ Гц), 8,16 (1H, дд, $J=9,3$ Гц, 2,3 Гц), 7,68 (1H, дд, $J=12,7$ Гц, 2,3 Гц), 7,55 (1H, д, $J=8,5$ Гц), 7,39 (1H, д, $J=9,2$), 7,30 (1H, т, $J=8,9$ Гц), 5,70 (1H, с), 5,20 (2H, шир.), 4,36 (2H, шир.), 3,92 (3H, с), 3,04 (3H, м), 1,87 (2H, м), 1,32 (2H, м).

Как представлено ниже в табл. 1, дополнительные соединения, раскрытые в настоящем документе, могут быть получены в соответствии с примером 30 путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции.

Пример 31. Получение соединения 85

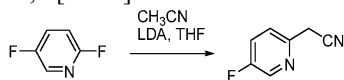


Часть 1, стадия А:

К суспензии MgCl_2 (2,85 г, 30 ммоль) в ацетонитриле (27 мл) при 0°C по каплям добавляли диэтилмалонат (3,4 мл, 30 ммоль) и триэтиламин (8,3 мл, 60 ммоль). Смесь перемешивали при 0°C в течение 30 мин. Затем порциями добавляли 3,4-диметоксибензоилхлорид (5,0 г, 25 ммоль). Смесь оставляли перемешиваться при комнатной температуре в течение ночи, после чего ее обрабатывали 1н HCl , экстрагировали эфиром, сушили и упаривали. Остаток очищали на силикагеле, элюируя этилацетатом (5% $\rightarrow$ 40%) в гексанах, с получением диметил-2-(3,4-диметоксибензоил)малоната (7,38 г, 100%). МС m/z 297,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

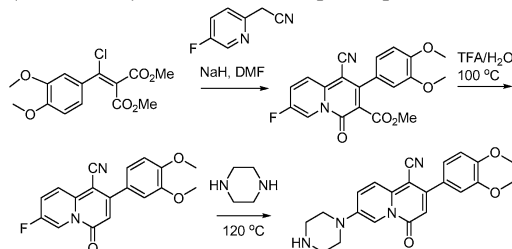
Часть 1, стадия В:

К раствору диметил 2-(3,4-диметоксибензоил)малоната (2,96 г, 10 ммоль) в POCl_3 (9,4 мл, 100 ммоль) при комнатной температуре по каплям добавляли DIPEA (2,75 мл, 16,7 ммоль). Смесь затем перемешивали при 100°C в течение 3 ч. В условиях вакуума удаляли POCl_3 , остаток обрабатывали льдом в воде и экстрагировали эфиром. Органический слой промывали 1н HCl , сушили и упаривали. Остаток очищали на силикагеле, элюируя этилацетатом (5% $\rightarrow$ 50%) в гексанах, с получением указанного в заголовке соединения (2,0 г, 64%). МС m/z 282,9 $[\text{M}+\text{H}]^+$.



Часть 2:

К раствору LDA (1,5М, 13,3 мл, 20 ммоль) в THF (15 мл) при -78°C по каплям добавляли раствор 2,5-дифторпиридина (1,15 г, 10 ммоль) в THF (10 мл). Затем, оставляли температуру расти до комнатной температуры, и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 2 ч, после чего реакционную смесь гасили добавлением водного NH_4Cl . Смесь экстрагировали этилацетатом, сушили и упаривали. Остаток очищали на силикагеле, элюируя этилацетатом (5% $\rightarrow$ 50%) в гексанах, с получением 2-(5-фторпиридин-2-ил)ацетонитрила (0,8 г, 59%). МС m/z 137,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.



Часть 3, стадия А:

К раствору 2-(5-фторпиридин-2-ил)ацетонитрила (44 мг, 0,325 ммоль) в DMF (0,5 мл) добавляли 60% NaH (20 мг, 0,325 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 10 минут, а затем обрабатывали диметил-2-(хлор(3,4-диметоксифенил)метил)малонатом (102 мг, 0,325 ммоль). Смесь перемешивали в течение 15 минут, и гасили реакционную смесь добавлением насыщенного раствора NH_4Cl . Смесь фильтровали. Твердое вещество промывали водой и использовали непосредственно на следующей стадии без дополнительной очистки.

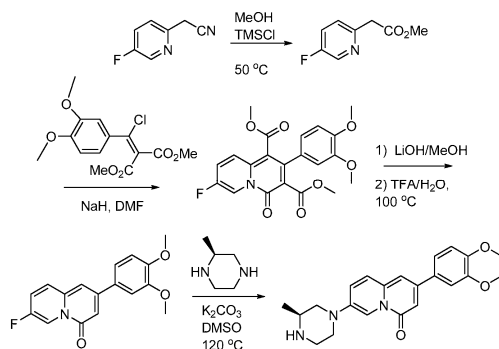
Часть 3, стадия В:

Неочищенное твердое вещество, полученное на стадии А, обрабатывали TFA (2,0 мл) и водой (0,2 мл). Смесь перемешивали при 100°C в течение ночи. Затем, растворитель удаляли в условиях вакуума и использовали неочищенный продукт на следующей стадии без дополнительной очистки.

Часть 3, стадия С:

Неочищенный продукт, полученный на стадии В, обрабатывали пиперазином (86 мг, 1,0 ммоль) в DMSO (1,0 мл) при 120°C в течение ночи. Путем удаления растворителя при помощи N_2 и последующей очистки на силикагеле с элюированием (10%) в дихлорметане получали указанное в заголовке соединение (30 мг, 25%). Т.пл. $199-202^{\circ}\text{C}$; МС m/z 391,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$; ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ : 8,60 (1H, д, $J=2,2$ Гц), 7,98 (1H, д, $J=9,8$ Гц), 7,59 (1H, дд, $J=9,5, 2,5$ Гц), 7,20 (1H, дд, $J=8,5, 2,2$ Гц), 7,12 (1H, д, $J=2,2$ Гц), 6,93 (1H, д, $J=8,2$ Гц), 6,52 (1H, с), 3,89 (3H, с), 3,88 (3H, с), 3,23-3,21 (4H, м), 3,05-3,03 (4H, м).

Пример 32. Получение соединения 91



Стадия А:

К раствору 2-(5-фторпиридин-2-ил)ацетонитрила (0,78 г, 5,7 ммоль) в MeOH (15 мл) по каплям добавляли триметилсиллхлорид (4,4 мл, 34,4 ммоль). Смесь перемешивали при 50°C в течение ночи. Органические летучие вещества удаляли в условиях вакуума, и распределяли остаток между эфиром и водным бикарбонатом натрия. Водный слой экстрагировали эфиром.

Эфирные экстракты объединяли, сушили и упаривали с получением метил-2-(5-фторпиридин-2-ил)ацетата в виде масла (0,9 г, 93%), которое использовали без дополнительной очистки. МС m/z 170,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Стадия В:

Следуя методике, описанной в примере 31, часть 3, стадия А, из метил-2-(5-фторпиридин-2-ил)ацетата (0,34 г, 2,0 ммоль), 60% NaH (176 мг, 4,4 ммоль) и диметил-2-(хлор(3,4-диметоксифенил)метил)малоната (0,69 г, 2,2 ммоль, полученного в примере 31, часть 1, стадия В) в DMF (3,0 мл) получали целевой диметил-2-(3,4-диметоксифенил)-7-фтор-4-оксо-4Н-хинолизин-1,3-дикарбоксилат (0,2 г, 24%). МС m/z 416,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

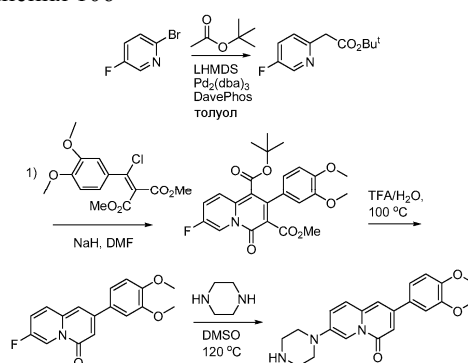
Стадия С:

Раствор диметил-2-(3,4-диметоксифенил)-7-фтор-4-оксо-4Н-хинолизин-1,3-дикарбоксилата (0,2 г, 0,48 ммоль) в метаноле (6,0 мл) обрабатывали водным LiOH (2,0н, 2,0 мл, 4,0 ммоль) и перемешивали при 90°C в течение 2 ч. Обрабатывали водой, а затем упаривали с получением темного остатка, который обрабатывали TFA (2,0 мл) и водой (0,2 мл) и перемешивали при 100°C в течение 1 ч. Путем удаления растворителя при помощи N₂ и последующей хроматографии с элюированием этилацетатом (25% → 75%) в гексанах получали 2-(3,4-диметоксифенил)-7-фтор-4Н-хинолизин-4-он (30 мг, 21%). МС m/z 300,2 [M+H]⁺.

Стадия D:

Раствор 2-(3,4-диметоксифенил)-7-фтор-4Н-хинолизин-4-он (30 мг, 0,1 ммоль), (S)-2-метилпиперазин (30 мг, 0,3 ммоль) и K₂CO₃ (27 мг, 0,2 ммоль) в DMSO (0,2 мл) перемешивали при 120°C в течение 48 ч. Путем удаления растворителя при помощи N₂ и последующей очистки дихлорметаном и метанолом (10%) получали указанное в заголовке соединение (24 мг, 63%). Т.пл. 243-245°C; МС m/z 380,2 [M+H]⁺; ¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ: 8,52 (1H, д, J=2,2 Гц), 7,46 (1H, д, J=9,8 Гц), 7,30 (2H, дт, J=10,4, 2,2 Гц), 7,22 (1H, д, J=1,9 Гц), 6,98 (1H, д, J=8,5 Гц), 6,84 (2H, с), 3,96 (3H, с), 3,95 (3H, с), 3,58-3,54 (2H, м), 3,50 (1H, с), 3,21-3,19 (1H, м), 3,12-3,04 (2H, м), 2,85-2,80 (1H, м), 2,49 (1H, т, J=11,1 Гц), 1,20 (3H, д, J=6,6 Гц).

Пример 33. Получение соединения 106



Стадия А:

К смеси Pd₂(dba)₃ (0,55 г, 0,6 ммоль) и DavePhos (0,50 г, 1,26 ммоль) в толуоле (40 мл) при комнатной температуре в атмосфере аргона по каплям добавляли раствор LHMDS в гексане (1,0М × 50 мл, 50 ммоль). Смесь перемешивали в течение 10 мин, а затем охлаждали до -10°C, после чего добавляли трет-бутилацетат (6,2 мл, 46 ммоль) и дополнительно перемешивали в течение 10 мин. Затем порциями добавляли 2-бром-5-фторпиридин (3,52 г, 20 ммоль). После завершения добавления температуру оставляли повышаться до комнатной температуры и дополнительно перемешивали смесь в течение 1 ч. Затем реакционную смесь гасили добавлением насыщенного раствора NH₄Cl. Путем выделения продукта реакции водой с последующим проведением хроматографии с элюированием этилацетатом (0% → 20%) в гексанах получали трет-бутил-2-(5-фторпиридин-2-ил)ацетат (2,6 г, 62%).

Стадия В:

Следуя методике, описанной в примере 31, часть 3, стадия А, из трет-бутил-2-(5-фторпиридин-2-ил)ацетата, 60% NaH (80 мг, 2,0 ммоль) и диметил 2-(хлор(3,4-диметоксифенил)метил)малоната (0,32 г, 1,0 ммоль, полученного в примере 31, часть 2, стадия В) в DMF (1,0 мл) получали 1-трет-бутил-3-метил-2-(3,4-диметоксифенил)-7-фтор-4-оксо-4Н-хинолизин-1,3-дикарбоксилат. Неочищенное твердое вещество использовали непосредственно на следующей стадии без очистки.

Стадия С:

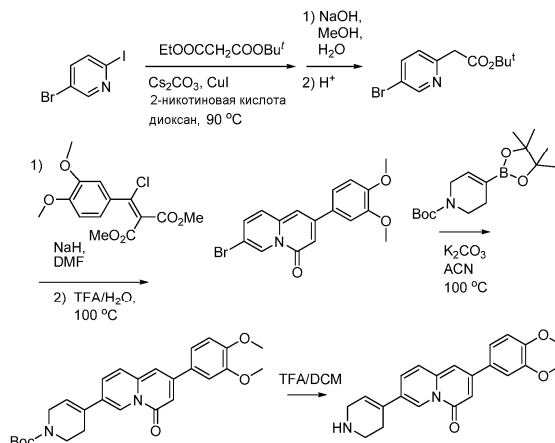
Следуя методике, описанной в примере 31, часть 3, стадия В, из неочищенного твердого вещества, полученного на стадии В, TFA (5 мл) и воды (2 мл) получали 2-(3,4-диметоксифенил)-7-фтор-4Н-хинолизин-4-он (145 мг, 48%). МС m/z 300,2 [M+H]⁺.

Стадия D:

Следуя методике, описанной в примере 31, часть 3, стадия С, из 2-(3,4-диметоксифенил)-7-фтор-4Н-хинолизин-4-она (75 мг, 0,25 ммоль) и пиперазина (75 мг, 0,87 ммоль) в DMSO (0,5 мл) получали указанное в заголовке соединение (30 мг, 33%). Т.пл. 170-172°C; МС m/z 366,1 [M+H]⁺; ¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ: 8,53 (1H, д, J=2,2 Гц), 7,46 (1H, д, J=9,5 Гц), 7,32-7,27 (2H, м), 7,22 (1H, д, J=1,9 Гц), 6,97 (1H, д, J=8,5 Гц), 6,84 (2H, с), 3,98 (3H, с), 3,95 (3H, с), 3,25-3,20 (4H, м), 3,13-3,07 (4H, м).

Как представлено ниже в табл. 1, дополнительные соединения, раскрытые в настоящем документе, могут быть получены в соответствии с примером 33 путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции.

Пример 34. Получение соединения 245



Стадия А:

Смесь 5-бром-2-йодпиридина (2,84 г, 10 ммоль), трет-бутилэтилмалоната (3,76 г, 20 ммоль), Cs_2CO_3 (9,77 г, 30 ммоль), CuI (0,19 г, 1,0 ммоль) и 2-никотиновой кислоты (0,246 г, 2,0 ммоль) в диоксане (20 ммоль) перемешивали при 90°C в течение ночи в атмосфере азота. Затем, смесь обрабатывали водой, экстрагировали этилацетатом, сушили и упаривали. Остаток растворяли в MeOH (100 мл) и воде (40 мл), и добавляли NaOH (1,2 г, 30 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч, а затем подкисляли до pH 4 добавлением 1н HCl , экстрагировали этилацетатом, сушили и подвергали хроматографии, элюируя этилацетатом (10% → 50%) в гексанах, с получением трет-бутил-2-(5-бромпиридин-2-ил)ацетата (1,2 г, 44%).

Стадия В:

Следуя методике, описанной в примере 33, стадия В и С, трет-бутил-2-(5-бромпиридин-2-ил)ацетат (0,54 г, 2,0 ммоль) обрабатывали NaH (60% в минеральном масле, 0,16 г, 4,0 ммоль) в DMF (2,0 мл), а затем осуществляли взаимодействие с 2-(хлор(3,4-диметоксифенил)метил)малонатом (2,0 ммоль). Путем снятия защиты и декарбоксилирования в TFA (5,0 мл) и воде (2,0 мл) при 100°C получали 7-бром-2-(3,4-диметоксифенил)-4Н-хинолизин-4-он (0,17 г, 68%). $\text{MS } m/z$ 360,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 362,0 $[\text{M}+2+\text{H}]^+$.

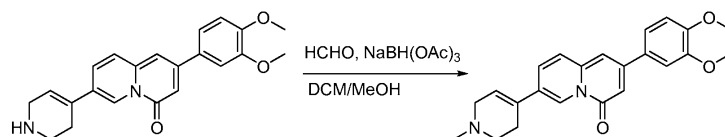
Стадия С:

Смесь 7-бром-2-(3,4-диметоксифенил)-4Н-хинолизин-4-она (0,17 г, 0,47 ммоль), трет-бутил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-5,6-дигидропиридин-1(2Н)-карбоксилата (0,18 г, 0,57 ммоль), PdCl_2dppf (38 мг, 0,047 ммоль), K_2CO_3 (2,0М × 0,75 мл, 1,5 ммоль) в ацетонитриле (1,5 мл) перемешивали при 100°C в течение 16 ч. Затем смесь обрабатывали водой, экстрагировали этилацетатом, сушили и подвергали хроматографии, элюируя этилацетатом (20% → 100%) в дихлорметане, с получением трет-бутил-4-(2-(3,4-диметоксифенил)-4-оксо-4Н-хинолизин-7-ил)-5,6-дигидропиридин-1(2Н)-карбоксилата (0,16 г, 73%). $\text{MS } m/z$ 463,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Стадия D:

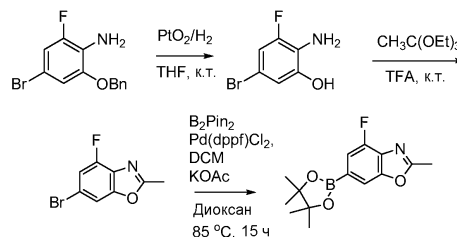
трет-Бутил-4-(2-(3,4-диметоксифенил)-4-оксо-4Н-хинолизин-7-ил)-5,6-дигидропиридин-1(2Н)-карбоксилат (80 мг, 0,17 ммоль) обрабатывали дихлорметаном (1,0 мл) и TFA (1,0 мл) и перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Затем смесь упаривали, обрабатывали дихлорметаном и промывали насыщенным водным раствором бикарбоната натрия. Органический слой сушили и упаривали с получением указанного в заголовке соединения (63 мг, 100%). Т.пл. 174-176°C; $\text{MS } m/z$ 363,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$; ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ : 9,04 (1H, с), 7,53 (1H, дд, $J=9,2$, 1,9 Гц), 7,47 (1H, д, $J=9,2$ Гц), 7,31 (1H, дд, $J=8,5$, 2,2 Гц), 7,23 (1H, д, $J=2,2$ Гц), 6,99 (1H, $J=8,2$ Гц), 6,86 (2H, шир.с), 6,36 (1H, с), 3,99 (3H, с), 3,97 (3H, с), 3,67-3,60 (2H, м), 3,24-3,13 (2H, м), 2,62-2,55 (2H, м), 2,21 (1H, шир.с).

Пример 35. Получение соединения 249



Следуя методике, описанной в примере 23, из 2-(3,4-диметоксифенил)-7-(1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-хинолизин-4-она (30 мг, 0,083 ммоль), триацетоксиборгидрида натрия (53 мг, 0,25 ммоль) и водного раствора формальдегида (30%, 14 мкл, 0,166 ммоль) в 10% метаноле в дихлорметане (1,0 мл) получали указанное в заголовке соединения (26 мг, 83%). Т.пл. 194-196°C; $\text{MS } m/z$ 377,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$; ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ : 9,03 (1H, с), 7,51-7,44 (2H, м), 7,29 (1H, дд, $J=8,5$, 2,2 Гц), 7,21 (1H, д, $J=1,9$ Гц), 6,98 (1H, $J=8,2$ Гц), 6,87-6,82 (2H, м), 6,26 (1H, с), 3,98 (3H, с), 3,95 (3H, с), 3,48 (2H, шир.с), 3,06-2,97 (2H, м), 2,90-2,80 (2H, м), 2,65 (3H, с).

Пример 36. Получение соединения 306



Часть 1, стадия А:

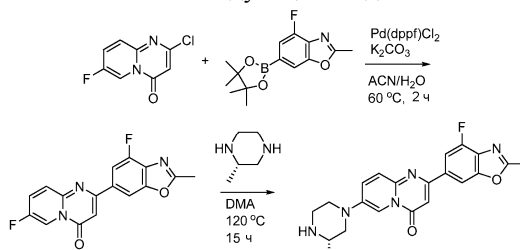
К раствору 2-(бензилокси)-4-бром-6-фторанилина (3,74 г, 12,6 ммоль) в THF (25 мл), полученного из 1,3-дифтор-2-нитробензола в 3 стадии в соответствии с известными методиками (WO 2007/067612), добавляли PtO_2 (0,23 г, 1,0 ммоль). После перемешивания в атмосфере водорода (1 атм, баллон) при комнатной температуре в течение 23 ч смесь фильтровали через целит. Фильтрат концентрировали с получением 2-амино-5-бром-3-фторфенола в виде коричневого твердого вещества, которое использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. МС m/z 206,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 208,0 $[\text{M}+2+\text{H}]^+$.

Часть 1, стадия В:

К раствору неочищенного 2-амино-5-бром-3-фторфенола, полученного на стадии А, в 1,1,1-триэтоксигане (10 мл) при комнатной температуре добавляли TFA (0,96 мл, 12,6 ммоль). Спустя 15 ч смесь нейтрализовывали добавлением Na_2CO_3 и фильтровали. Фильтрат концентрировали и подвергали хроматографии, элюируя CH_2Cl_2 , с получением 6-бром-4-фтор-2-метилбензо[d]оксазола в виде рыжеватого твердого вещества (2,531 г, 88%). МС m/z 230,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 232,1 $[\text{M}+2+\text{H}]^+$.

Часть 1, стадия С:

Смесь 6-бром-4-фтор-2-метилбензо[d]оксазола (2,531 г, 11,0 ммоль), 4,4,4',4'',5,5,5',5''-октаметил-2,2'-би(1,3,2-диоксаборолана) (3,087 г, 12,2 ммоль), KOAc (3,25 г, 33,2 ммоль) и $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2 \cdot \text{CH}_2\text{Cl}_2$ (449 мг, 0,55 ммоль) в диоксане (25 мл) дегазировали и нагревали в атмосфере N_2 при 85 °C. Спустя 15 ч методом LC-MS обнаруживали исчезновение исходного вещества и получение продуктов в виде смеси бороновой кислоты и пинаколового эфира бороновой кислоты в соотношении ~2/1:бороновая кислота: МС m/z 196,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$; пинаколовый эфир бороновой кислоты: МС m/z 278,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Реакционную смесь концентрировали досуха и использовали как есть на следующей стадии.



Часть 2, стадия А:

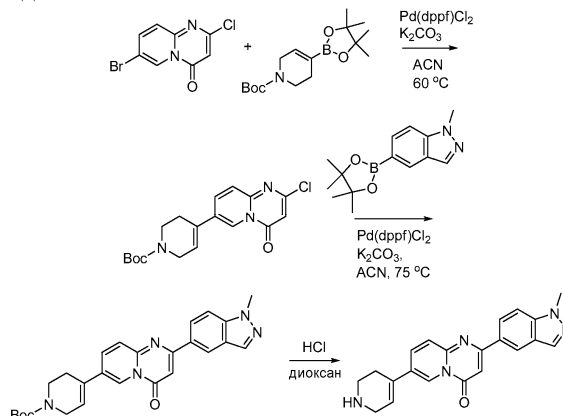
Смесь неочищенного пинаколового эфира бороновой кислоты/бороновой кислоты, полученную в части 1 (~4 г, ~4 ммоль), 2-хлор-7-фтор-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (0,792 г, 4,0 ммоль, полученного в примере 14, часть 1), $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2 \cdot \text{CH}_2\text{Cl}_2$ (146 мг, 0,20 ммоль), K_2CO_3 (2М, 6,0 мл, 12,0 ммоль) и CH_3CN (12 мл) дегазировали, а затем нагревали в атмосфере N_2 при 60 °C в течение 2,5 ч. Летучие вещества удаляли и промывали остаток водой и CH_3CN с получением 7-фтор-2-(4-фтор-2-метилбензо[d]оксазол-6-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она в виде сероватого твердого вещества (1,119 г, 89%). МС m/z 314,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$, ^1H ЯМР (500 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8,88-9,01 (1H, м), 8,39-8,48 (1H, м), 8,11-8,20 (2H, м), 7,86-7,96 (1H, м), 7,21-7,29 (1H, м), 2,69 (3H, с).

Часть 2, стадия В:

Смесь 7-фтор-2-(4-фтор-2-метилбензо[d]оксазол-6-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (63 мг, 0,2 ммоль) и (S)-2-метилпиперазина (30 мг, 0,3 ммоль) в DMA (0,5 мл) нагревали при 120 °C в течение 15 ч. Летучие вещества удаляли и подвергали остаток хроматографии (10-15% MeOH в CH_2Cl_2) с получением указанного в заголовке соединения в виде желтого твердого вещества (26 мг, 33%). Т.пл. 207-209 °C; МС m/z 394,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$; ^1H ЯМР (500 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8,39 (1H, д, $J=1,3$ Гц), 8,20-8,24 (1H, м), 8,05-8,16 (2H, м), 7,71-7,77 (1H, м), 7,11 (1H, с), 3,56-3,68 (2H, м), 2,98-3,06 (1H, м), 2,78-2,88 (2H, м), 2,68 (3H, с), 2,62-2,68 (1H, м), 2,27-2,34 (1H, м), 1,06 (3H, д, $J=6,3$ Гц).

Как представлено ниже в табл. 1, дополнительные соединения, раскрытые в настоящем документе, могут быть получены в соответствии с примером 36 путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции.

Пример 37. Получение соединения 443



Стадия А:

Смесь 7-бром-2-(3,4-диметоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (516 мг, 2,0 ммоль), трет-бутил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-5,6-дигидропиридин-1(2Н)-карбоксилата (740 мг, 2,4 ммоль), карбоната калия (828 мг, 6,0 ммоль) и Pd(dppf)Cl₂ (144 мг, 0,2 ммоль) в ацетонитриле (4 мл) дегазировали, а затем нагревали в атмосфере N₂ при 60 °С в течение ночи. Летучие вещества удаляли, и подвергали остаток хроматографии (30% EtOAc в CH₂Cl₂) с получением трет-бутил-4-(2-(3,4-диметоксифенил)-4-оксо-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-7-ил)-5,6-дигидропиридин-1(2Н)-карбоксилата в виде желтого твердого вещества (579 мг, 80%). МС m/z 362,8 [M+H]⁺.

Стадия В:

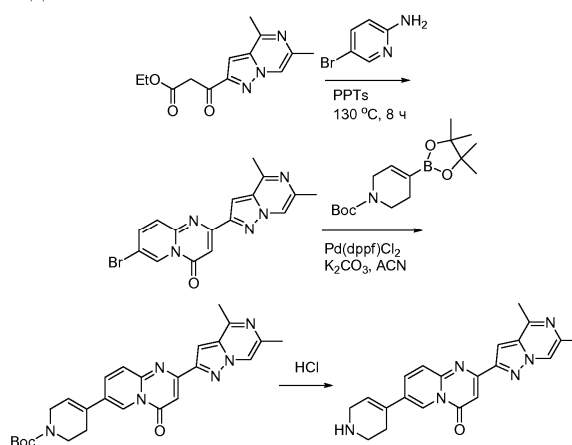
К продукту (400 мг, 1,1 ммоль), полученному на стадии А, добавляли 1-метил-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1Н-индазол (220 мг, 1,2 ммоль), Pd(dppf)Cl₂ (40 мг, 0,05 ммоль), карбонат калия (455 мг, 3,3 ммоль) и CH₃CN (2 мл). Смесь дегазировали, а затем нагревали при 75 °С в течение ночи. Смесь промывали водой и CH₃CN. Летучие вещества удаляли и подвергали остаток хроматографии, элюируя 0-2% MeOH в CH₂Cl₂, с получением трет-бутил-4-(2-(1-метил-1Н-индазол-5-ил)-4-оксо-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-7-ил)-5,6-дигидропиридин-1(2Н)-карбоксилата в виде не совсем белого твердого вещества (327 мг, 65%). МС m/z 458,5 [M+H]⁺.

Стадия С:

Следуя методике, описанной в примере 22, стадия D, из продукта (327 мг, 0,72 ммоль), полученного выше на стадии В, и HCl в диоксане (4М, 5 мл) получали указанное в заголовке соединение в виде не совсем белого твердого вещества (194 мг, 76%). Т.пл. 200-203 °С; МС m/z 358,2 [M+H]⁺; ¹H ЯМР (DMSO-d₆, 500 МГц) δ 8,80 (д, J=1,6 Гц, 1Н), 8,72 (д, J=1,6 Гц, 1Н), 8,30-8,26 (м, 2Н), 8,22 (д, J=1,6 Гц, 1Н), 7,77 (д, J=1,6 Гц, 2Н), 7,09 (с, 1Н), 6,62 (с, 1Н), 4,11 (с, 3Н), 3,46-3,44 (м, 2Н), 2,98-2,96 (м, 2Н), 2,43-2,39 (м, 2Н).

Как представлено ниже в табл. 1, дополнительные соединения, раскрытые в настоящем документе, могут быть получены в соответствии с примером 37 путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции.

Пример 38. Получение соединения 342



Стадия А:

Следуя методике, описанной в примере 9, стадия G, из 2-амино-5-бромпиридина (415 мг, 2,4 ммоль), этил-3-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиазин-2-ил)-3-оксoproпаноата (520 мг, 2,0 ммоль) и PPTs (25 мг, 0,1 ммоль) получали 2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиазин-2-ил)-7-бром-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он в виде желтого твердого вещества (498 мг, 67%). МС m/z 370,2 [M+H]⁺, 372,2

$[M+2H]^+$; ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) δ 8,99-9,09 (1H, м), 8,53-8,62 (1H, м), 8,08-8,18 (1H, м), 7,68-7,75 (1H, м), 7,55-7,63 (1H, м), 7,01-7,09 (1H, м), 2,74 (3H, с), 2,44 (3H, с).

Стадия В:

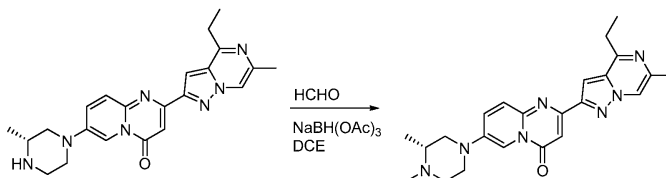
Следуя методике, описанной в примере 22, стадия С, из 7-бром-2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (498 мг, 1,3 ммоль), трет-бутил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-5,6-дигидропиридин-1(2Н)-карбоксилата (482 мг, 1,56 ммоль), карбоната калия (538 мг, 3,9 ммоль) и Pd(dppf)Cl₂ (95 мг, 0,13 ммоль) в ацетонитриле (3 мл) получали трет-бутил-4-(2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4-оксо-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-7-ил)-5,6-дигидропиридин-1(2Н)-карбоксилат в виде не совсем белого твердого вещества (0,57 г, 84%). МС m/z 473,5 $[M+H]^+$; ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) δ 8,80-8,89 (1H, м), 8,53-8,61 (1H, м), 8,23-8,32 (1H, м), 7,71-7,79 (1H, м), 7,55-7,61 (1H, м), 6,99-7,04 (1H, м), 4,03-4,14 (2H, м), 3,55-3,65 (2H, м), 2,74 (3H, с), 2,53-2,58 (2H, м), 2,43 (3H, с), 1,44 (9H, с).

Стадия С:

Следуя методике, описанной в примере 22, стадия D, из трет-бутил-4-(2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4-оксо-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-7-ил)-5,6-дигидропиридин-1(2Н)-карбоксилата и HCl (2 мл, 4н в диоксане) в CH₂Cl₂ (4 мл) получали указанное в заголовке соединения в виде не совсем белого твердого вещества (234 мг, 84%). Т.пл. 207-210°C; МС m/z 373,4 $[M+H]^+$; ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) δ 8,80 (1H, с), 8,55-8,60 (1H, м), 8,27-8,32 (1H, м), 7,73-7,78 (1H, м), 7,58-7,63 (1H, м), 7,00-7,05 (1H, м), 6,57-6,65 (1H, м), 3,42-3,47 (2H, м), 2,93-2,98 (2H, м), 2,72-2,76 (2H, м), 2,44 (3H, с), 2,39 (3H, с).

Как представлено ниже в табл. 1, дополнительные соединения, раскрытые в настоящем документе, могут быть получены в соответствии с примером 38 путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции.

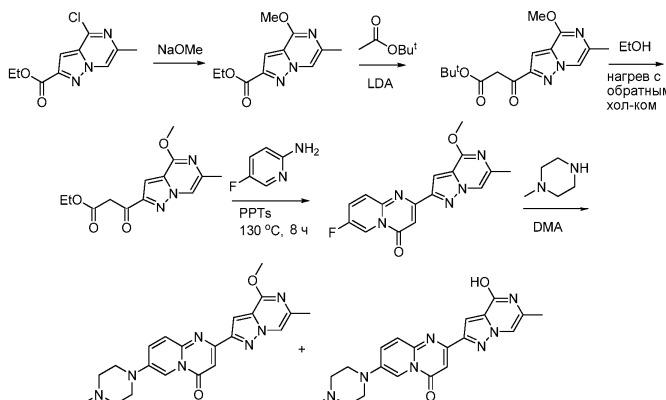
Пример 39. Получение соединения 629



Смесь (R)-2-(4-этил-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-(3-метилпиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (48 мг, 0,12 ммоль, полученного в соответствии с примером 9), формальдегида (0,039 мл, 0,48 ммоль, 37% в воде) и триацетоксиборгидрида натрия (51 мг, 0,24 ммоль) перемешивали в дихлорметане (1 мл) в течение 1 ч. Реакционную смесь разбавляли дихлорметаном и нейтрализовывали добавлением бикарбоната натрия. Органические фазы сушили, концентрировали и подвергали хроматографии, элюируя 0-5% MeOH в CH₂Cl₂, с получением указанного в заголовке соединения в виде желтого твердого вещества (45 мг, 90%). Т.пл. 257-259°C; МС m/z 418,5 $[M+H]^+$; ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) δ 8,56 (1H, с), 8,25-8,26 (1H, м), 8,12-8,14 (1H, м), 7,72-7,74 (1H, м), 7,55 (1H, с), 6,95 (1H, с), 3,60-3,65 (2H, м), 3,08 (2H, кв., J=7,6 Гц), 2,84-2,89 (2H, м), 2,43-2,52 (2H, м, замаскированный DMSO- d_6), 2,45 (3H, с), 2,29-2,31 (1H, м), 2,24 (3H, с), 1,33 (3H, т, J=7,6 Гц), 1,91 (3H, д, J=6,2 Гц).

Как представлено ниже в табл. 1, дополнительные соединения, раскрытые в настоящем документе, могут быть получены в соответствии с примером 39 путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции.

Пример 40. Получение соединения 625 и соединения 626



Стадия А:

Смесь этил-4-хлор-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-карбоксилата (2,39 г, 10 ммоль, полученного в примере 9, стадия С) и метоксида натрия (60 мл, 30 ммоль, 0,5М в MeOH) перемешивали при 30°C в течение 1 ч. Смесь концентрировали для удаления большей части метанола, разбавляли водой и нейтрализовывали добавлением 6Н HCl. Белое твердое вещество выпадало в осадок, его фильтровали, промывали

водой и CH_3CN , и сушили с получением этил-4-метокси-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-карбоксилата в виде белого твердого вещества (1,387 г, 62%). МС m/z 222,2 $[\text{M}-\text{CH}_3+\text{H}]^+$.

Стадия В:

Следуя методике, описанной в примере 9, стадия Е, из трет-бутилацетата (1,6 мл, 12,3 ммоль), LDA (10,2 мл, 15,4 ммоль, 1,5М в THF) и этил-4-метокси-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-карбоксилата (1,387 г, 6,2 ммоль) получали трет-бутил-3-(4-метокси-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-3-оксопропаноат в виде масла (1,35 г, 72%). МС m/z 306,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$;

^1H ЯМР (500 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8,35 (1H, с), 7,27 (1H, с), 4,05 (3H, с), 4,01 (2H, с), 2,36 (3H, с), 1,38 (9H, с).

Стадия С:

Следуя методике, описанной в примере 9, стадия F, из трет-бутил-3-(4-метокси-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-3-оксопропаноата (1,35 г, 4,43 ммоль) и EtOH (10 мл) получали этил-3-(4-метокси-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-3-оксопропаноат в виде желтоватого твердого вещества, которое использовали непосредственно на следующей стадии без дополнительной очистки. МС m/z 278,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Стадия D:

Смесь этил-3-(4-метокси-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-3-оксопропаноата (~4,43 ммоль), 2-амино-5-фторпиридина (0,596 г, 5,3 ммоль), PPTs (100 мг, 0,4 ммоль) и тетраэтилортосиликата (1,0 мл, 4,43 ммоль) в мета-ксилоле (2,2 мл) нагревали при 130°C. Спустя 15 ч смесь охлаждали до комнатной температуры и промывали CH_2Cl_2 с получением 7-фтор-2-(4-метокси-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она в виде желтого твердого вещества (1,015 г, 70%). МС m/z 326,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

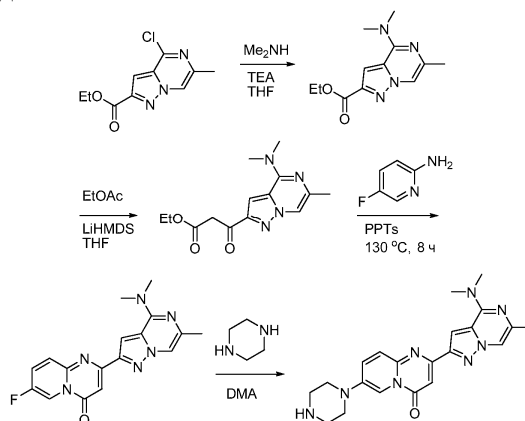
Стадия Е:

Смесь 7-фтор-2-(4-метокси-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (98 мг, 0,30 ммоль) и N-метилпиперазина (150 мг, 1,5 ммоль) в DMA (0,6 мл) нагревали при 130°C. Спустя 6 ч смесь охлаждали до комнатной температуры и подвергали хроматографии, элюируя 5% MeOH в CH_2Cl_2 и 10% 3,5н NH_3 в MeOH/ CH_2Cl_2 , с получением соединения 625 (12 мг, 10%) и соединения 626 (8,5 мг, 7%), каждое в виде желтого твердого вещества.

Соединение 625: т.пл. 242-244°C; МС m/z 406,5 $[\text{M}+\text{H}]^+$; ^1H ЯМР (500 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8,33-8,38 (1H, м), 8,24-8,30 (1H, м), 8,09-8,15 (1H, м), 7,70-7,74 (1H, м), 7,34-7,39 (1H, м), 6,92-6,96 (1H, м), 4,07 (3H, с), 3,21-3,29 (4H, м), 2,5 (4H, м, замаскированный $\text{DMSO}-d_6$), 2,37 (3H, с), 2,26 (3H, с).

Соединение 626: т.пл. 280-283°C; МС m/z 392,4 $[\text{M}+\text{H}]^+$; ^1H ЯМР (500 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 11,4 (1H, с), 8,24-8,28 (1H, м), 8,09-8,14 (1H, м), 7,70-7,75 (1H, м), 7,63-7,67 (1H, м), 7,48 (1H, с), 6,88 (1H, с), 3,22-3,29 (4H, м), 2,51-2,56 (4H, м), 2,24-2,30 (3H, с), 2,15 (3H, с).

Пример 41. Получение соединения 688



Стадия А:

Смесь этил-4-хлор-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-карбоксилата (0,956 г, 4 ммоль, полученного в примере 9, стадия С), диметиламина (2,1 мл, 4,2 ммоль, 2,0 М в THF) и Et_3N (0,84 мл, 6,0 ммоль) нагревали при 60°C. Спустя 15 ч смесь концентрировали, остаток растворяли в EtOAc, промывали водой, сушили и концентрировали с получением этил-4-(диметиламино)-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-карбоксилата в виде не совсем белого твердого вещества (0,99 г, 99%). МС m/z 249,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Стадия В:

К раствору этил-4-(диметиламино)-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-карбоксилата (0,99 г, 4,0 ммоль) и EtOAc (1,95 мл, 20 ммоль) в THF (30 мл) при -20°C добавляли LiHMDS (11,1 мл, 10 ммоль, 0,9М в THF). Спустя 1 ч смесь гасили добавлением насыщенного NH_4Cl , экстрагировали EtOAc. Органические фазы концентрировали и подвергали хроматографии, элюируя 2% MeOH в DCM, с получением этил-3-(4-(диметиламино)-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-3-оксопропаноата в виде бледно-

желтого масла (0,48 г, 40%). МС m/z 291,3 $[M+H]^+$; ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) δ 7,73 (1H, с), 7,05 (1H, с), 5,43 (2H, с), 3,96 (2H, кв., $J=7,0$ Гц), 3,28 (6H, с), 2,20 (3H, с), 1,16 (3H, т, $J=7,0$ Гц).

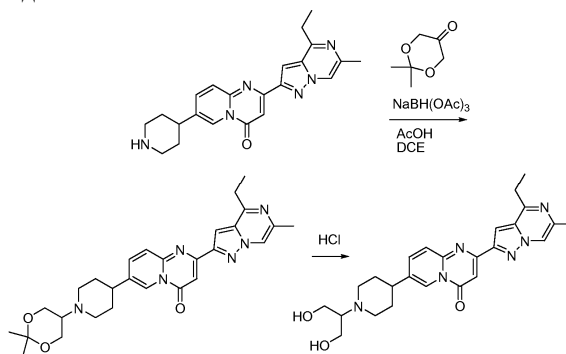
Стадия С:

Следуя методике, описанной в примере 40, стадия D, из этил-3-(4-(диметиламино)-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-3-оксопропаноата (0,48 г, 1,6 ммоль), 2-амино-5-фторпиридина (179 мг, 1,6 ммоль), PPTs (40 мг, 0,16 ммоль) и тетраэтилортосиликата (0,36 мл, 1,6 ммоль) в мета-ксилоле (0,8 мл) получали 2-(4-(диметиламино)-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-фтор-4H-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он в виде желтого твердого вещества (0,39 г, 72%). МС m/z 339,2 $[M+H]^+$; ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) δ 8,92-9,00 (1H, м), 8,06-8,18 (1H, м), 7,91-7,94 (1H, м), 7,85-7,91 (1H, м), 7,55-7,61 (1H, м), 6,98-7,08 (1H, м), 3,36 (6H, с), 2,25 (3H, с).

Стадия D:

Смесь 7-фтор-2-(4-метокси-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4H-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (50 мг, 0,15 ммоль) и пиперазина (86 мг, 1,0 ммоль) в DMA (0,5 мл) нагревали при 150°C. Спустя 2 часа, смесь охлаждали до комнатной температуры и промывали CH_3CN с получением указанного в заголовке соединения в виде желтого твердого вещества (60 мг, 98%). Т.пл. 245-248°C; МС m/z 405,4 $[M+H]^+$; ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) δ 8,23-8,28 (1H, м), 8,06-8,11 (1H, м), 7,89-7,92 (1H, м), 7,69-7,75 (1H, м), 7,50-7,55 (1H, м), 6,92 (1H, с), 3,35 (6H, с), 3,12-3,19 (4H, м), 2,87-2,92 (4H, м), 2,80 (1H, с), 2,24 (3H, с).

Пример 42. Получение соединения 694



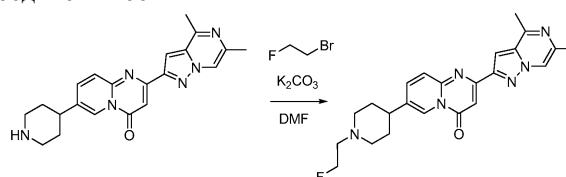
Стадия А:

К смеси 2-(4-этил-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-(пиперидин-4-ил)-4H-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (78 мг, 0,2 ммоль, полученного в соответствии с методикой, описанной в примерах 38 и 24) и 2,2-диметил-1,3-диоксан-5-она (72 мг, 0,5 ммоль, 90% техн. чист.) в дихлорэтано (1 мл) добавляли $NaBH(OAc)_3$ (106 мг, 0,5 ммоль) и 1 каплю $AcOH$. Смесь перемешивали при 60°C. Спустя 1 час, смесь гасили добавлением насыщенного $NaHCO_3$, экстрагировали CH_2Cl_2 , концентрировали и подвергали хроматографии (2-5% $MeOH$ в CH_2Cl_2) с получением 7-(1-(2,2-диметил-1,3-диоксан-5-ил)пиперидин-4-ил)-2-(4-этил-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4H-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она в виде белого твердого вещества (70 мг, 70%). МС m/z 503,5 $[M+H]^+$; ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) δ 8,75-8,82 (1H, м), 8,54-8,61 (1H, м), 8,00-8,10 (1H, м), 7,72-7,79 (1H, м), 7,58-7,63 (1H, м), 6,99-7,03 (1H, м), 3,86-3,95 (2H, м), 3,71-3,81 (2H, м), 3,06-3,15 (2H, м), 3,00-3,06 (2H, м), 2,70-2,80 (1H, м), 2,53-2,59 (1H, м), 2,45 (3H, с), 2,28-2,38 (2H, м), 1,82-1,90 (2H, м), 1,59-1,71 (2H, м), 1,32-1,37 (6H, м), 1,27 (3H, с).

Стадия В:

К смеси 7-(1-(2,2-диметил-1,3-диоксан-5-ил)пиперидин-4-ил)-2-(4-этил-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4H-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (50 мг, 0,1 ммоль) в THF (10 мл) добавляли HCl (1,3 мл, 2,6 ммоль, 2N). Смесь перемешивали при комнатной температуре. Спустя 15 ч смесь обрабатывали избытком 7N NH_3 в $MeOH$, концентрировали и подвергали хроматографии (10% 2,5 N NH_3 в $MeOH/CH_2Cl_2$) с получением указанного в заголовке соединения в виде желтого твердого вещества (45 мг, 97%). Т.пл. 228-230°C; МС m/z 463,6 $[M+H]^+$; ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) δ 8,77-8,84 (1H, м), 8,54-8,61 (1H, м), 8,02-8,10 (1H, м), 7,90-7,94 (1H, м), 7,74-7,79 (1H, м), 7,57-7,63 (1H, м), 6,99-7,05 (1H, м), 4,21-4,31 (2H, м), 3,42-3,59 (4H, м), 3,10 (2H, кв., $J=7,5$ Гц), 2,89-3,00 (2H, м), 2,70-2,72 (1H, м), 2,57-2,62 (1H, м), 2,45 (3H, с), 1,79-1,89 (2H, м), 1,63-1,75 (2H, м), 1,34 (3H, т, $J=7,5$ Гц).

Пример 43. Получение соединения 662

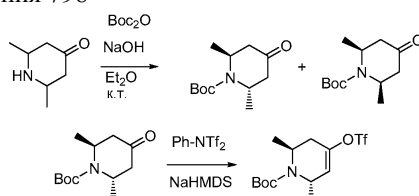


Смесь 2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-(пиперазин-1-ил)-4H-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (56 мг, 0,15 ммоль, полученного в соответствии с методикой, описанной в примере 24), 1-

бром-2-фторэтана (23 мг, 0,18 ммоль) и K_2CO_3 (23 мг, 0,18 ммоль) в DMF (1 мл) нагревали при 80°C. Спустя 7 ч смесь охлаждали до комнатной температуры и подвергали хроматографии (5% MeOH в CH_2Cl_2) с получением указанного в заголовке соединения в виде желтого твердого вещества (29 мг, 44%). Т.пл. 197-199°C; МС m/z 421,4 $[M+H]^+$; ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) δ 8,79-8,85 (1H, м), 8,55-8,60 (1H, м), 8,05-8,11 (1H, м), 7,73-7,80 (1H, м), 7,57-7,62 (1H, м), 7,02 (1H, с), 4,59-4,65 (1H, м), 4,48-4,55 (1H, м), 3,01-3,07 (2H, м), 2,69-2,75 (1H, м), 2,74 (3H, с), 2,68-2,72 (1H, м), 2,62-2,67 (1H, м), 2,43 (3H, с), 2,12-2,21 (2H, м), 1,85-1,88 (2H, м), 1,70-1,88 (2H, м).

Как представлено ниже в табл. 1, дополнительные соединения, раскрытые в настоящем документе, могут быть получены в соответствии с примером 43 путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции.

Пример 44. Получение соединения 798



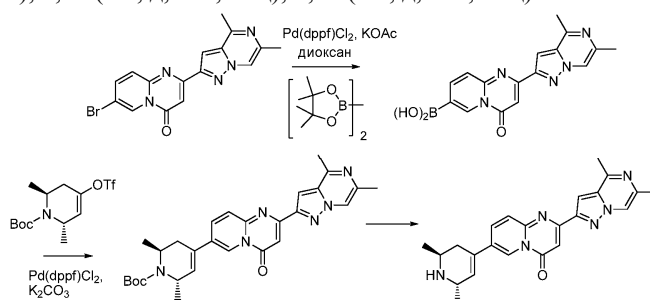
Часть 1, стадия А:

К раствору 2,6-диметилпиперидин-4-она (1,27 г, 10 ммоль, смесь транс/цис изомеров в соотношении ~1,5/1) и ди-трет-бутилдикарбоната (2,40 г, 11 ммоль) в эфире добавляли NaOH (11 мл, 11 ммоль, 1N в воде). Смесь перемешивали при комнатной температуре. Спустя 36 ч смесь экстрагировали эфиром. Органические фазы концентрировали и подвергали хроматографии (5-30% EtOAc в гексанах) с получением смеси трет-бутил-2,6-диметил-4-оксопиперидин-1-карбоксилата в виде смеси транс/цис изомеров в соотношении ~1,2/1 (1,99 г, 87%, прозрачное масло). После отстаивания в течение ночи, из масла выпадало твердое вещество, которое фильтровали и промывали эфиром с получением трет-бутил-транс-2,6-диметил-4-оксопиперидин-1-карбоксилата (0,376 г, 16%) (95% транс согласно методу ^1H -ЯМР). ^1H ЯМР (500 МГц, $CDCl_3$) δ 4,33-4,45 (2H, м), 2,80-2,90 (2H, м), 2,33-2,44 (2H, м), 1,50 (9H, с), 1,26 (6H, д, $J=6,9$ Гц).

Данные ^1H -ЯМР соответствовали таковым для транс-изомера в смеси цис- и транс-изомеров (US 200839454, JOC, 1993, 58, 1109-1117).

Часть 1, стадия В:

К раствору трет-бутил-транс-2,6-диметил-4-оксопиперидин-1-карбоксилата (266 мг, 1,17 ммоль) в THF (7 мл) при -78°C добавляли NaHMDS. Спустя 1 ч добавляли N-фенил-бис(трифторметансульфонимид) (0,50 г, 1,4 ммоль) в THF (3 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч, гасили добавлением насыщенного NH_4Cl и экстрагировали эфиром. Органические фазы концентрировали и подвергали хроматографии, элюируя 1% EtOAc в гексанах, с получением трет-бутил-транс-2,6-диметил-4-(трифторметилсульфонилокси)-5,6-дигидропиридин-1(2H)-карбоксилата (0,415 г, 98%). ^1H ЯМР (500 МГц, $CDCl_3$) δ 5,77-5,85 (1H, м), 4,29-4,44 (2H, м), 2,81-2,90 (1H, м), 2,15-2,23 (1H, м), 1,48 (9H, с), 1,37 (3H, д, $J=6,6$ Гц), 1,24 (3H, д, $J=6,6$ Гц).



Часть 2, стадия А:

Следуя методике, описанной в примере 14, часть 2, из 7-бром-2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4H-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (0,74 г, 2,0 ммоль, полученного в примере 38, стадия А), KOAc (590 мг, 6,0 ммоль), бис (пинаколато) дибора (560 мг, 2,2 ммоль) и $Pd(dppf)Cl_2 \cdot CH_2Cl_2$ (82 мг, 0,1 ммоль) в диоксане (6 мл) получали 2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4-оксо-4H-пиридо[1,2-а]пиримидин-7-илбороновую кислоту. Неочищенный промежуточный продукт использовали непосредственно на следующей стадии. МС m/z 336,3 $[M+H]^+$.

Часть 2, стадия В:

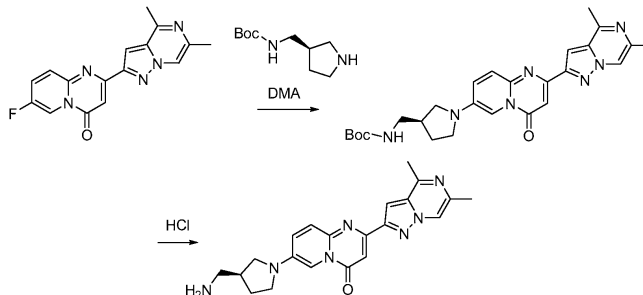
Следуя методике, описанной в примере 14, часть 3, стадия А, из 2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4-оксо-4H-пиридо[1,2-а]пиримидин-7-илбороновой кислоты (~2 ммоль), трет-бутил-транс-2,6-диметил-4-(трифторметилсульфонилокси)-5,6-дигидропиридин-1(2H)-карбоксилата (0,415 г,

1,15 ммоль), карбоната калия (3,5 мл, 2,0 М) и $\text{Pd(dppf)Cl}_2 \cdot \text{CH}_2\text{Cl}_2$ (82 мг, 0,1 ммоль) в ацетонитриле (10 мл) получали трет-бутил-4-(2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4-оксо-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-7-ил)-транс-2,6-диметил-5,6-дигидропиридин-1(2Н)-карбоксилат в виде желтого твердого вещества (0,5 г, 87%). МС m/z 501,4 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Часть 2, стадия С:

Следуя методике, описанной в примере 38, стадия С, из трет-бутил-4-(2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4-оксо-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-7-ил)-транс-2,6-диметил-5,6-дигидропиридин-1(2Н)-карбоксилата (50 мг, 0,1 ммоль) и HCl в диоксане (4М, 0,5 мл) получали указанное в заголовке соединение в виде желтого твердого вещества (25 мг, 62%). Т.пл. 228-231°C; МС m/z 401,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$; ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6) δ 8,77-8,82 (1H, м), 8,54-8,58 (1H, м), 8,25-8,32 (1H, м), 7,70-7,76 (1H, м), 7,57 (1H, с), 7,02 (1H, с), 6,50-6,58 (1H, м), 3,64-3,75 (1H, м), 3,08-3,18 (1H, м), 2,73 (3H, с), 2,41-2,44 (1H, м), 2,43 (3H, с), 1,99-2,08 (1H, м), 1,21 (3H, д, $J=6,6$ Гц), 1,16 (3H, д, $J=6,3$ Гц).

Пример 45. Получение соединения 764



Стадия А:

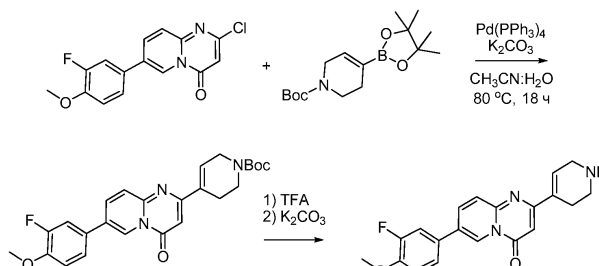
Следуя методике, описанной в примере 9, стадия Н, из 2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-фтор-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (618 мг, 2,0 ммоль), (R)-трет-бутилпирролидин-3-илметилкарбамата (481 мг, 2,4 ммоль) и DMA (2,0 мл) получали (S)-трет-бутил-(1-(2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4-оксо-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-7-ил)пирролидин-3-ил)метилкарбамат (0,90 г, 92%) в виде желтого твердого вещества. МС m/z 490,5 $[\text{M}+\text{H}]^+$; ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6) δ 8,50-8,59 (1H, м), 7,97-8,03 (1H, м), 7,72-7,82 (2H, м), 7,48-7,57 (1H, м), 7,04-7,08 (1H, м), 6,87-6,94 (1H, м), 3,41-3,50 (2H, м), 3,35-3,41 (1H, м), 2,97-3,16 (3H, м), 2,73 (3H, с), 2,47-2,51 (1H, м, замаскированный DMSO-d_6), 2,43 (3H, с), 2,04-2,16 (1H, м), 1,71-1,83 (1H, м), 1,39 (9H, с).

Стадия В:

Следуя методике, описанной в примере 38, стадия С, из (S)-трет-бутил-(1-(2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4-оксо-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-7-ил)пирролидин-3-ил)метилкарбамата (0,39 г, 0,8 ммоль), HCl (2,0 мл, 4М в диоксане) и CH_2Cl_2 (10 мл) получали указанное в заголовке соединение в виде желтого твердого вещества (0,19 г, 62%). Т.пл. 244-246°C; МС m/z 390,4 $[\text{M}+\text{H}]^+$; ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6) δ 8,52-8,57 (1H, м), 7,96-8,03 (1H, м), 7,73-7,80 (2H, м), 7,52 (1H, с), 6,90 (1H, с), 3,42-3,50 (2H, м), 3,34-3,41 (1H, м), 3,10-3,18 (1H, м), 2,73 (3H, с), 2,59-2,70 (2H, м), 2,43 (3H, с), 2,34-2,42 (1H, м), 2,09-2,16 (1H, м), 1,73-1,82 (1H, м).

Как представлено ниже в табл. 1, дополнительные соединения, раскрытые в настоящем документе, могут быть получены в соответствии с примером 45 путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции.

Пример 46. Получение соединения 294



Стадия А:

2-Хлор-7-(3-фтор-4-метоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он (182 мг, 0,6 ммоль), полученный в соответствии с примером 30, стадия А, объединяли с трет-бутил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-5,6-дигидропиридин-1(2Н)-карбоксилатом (222 мг, 0,72 ммоль), тетраakis(трифенилфосфин)палладием(0) (67 мг, 0,06 ммоль), CH_3CN (2 мл) и водным K_2CO_3 (1М, 2 мл). Смесь нагревали при 80°C в течение 18 ч. После охлаждения до комнатной температуры смесь фильтровали с получением трет-бутил-4-(7-(3-фтор-4-метоксифенил)-4-оксо-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-2-ил)-5,6-дигидропиридин-1(2Н)-карбоксилата в виде неочищенного продукта, который использовали непосредственно.

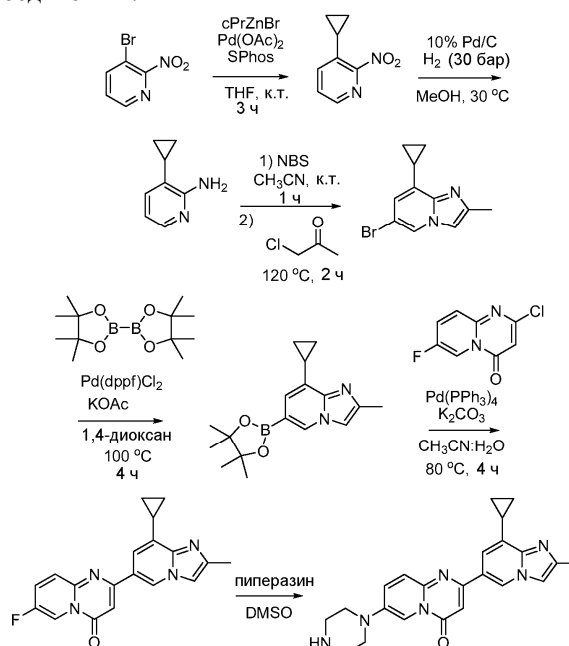
венно на следующей стадии.

Стадия В:

трет-Бутил-4-(7-(3-фтор-4-метоксифенил)-4-оксо-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-2-ил)-5,6-дигидропиридин-1(2Н)-карбоксилат, полученный на стадии А, растворяли в TFA (2 мл). Спустя 10 минут, летучие вещества удаляли под струей азота. Остаток распределяли между CH_2Cl_2 и водным K_2CO_3 (1М). Органический слой наносили на силикагель, элюируя 0-10% MeOH (3% NH_3) в CH_2Cl_2 , с получением указанного в заголовке соединения в виде белого порошка (150 мг, 72%). Т.пл. 188-192°C; МС m/z 352,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$; ^1H ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$, 500 МГц): δ 9,05 (1H, д, $J=2,3$ Гц), 8,28 (1H, дд, $J=9,4$ Гц, 2,2 Гц), 7,76 (1H, дд, $J=12,7$ Гц, 2,3 Гц), 7,70 (1H, д, $J=9,3$ Гц), 7,63 (1H, м), 7,33 (1H, т, $J=8,8$ Гц), 7,14 (1H, м), 6,44 (1H, с), 3,92 (3H, с), 3,46 (2H, м), 2,91 (2H, м), 2,39 (2H, м).

Как представлено ниже в табл. 1, дополнительные соединения, раскрытые в настоящем документе, могут быть получены в соответствии с примером 46 путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции.

Пример 47. Получение соединения 714



Стадия А:

3-Бром-2-нитропиридин (2,0 г, 10 ммоль) растворяли в THF (20 мл). К смеси добавляли 2-дициклогексилфосфино-2',6'-диметоксибифенил (205 мг, 0,5 ммоль) и ацетат палладия(II) (113 мг, 0,5 ммоль). К смеси добавляли циклопропилцинкбромид (15 ммоль, 0,5М в THF). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Смесь концентрировали и подвергали хроматографии на силикагеле, элюируя 0-5% EtOAc в CH_2Cl_2 , с получением 3-циклопропил-2-нитропиридина (1,1 г, 67%) в виде белого твердого вещества. МС m/z 165,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Стадия В:

3-Циклопропил-2-нитропиридин (1,1 г, 6,7 ммоль) растворяли в MeOH (150 мл). Раствор пропускали через картридж, содержащий 10% Pd/C, в атмосфере H_2 (30 бар) при 30°C. Раствор концентрировали с получением 3-циклопропил-2-аминопиридина (898 мг, колич.) в виде бесцветного масла. МС m/z 135,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Стадия С:

Следуя методике, описанной в примере 16, стадия А, из 3-циклопропил-2-аминопиридина (898 мг, 6,7 ммоль), N-бромсукцинимид (1,3 г, 7,4 ммоль), CH_3CN (15 мл) и хлорацетона (0,81 мл, 10 ммоль) получали 6-бром-8-циклопропил-2-метилимидазо[1,2-а]пиридин в виде рыжеватого порошка (255 мг, 15%). МС m/z 251,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 253,1 $[\text{M}+2+\text{H}]^+$.

Стадия D:

Следуя методике, описанной в примере 14, часть 2, из 6-бром-8-фтор-2-метилимидазо[1,2-а]пиридина (255 мг, 1,0 ммоль), 4,4,4',4',5,5,5',5'-октаметил-2,2'-би(1,3,2-диоксаборолана) (380 мг, 1,5 ммоль), [1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен]дихлорпалладия(II) (41 мг, 0,05 ммоль) и ацетата калия (196 мг, 2 ммоль) получали 8-циклопропил-2-метил-6-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)имидазо[1,2-а]пиридин. Неочищенный продукт использовали непосредственно на следующей стадии.

Стадия E:

Следуя методике, описанной в примере 14, часть 3, стадия А, из неочищенного 8-циклопропил-2-метил-6-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)имидазо[1,2-а]пиридина, полученного на стадии

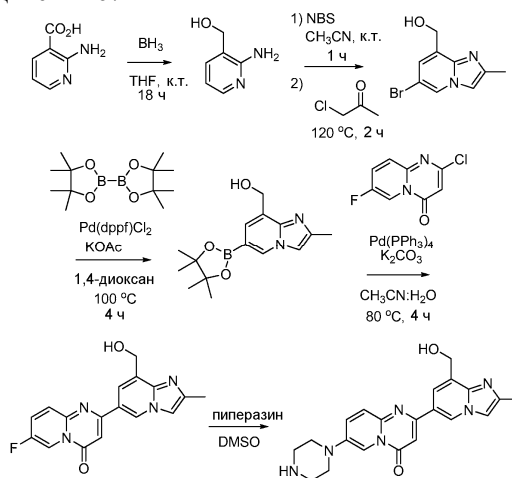
D, 2-хлор-7-фтор-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (1 ммоль, полученного в примере 14, часть 1, стадия В), тетракис(трифенилфосфин)палладия(0) (112 мг, 0,1 ммоль), CH₃CN (4 мл) и водного K₂CO₃ (1М, 4 мл) получали 2-(8-циклопропил-2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-7-фтор-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он в виде рыжеватого порошка (330 мг, 99%). МС m/z 335,2 [M+H]⁺.

Стадия F:

Следуя методике, описанной в примере 14, часть 3, стадия В, из 2-(8-циклопропил-2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-7-фтор-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (50 мг, 0,15 ммоль) и пиперазина (65 мг, 0,75 ммоль) получали указанное в заголовке соединения в виде рыжеватого порошка (38 мг, 63%). Т.пл. 274-277°C; МС m/z 401,4 [M+H]⁺; ¹H ЯМР (DMSO-d₆, 500 МГц): δ 9,14 (1H, д, J=1,7 Гц), 8,21 (1H, д, J=2,9 Гц), 8,07 (1H, дд, J=9,7 Гц, 2,8 Гц), 7,79 (1H, д, J=1,0 Гц), 7,67 (1H, д, J=9,2 Гц), 7,43 (1H, м), 6,99 (1H, с), 3,14 (4H, м), 2,89 (4H, м), 2,48 (1H, м), 2,37 (3H, с), 2,35 (1H, шир.с), 1,13 (2H, м), 1,04 (2H, м).

Как представлено ниже в табл. 1, дополнительные соединения, раскрытые в настоящем документе, могут быть получены в соответствии с примером 47 путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции.

Пример 48. Получение соединения 674



Стадия А:

2-Аминоникотиновую кислоту (4,8 г, 35 ммоль) суспендировали в THF (100 мл). К смеси добавляли комплекс боран/THF (40 ммоль, 1М в THF). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. Избыток реагента гасили добавлением водного гидроксида калия (2М, 15 мл). Смесь энергично перемешивали в течение 10 мин. Органический слой собирали и концентрировали. Остаток подвергали хроматографии на силикагеле, элюируя 0-10% MeOH в CH₂Cl₂, с получением (2-аминопиридин-3-ил)метанола (1,0 г, 23%) в виде белого твердого вещества. МС m/z 125,1 [M+H]⁺.

Стадия В:

Следуя методике, описанной в примере 16, стадия А, из (2-аминопиридин-3-ил)метанола (1,0 г, 8 ммоль), N-бромсукцинимид (1,57 г, 8,8 ммоль), CH₃CN (16 мл) и хлорацетона (0,81 мл, 10 ммоль) получали (6-бром-2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-8-ил)метанол в виде рыжеватого порошка (82 мг, 4%). МС m/z 241,1 [M+H]⁺, 243,1 [M+2+H]⁺.

Стадия С:

Следуя методике, описанной в примере 14, часть 2, из 6-бром-8-фтор-2-метилимидазо[1,2-а]пиридина (85 мг, 0,35 ммоль), 4,4,4',4',5,5,5',5'-октаметил-2,2'-би(1,3,2-диоксаборолана) (133 мг, 0,53 ммоль), [1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен]дихлорпалладия(II) (30 мг, 0,035 ммоль) и ацетата калия (69 мг, 0,7 ммоль) получали (2-метил-6-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)имидазо[1,2-а]пиридин-8-ил)метанол. Неочищенный продукт использовали непосредственно на следующей стадии.

Стадия D:

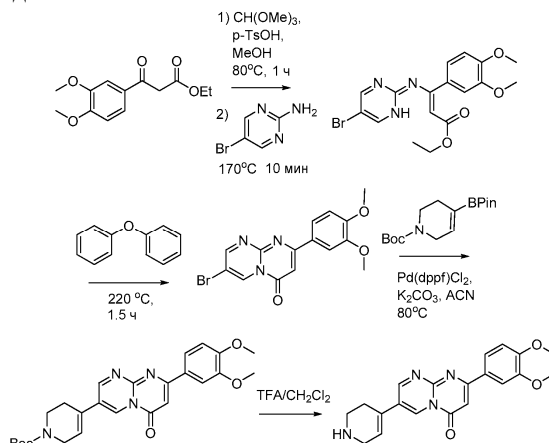
Следуя методике, описанной в примере 14, часть 3, стадия А, из неочищенного (2-метил-6-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)имидазо[1,2-а]пиридин-8-ил)метанола, полученного на стадии С, 2-хлор-7-фтор-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (0,35 ммоль, полученного в примере 14, часть 1, стадия В, тетракис(трифенилфосфин)палладия(0) (39 мг, 0,035 ммоль), CH₃CN (2 мл) и водного K₂CO₃ (1М, 2 мл) получали 7-фтор-2-(8-(гидроксиметил)-2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он в виде рыжеватого порошка (100 мг, 88%). МС m/z 325,2 [M+H]⁺.

Стадия Е:

Следуя методике, описанной в примере 14, часть 3, стадия В, из 7-фтор-2-(8-(гидроксиметил)-2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (120 мг, 0,15 ммоль) и пиперазина (65 мг, 0,75 ммоль) получали указанное в заголовке соединения в виде рыжеватого порошка (120 мг, 99%). Т.пл. >320°C; МС m/z 391,3 [M+H]⁺; ¹H ЯМР (DMSO-d₆, 500 МГц): δ 9,23 (1H, с), 8,24 (1H, д, J=2,6

Гц), 8,07 (1H, дд, J=9,7 Гц, 2,6 Гц), 7,96 (1H, с), 7,79 (1H, с), 7,73 (1H, д, J=6,7 Гц), 6,87 (1H, с), 4,86 (2H, с), 3,14 (4H, м), 2,89 (4H, м), 2,37 (3H, с).

Пример 49. Получение соединения 353



Стадия А:

Этил-3-(3,4-диметоксифенил)-оксопропаноат (907 мг, 3,6 ммоль) растворяли в метаноле (2 мл). К раствору добавляли моногидрат пара-толуолсульфоновой кислоты (34,2 мг, 0,18 ммоль), а затем триметилортоформиат (0,59 мл, 5,4 ммоль). Раствор перемешивали при 80°C в течение 1 ч. Летучие вещества удаляли под струей азота. К неочищенному веществу добавляли 5-бромпиридин-2-амин (550 мг, 3,1 ммоль) и дифениловый эфир (2 мл). Смесь нагревали при 170°C в течение 10 мин. Реакционную смесь пропускали через флэш-колонку с силикагелем (33% гексаны в CH₂Cl₂) с получением этил-3-(5-бромпиридин-2(1H)-илиденамино)-3-(3,4-диметоксифенил)акрилата в виде желтого твердого вещества. МС m/z 408,0 [M+H]⁺, 410,0 [M+2+H]⁺.

Стадия В:

К этил-3-(5-бромпиридин-2(1H)-илиденамино)-3-(3,4-диметоксифенил)акрилату добавляли дифениловый эфир (2 мл). Реакционную смесь нагревали до 220°C в течение 1,5 ч. Смесь очищали методом хроматографии (100%CH₂Cl₂) с получением 7-бром-2-(3,4-диметоксифенил)-4H-пиримидо[1,2-а]пиримидин-4-она (314 мг, 28% в 2 этапа) в виде желтого твердого вещества. МС m/z 361,9 [M+H]⁺, 363,9 [M+2+H]⁺; ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆): δ 9,30 (1H, д, J=2,7 Гц), 9,20 (1H, д, J=2,9 Гц), 7,88 (1H, дд, J=8,5 Гц, 2,6 Гц), 7,79 (1H, д, J=2,2 Гц), 7,15 (1H, с), 7,11 (1H, д, J=8,5 Гц), 3,88 (3H, с), 3,85 (3H, с).

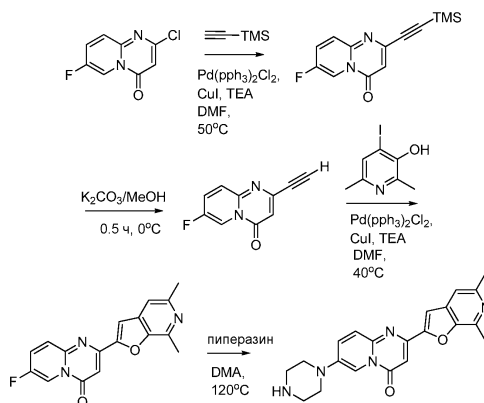
Стадия С:

Смесь 7-бром-2-(3,4-диметоксифенил)-4H-пиримидо[1,2-а]пиримидин-4-она (53,7 мг, 0,15 ммоль), трет-бутил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-5,6-дигидропиридин-1(2H)-карбоксилата (50,5 мг, 0,016 ммоль), Pd(dppf)Cl₂ (11 мг, 0,015 ммоль), K₂CO₃ (62,2 мг, 0,45 ммоль), и ACN (1 мл) дегазировали, а затем нагревали в атмосфере N₂ при 80°C в течение ночи. Летучие вещества удаляли и использовали остаток на следующей стадии без очистки. МС m/z 465,4 [M+H]⁺.

Стадия D:

Раствор трет-бутил-4-(2-(3,4-диметоксифенил)-4-оксо-4H-пиримидо[1,2-а]пиримидин-7-ил)-5,6-дигидропиридин-1(2H)-карбоксилата в CH₂Cl₂/TFA (0,5 мл/0,5 мл) перемешивали при 0°C в течение 2 ч. После удаления большей части TFA и CH₂Cl₂ на ротонном испарителе к реакционной смеси добавляли ледяной насыщенный NaHCO₃. Смесь экстрагировали CH₂Cl₂. Органический слой сушили над MgSO₄, концентрировали и подвергали хроматографии (5% MeOH в CH₂Cl₂) с получением указанного в заголовке соединения в виде желтого твердого вещества. МС m/z 365, 1 [M+H]⁺.

Пример 50. Получение соединения 486



Стадия А:

Смесь 2-хлор-7-фтор-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (995 мг, 5 ммоль, полученного в примере 14, часть 1), CuI (19,0 мг, 0,1 ммоль), PdCl₂(PPh₃)₂ (70,2 мг, 0,1 ммоль), этилтриметилсилана (2,1 мл, 15 ммоль), триэтиламина (2,1 мл, 15 ммоль) в DMF (10 мл) дегазировали, а затем нагревали в атмосфере N₂ при 50°C в течение ночи. Летучие вещества удаляли и использовали неочищенный 7-фтор-2-((триметилсилил)этинил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он на следующей стадии. МС m/z 261,1 [M+H]⁺.

Стадия В:

К раствору неочищенного 7-фтор-2-((триметилсилил)этинил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она в MeOH (33 мл) добавляли карбонат калия (1,0 г, 7,5 ммоль). Смесь перемешивали при 0°C в течение 0,5 ч. После удаления MeOH на ротонном испарителе добавляли воду. Осадок фильтровали и очищали методом хроматографии на силикагеле (8% EtOAc в CH₂Cl₂) с получением 2-этинил-7-фтор-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (192,1 мг, 20% в 2 этапа) в виде желтого твердого вещества. МС m/z 189, 1 [M+H]⁺.

Стадия С:

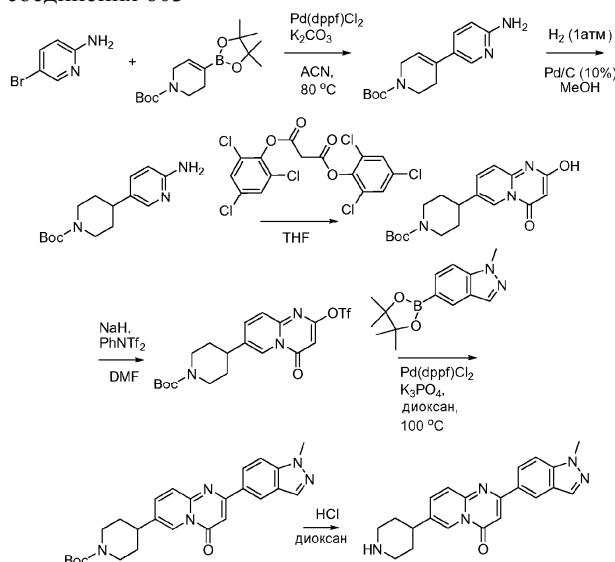
Смесь 2-этинил-7-фтор-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (192,1 мг, 1,0 ммоль), 4-йод-2,6-диметилпиридин-3-ола (305,3 мг, 1,2 ммоль), CuI (9,7 мг, 0,05 ммоль), PdCl₂(PPh₃)₂ (35,8 мг, 0,05 ммоль), триэтиламина (288 мкл, 2 ммоль) в DMF (1,7 мл) дегазировали, а затем нагревали в атмосфере N₂ при 40°C в течение ночи. После удаления большей части DMF добавляли воду. Осадок фильтровали и очищали методом хроматографии (14% EtOAc в CH₂Cl₂) с получением 2-(5,7-диметилфуро[2,3-с]пиридин-2-ил)-7-фтор-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (126,3 мг, 41%) в виде желтого твердого вещества. МС m/z 310,1 [M+H]⁺.

Стадия D:

К раствору 2-(5,7-диметилфуро[2,3-с]пиридин-2-ил)-7-фтор-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (46,4 мг, 0,15 ммоль) в DMA (0,5 мл) добавляли пиперазин (64,6 мг, 0,75 ммоль). Реакционную смесь нагревали при 120°C в течение 2 ч. После удаления большей части DMA к реакционной смеси добавляли CH₃CN и формировался осадок. Осадок фильтровали, промывали водой и сушили с получением указанного в заголовке соединения в виде желтого твердого вещества (30 мг, 53%). Т.пл. 198-200°C; МС m/z 376,3 [M+H]⁺; ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆): δ 8,25 (1H, д, J=2,5 Гц), 8,13 (1H, дд, J=9,9 Гц, 2,5 Гц), 7,73 (1H, д, J=9,8 Гц), 7,64 (1H, с), 7,41 (1H, с), 6,94 (1H, с), 3,17 (4H, м), 2,90 (4H, м), 2,71 (3H, с), 2,51 (3H, с), 2,07 (1H, с).

Как представлено ниже в табл. 1, дополнительные соединения, раскрытые в настоящем документе, могут быть получены в соответствии с примером 50 путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции.

Пример 51. Получение соединения 603



Стадия А:

Смесь 5-бромпиридин-2-амина (433 мг, 2,5 ммоль), трет-бутил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксaborolan-2-ил)-5,6-дигидропиридин-1(2H)-карбоксилата (928 мг, 3,0 ммоль), PdCl₂dppf (204 мг, 0,25 ммоль), K₂CO₃ (1,04 г, 7,5 ммоль) в ацетонитриле (8,0 мл) дегазировали, а затем перемешивали при 80°C в течение ночи. Летучие вещества удаляли и подвергали остаток хроматографии, элюируя 7% MeOH в CH₂Cl₂ с получением трет-бутил-4-(6-аминопиридин-3-ил)-5,6-дигидропиридин-1(2H)-карбоксилата в виде светло-желтого масла (599 мг, 87%). МС m/z 276,3 [M+H]⁺.

Стадия В:

Раствор продукта (599 мг, 2,2 ммоль), полученного на стадии А, в метаноле (10 мл) гидрировали с использованием Pd/C (10%, 60 мг) в шейкере Парра (60 фунт/кв.дюйм) в течение ночи. Смесь фильтро-

вали через целит, упаривали и подвергали хроматографии, элюируя 7% MeOH в DCM, с получением трет-бутил-4-(6-аминопиридин-3-ил)пиперидин-1-карбоксилата в виде коричневого масла (600 мг, 99%). MS m/z 278,3 $[M+H]^+$.

Стадия С:

Смесь продукта (600 мг, 2,2 ммоль), полученного на стадии В, и бис(2,4,6-трихлорфенил)малоната (1,0 г, 2,2 ммоль) в THF (8,0 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Смесь затем фильтровали и промывали твердое вещество DCM. Осадок на фильтре собирали и сушили с получением трет-бутил-4-(2-гидрокси-4-оксо-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-7-ил)пиперидин-1-карбоксилата в виде не совсем белого твердого вещества (455 мг, 63%). MS m/z 346,4 $[M+H]^+$.

Стадия D:

К раствору продукта (455 мг, 1,3 ммоль), полученного на стадии С, в DMF (6 мл) при комнатной температуре добавляли NaN (60%, 62 мг, 1,6 ммоль). Смесь перемешивали в течение 15 мин, а затем одной порцией добавляли N-фенилбис(трифторметансульфонамид) (511 мг, 1,4 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Путем обработки водой продукта реакции с последующей очисткой 3% MeOH в CH₂Cl₂ получали трет-бутил-4-(4-оксо-2-(трифторметилсульфонилокси)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-7-ил)пиперидин-1-карбоксилат в виде не совсем белого твердого вещества (521 мг, 84%).

Стадия E:

Смесь продукта (300 мг, 0,62 ммоль), полученного на стадии D, 1-метил-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1Н-индазола (142 мг, 0,81 ммоль), PdCl₂dppf (51 мг, 0,062 ммоль), K₃PO₄ (193 мг, 0,93 ммоль) в диоксане (2,0 мл) дегазировали, а затем перемешивали при 100°C в течение ночи.

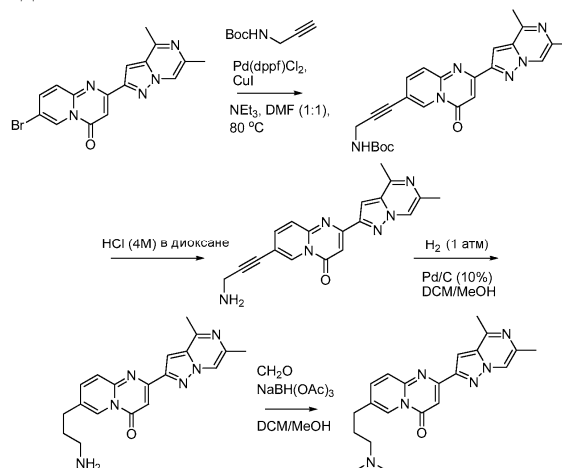
Летучие вещества удаляли, и подвергали остаток хроматографии, элюируя 10% MeOH в CH₂Cl₂, с получением трет-бутил-4-(2-(1-метил-1Н-индазол-5-ил)-4-оксо-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-7-ил)пиперидин-1-карбоксилата с некоторым количеством примесей (~300 мг), который использовали непосредственно на следующей стадии. MS m/z 460,5 $[M+H]^+$.

Стадия F:

Следуя методике, описанной в примере 22, стадия D, из продукта (~300 мг), полученного на стадии E, и HCl в диоксане (4М, 5 мл) получали указанное в заголовке соединение в виде белого твердого вещества (196 мг, 88%, в 2 этапа). Т.пл. 268-270°C; MS m/z 360,4 $[M+H]^+$; ¹H ЯМР (DMSO-d₆, 500 МГц) δ 8,75 (с, 1H), 8,70 (с, 1H), 8,27 (дд, J=9, 0 Гц, 1,6 Гц, 1H), 8,21 (с, 1H), 8,00 (дд, J=9 Гц, 1,6 Гц, 1H), 7,76 (д, J=9 Гц, 2H), 7,06 (с, 1H), 4,10 (с, 3H), 3,06 (д, J=10 Гц, 2H), 2,84-2,79 (м, 1H), 2,64-2,59 (м, 2H), 2,04 (шир.с, 1H), 1,81 (д, J=10 Гц, 2H), 1,56-1,53 (м, 2H).

Как представлено ниже в табл. 1, дополнительные соединения, раскрытые в настоящем документе, могут быть получены в соответствии с примером 51 путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции.

Пример 52. Получение соединения 769



Стадия A:

В высушенную в печи и заполненную аргоном колбу добавляли 7-бром-2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он (270 мг, 0,73 ммоль, полученный в примере 38, стадия A), CuI (3,4 мг, 5%), PdCl₂(PPh₃)₂ (30 мг, 5%), триэтиламин (1 мл) и DMF (1 мл). Полученную смесь трижды продували аргоном, а затем добавляли раствор трет-бутилпроп-2-инилкарбамата (0,14 г, 0,88 ммоль) в DMF (1 мл). Смесь нагревали при 80°C в течение ночи, а затем охлаждали до комнатной температуры. После добавления воды полученные твердые вещества фильтровали и последовательно промывали водой и CH₃CN с получением трет-бутил-3-(2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4-оксо-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-7-ил)проп-2-инилкарбамата (260 мг, 80%). MS m/z 445,2 $[M+H]^+$.

Стадия В:

Следуя методике, описанной в примере 22, стадия D, из продукта (100 мг, 0,23 ммоль), полученного на стадии А, и HCl в диоксане (4М, 3 мл) получали 7-(3-аминопроп-1-инил)-2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он в виде не совсем белого твердого вещества (50 мг, 66%). МС m/z 345,4 [M+H]⁺.

Стадия С:

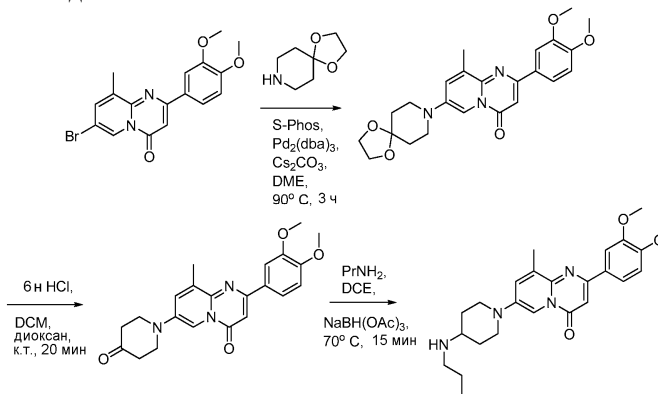
Продукт (50 мг, 0,15 ммоль), полученный на стадии С, смешивали с Pd/C (10%, 5 мг) в смеси дихлорметан/метанол (1/1, 2 мл) и перемешивали в атмосфере водорода (1 атм) в течение ночи. Реакционную смесь фильтровали через целит, концентрировали и подвергали хроматографии на колонке с силикагелем, элюируя CH₂Cl₂/MeOH (85/15), с получением 7-(3-аминопропил)-2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (45 мг, 89%). МС m/z 349,3 [M+H]⁺.

Стадия D:

Следуя методике, описанной в примере 23, из продукта (45 мг, 0,13 ммоль), полученного на стадии В, формальдегида (0,05 мл, 37%, ~0,8 ммоль) и триацетоксиборгидрида натрия (50 мг, 0,24 ммоль) в смеси дихлорметан/метанол (10/1, 1 мл) получали указанное в заголовке соединение в виде белого твердого вещества (20 мг, 41%). Т.пл. 136-138°C; МС m/z 377,3 [M+H]⁺. ¹H ЯМР (DMSO-d₆, 500 МГц) δ 8,84 (д, J=1,6 Гц, 1H), 8,58 (д, J=1,6 Гц, 1H), 8,00 (д, J=9 Гц, 1H), 7,77 (д, J=9 Гц, 1H), 7,60 (д, J=1,6 Гц, 1H), 7,02 (с, 1H), 2,79-2,75 (м, 5H), 2,45 (с, 3H), 2,25 (т, J=10 Гц, 2H), 2,15 (шир.с, 6H), 1,83-1,76 (м, 2H).

Как представлено ниже в табл. 1, дополнительные соединения, раскрытые в настоящем документе, могут быть получены в соответствии с примером 52 путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции.

Пример 53. Получение соединения 407



Стадия А:

Смесь 7-бром-2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (1,5 г, 4,0 ммоль, полученного способом, описанным в примере 22, стадии А и В), 1,4-диокса-8-азаспири[4.5]декан-8-ила (660 мкл, 5,05 ммоль), S-Phos (140 мг, 0,34 ммоль), Pd₂(dba)₃ (92 мг, 0,1 ммоль), Cs₂CO₃ (3,0 г, 9,2 ммоль), и DME (12 мл) нагревали в атмосфере аргона при 90°C в течение 3 ч. Реакционную смесь затем суспендировали в растворе CH₂Cl₂ и ацетона и фильтровали. Фильтрат концентрировали в условиях вакуума. Путем проведения хроматографии на силикагеле (1/1 CH₂Cl₂/EtOAc, а затем 20% ацетона в CH₂Cl₂) с последующим растиранием с гексанами/эфиром (1/1) получали 2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-7-(1,4-диокса-8-азаспири[4.5]декан-8-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он (878 мг, 50%) в виде желтого твердого вещества. МС m/z 438,2 [M+H]⁺.

Стадия В:

Раствор 2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-7-(1,4-диокса-8-азаспири[4.5]декан-8-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (875 мг, 2,0 ммоль) в CH₂Cl₂/диоксане (1/1 об./об., 28 мл) обрабатывали 6N HCl (7 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 20 мин, а затем подщелачивали добавлением K₂CO₃. Смесь экстрагировали введением в CH₂Cl₂. Органический слой сушили над MgSO₄, фильтровали и концентрировали в условиях вакуума. Путем растирания с гексанами/ацетоном (1/1) получали 2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-7-(4-оксопиперидин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он (758 мг, 96%) в виде желтого твердого вещества. МС m/z 394,3 [M+H]⁺; ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆): δ 8,27 (1H, d J=2,5 Гц), 8,08 (1H, с), 7,85 (1H, дд, J=8,5 Гц, 2,5 Гц), 7,81 (1H, м), 7,09 (1H, д, J=8,5 Гц), 6,96 (1H, с), 3,88 (3H, с), 3,84 (3H, с), 3,67 (4H, т, J=6 Гц), 2,64 (3H, с), 2,53 (4H, м, замаскированный DMSO-d₆).

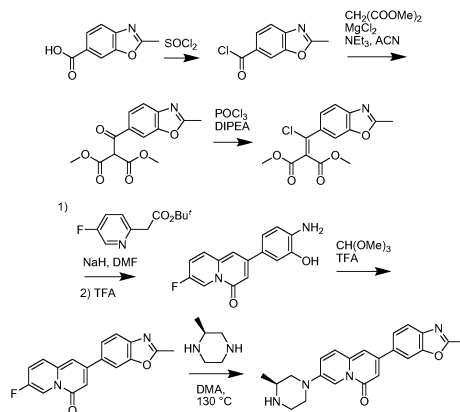
Стадия С:

Смесь 2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-7-(4-оксопиперидин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (50 мг, 0,13 ммоль), NaBH(OAc)₃ (65 мг, 0,31 ммоль), DCE (500 мкл) и н-пропиламина (40 мкл, 0,49 ммоль) нагревали при 70°C в течение 15 мин. Реакционную смесь распределяли между водным K₂CO₃ и CH₂Cl₂. Органический слой концентрировали в условиях вакуума. Путем проведения хроматографии на силикагеле (10% MeOH в CH₂Cl₂, а затем CH₂Cl₂/MeOH/NH₄OH=9/1/0,1) получали указанное в заголовке соединение (47 мг, 87%) в виде желтого твердого вещества. Т.пл. 178-184°C; МС m/z 437,5 [M+H]⁺; ¹H

ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆): δ 8,17 (1H, д, J=3 Гц), 8,00 (1H, м), 7,84 (1H, дд, J=8,5 Гц, 2 Гц), 7,80 (1H, д, J=2 Гц), 7,08 (1H, д, J=8,5 Гц), 6,95 (1H, с), 3,88 (3H, с), 3,84 (3H, с), 3,67 (2H, д, J=12,5 Гц), 2,84 (2H, т, J=12,5 Гц), 2,61 (3H, с), 2,57 (1H, м), 2,54 (2H, м, замаскированный DMSO-d₆ пик), 1,95 (2H, д, J=12,5 Гц), 1,41 (4H, м), 0,89 (3H, т, J=7,5 Гц).

Как представлено ниже в табл. 1, дополнительные соединения, раскрытые в настоящем документе, могут быть получены в соответствии с примером 53 путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции.

Пример 54. Получение соединения 322



Стадия А:

В смесь 2-метилбензо[d]оксазол-6-карбоновой кислоты (2,54 г, 14,4 ммоль) и SOCl₂ (2,05 г, 17,2 ммоль) в толуоле (70 мл) добавляли 6 капель DMF. Затем, смесь перемешивали при 70°C в течение 3 ч, охлаждали и упаривали с получением 2-метилбензо[d]оксазол-6-карбонилхлорида в виде масла, которое отверждалось при отстаивании (2,9 г, 100%). ¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 8,27-8,30 (1H, м), 8,13 (1H, дд, J=8,4, 1,7 Гц), 7,74 (1H, дд, J=8,5, 0,6 Гц), 2,73 (3H, с).

Стадия В:

Следуя методике, описанной в примере 31, часть 1, стадия А, путем осуществления взаимодействия 2-метилбензо[d]оксазол-6-карбонилхлорида (2,9 г, 14,4 ммоль), диметилмалоната (1,9 г, 14,4 ммоль), MgCl₂ (1,37 г, 14,4 ммоль) и триэтиламина (2,9 мл, 28,8 ммоль) в ацетонитриле (15 мл) получали диметил-2-(2-метилбензо[d]оксазол-6-карбонил)малонат (2,75 г, 66%). МС m/z 292,0 [M+H]⁺.

Стадия С:

Следуя методике, описанной в примере 31, часть 1, стадия В, путем осуществления взаимодействия диметил-2-(2-метилбензо[d]оксазол-6-карбонил)малоната (2,75 г, 9,5 ммоль), POCl₃ (10 мл) и DIPEA (2,6 мл, 15,8 ммоль) получали диметил-2-(хлор(2-метилбензо[d]оксазол-6-ил)метил)малонат (0,7 г, 24%). МС m/z 310,1 [M+H]⁺.

Стадия D:

Следуя методике, описанной в примере 33, стадия В и С, путем осуществления взаимодействия диметил-2-(хлор(2-метилбензо[d]оксазол-6-ил)метил)малоната (0,7 г, 2,3 ммоль), трет-бутил-2-(5-фторпиридин-2-ил)ацетата (0,57 г, 2,7 ммоль), полученного в примере 33, стадия А, NaH (0,18 г, 4,5 ммоль) в DMF, с последующим осуществлением взаимодействия с TFA и водой при 100°C получали 2-(4-амино-3-гидроксифенил)-7-фтор-4Н-хинолизин-4-он (0,3 г, 48%). МС m/z 271,2 [M+H]⁺.

Стадия Е:

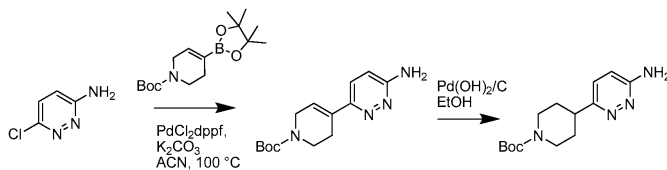
В смесь 2-(4-амино-3-гидроксифенил)-7-фтор-4Н-хинолизин-4-она (0,3 г, 1,1 ммоль) и триметилортоформиата (1,4 мл, 11,1 ммоль) добавляли TFA (0,13 мл, 1,8 ммоль). Смесь перемешивали в течение 2 часов при комнатной температуре, а затем упаривали с получением 7-фтор-2-(2-метилбензо[d]оксазол-6-ил)-4Н-хинолизин-4-она (0,3 г, 99%). МС m/z 295,2 [M+H]⁺.

Стадия F:

Смесь 7-фтор-2-(2-метилбензо[d]оксазол-6-ил)-4Н-хинолизин-4-она (0,15 г, 0,51 ммоль) и (S)-2-метилпиперазина (0,2 г, 2,0 ммоль) в DMA (1,0 мл) перемешивали при 130°C в течение ночи. Растворитель удаляли под струей азота, и очищали остаток метанолом в дихлорметане (10%) с получением указанного в заголовке соединения в виде желтого твердого вещества (69 мг, 36%). Т.пл. 115-117°C; МС m/z 375,3 [M+H]⁺; ¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 8,55 (1H, д, J=2,2 Гц), 7,79 (1H, д, J=1,3 Гц), 7,73 (1H, д, J=7,9 Гц), 7,64 (1H, дд, J=8,2, 1,6 Гц), 7,49 (1H, д, J=9,5 Гц), 7,33 (1H, д, J=2,5 Гц), 6,86-6,91 (2H, м), 3,60 (2H, шир.с), 3,25-3,34 (1H, м), 3,10-3,22 (2H, м), 2,93-3,03 (1H, м), 2,62-2,70 (4H, м), 1,31 (3H, д, J=6,3 Гц).

Как представлено ниже в табл. 1, дополнительные соединения, раскрытые в настоящем документе, могут быть получены в соответствии с примером 54 путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции.

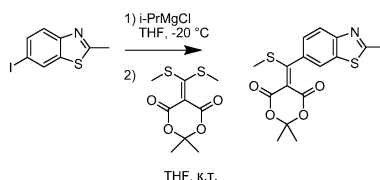
Пример 55. Получение соединения 380



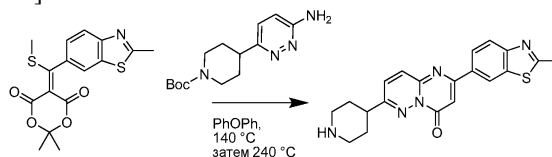
Часть 1, стадия А: Смесь 6-хлорпиридазин-3-амин (0,26 г, 2,0 ммоль), трет-бутил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксaborolan-2-ил)-5,6-дигидропиридин-1(2Н)-карбоксилата (0,62 г, 2,0 ммоль), PdCl₂dppf (0,16 г, 0,2 ммоль), K₂CO₃ (2,0М, 3,0 мл, 6,0 ммоль) в ацетонитриле (6,0 мл) перемешивали при 100 °С в течение ночи. Путем обработки продукта водой с последующей очисткой метанолом в дихлорметане (0-10%) получали трет-бутил-4-(6-аминопиридазин-3-ил)-5,6-дигидропиридин-1(2Н)-карбоксилат (0,51 г, 93%). МС m/z 277,2 [M+H]⁺.

Часть 1, стадия В:

Раствор трет-бутил-4-(6-аминопиридазин-3-ил)-5,6-дигидропиридин-1(2Н)-карбоксилата (0,4 г, 1,4 ммоль) в этаноле (25 мл) гидрировали с использованием Pd(OH)₂ на угле (20%, 0,2 г) в шейкере Парра (60 фунт/кв.дюйм) в течение ночи. Смесь фильтровали через целит, упаривали и очищали метанолом в дихлорметане (0-10%) с получением трет-бутил-4-(6-аминопиридазин-3-ил)пиперидин-1-карбоксилата (0,25 г, 62%). МС m/z 279,2 [M+H]⁺.



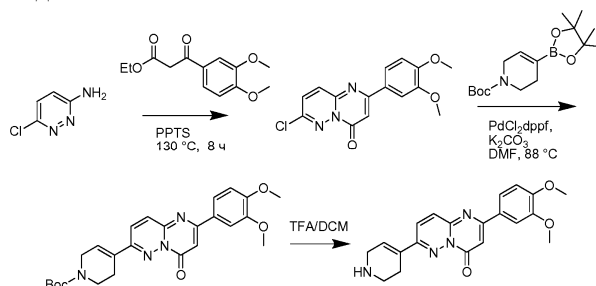
Часть 2: В раствор 6-йод-2-метилбензо[d]тиазола (2,24 г, 7,3 ммоль) в THF (15 мл) при -20 °С добавляли i-PrMgCl в THF (2,0М, 3,7 мл, 7,4 ммоль). Смесь поддерживали при температуре от -10 до -20 °С в течение 1 ч, а затем переносили через канюлю к раствору 5-(бис(метилтио)метил)-2,2-диметил-1,3-диоксан-4,6-диона (1,4 г, 5,6 ммоль) в THF (15 мл). Реакция была слегка экзотермической. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 90 мин, после чего гасили добавлением водного раствора NH₄Cl. Путем обработки продукта водой с последующей очисткой этилацетатом в дихлорметане (0-10%) получали 2,2-диметил-5-((2-метилбензо[d]тиазол-6-ил)(метилтио)метил)-1,3-диоксан-4,6-дион (1,26 г, 64%). МС m/z 350,1 [M+H]⁺.



Часть 3:

Смесь 2,2-диметил-5-((2-метилбензо[d]тиазол-6-ил)(метилтио)метил)-1,3-диоксан-4,6-диона (0,13 г, 0,36 ммоль) и трет-бутил-4-(6-аминопиридазин-3-ил)пиперидин-1-карбоксилата (0,1 г, 0,36 ммоль) в дифениловом эфире (2,0 мл) перемешивали при 140 °С в течение 1 ч. Затем температуру повышали до 240 °С и перемешивали в течение 30 мин. Смесь упаривали и очищали остаток методом препаративной HPLC с получением указанного в заголовке соединения в виде желтого твердого вещества (33 мг, 24%). Т.пл. 230-235 °С; МС m/z 378,2 [M+H]⁺; ¹Н ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 8,87-8,92 (1H, м), 8,28-8,33 (1H, м), 8,08 (1H, д, J=9,1 Гц), 7,99-8,04 (1H, м), 7,79 (1H, с), 7,26 (1H, с), 3,41-3,48 (2H, м), 3,22-3,32 (1H, м), 3,03-3,11 (2H, м), 2,84 (3H, с), 2,14-2,22 (2H, м), 2,08 (1H, с), 1,92-2,03 (2H, м).

Пример 56. Получение соединения 398



Стадия А:

Следуя методике, описанной в примере 9, стадия G, путем осуществления взаимодействия 6-хлорпиридазин-3-амин (0,65 г, 5,0 ммоль), этил-3-(3,4-диметоксифенил)-3-оксoproпаноата (1,77 г, 7,0 ммоль) и PPTs (63 мг, 0,25 ммоль) получали 7-хлор-2-(3,4-диметоксифенил)-4Н-пиримидо[1,2-*b*]пиридазин-4-он (0,23 г, 14%). МС m/z 318,1 [M+H]⁺.

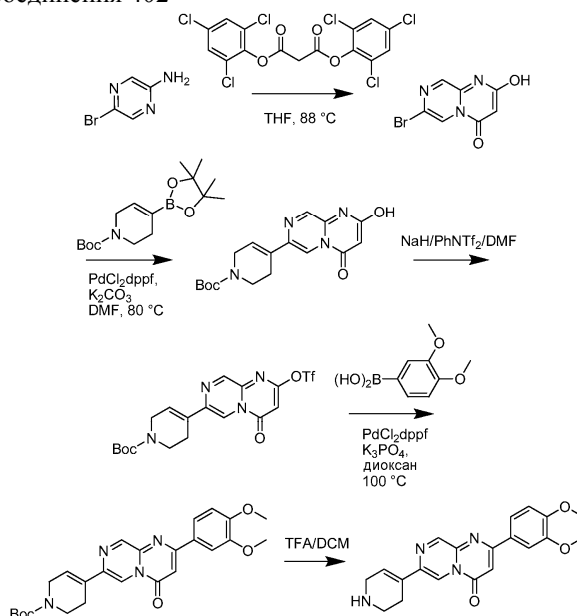
Стадия В:

Следуя методике, описанной в примере 34, стадия С, путем осуществления взаимодействия 7-хлор-2-(3,4-диметоксифенил)-4Н-пиримидо[1,2-б]пиридазин-4-она (0,12 г, 0,38 ммоль), трет-бутил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-5,6-дигидропиридин-1(2Н)-карбоксилата (0,14 г, 0,45 ммоль), PdCl₂dppf (35 мг, 0,038 ммоль), K₂CO₃ (2,0М, 0,6 мл, 1,2 ммоль) в ацетонитриле (1,2 мл) получали трет-бутил-4-(2-(3,4-диметоксифенил)-4-оксо-4Н-пиримидо[1,2-б]пиридазин-7-ил)-5,6-дигидропиридин-1(2Н)-карбоксилат (100 мг, 56%). МС m/z 465,3 [M+H]⁺.

Стадия С:

Следуя методике, описанной в примере 34, стадия D, путем обработки трет-бутил-4-(2-(3,4-диметоксифенил)-4-оксо-4Н-пиримидо[1,2-б]пиридазин-7-ил)-5,6-дигидропиридин-1(2Н)-карбоксилата (100 мг, 0,21 ммоль) TFA (1,0 мл) и дихлорметаном (1,0 мл) получали указанное в заголовке соединение в виде желтого твердого вещества (50 мг, 65%). Т.пл. 195-200°C; МС m/z 365,3 [M+H]⁺; ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 8,13 (1H, д, J=9,8 Гц), 7,96 (1H, д, J=9,8 Гц), 7,82 (1H, дд, J=8,5, 2,2 Гц), 7,74 (1H, д, J=2,2 Гц), 7,15 (1H, с), 7,08 (1H, д, J=8,8 Гц), 7,01 (1H, шир.с), 3,87 (3H, с), 3,83 (3H, с), 3,57 (2H, шир.с), 3,00 (2H, шир.с), 2,58 (2H, шир.с).

Пример 57. Получение соединения 402



Стадия А:

Смесь 5-бромпиразин-2-амин (0,17 г, 1,0 ммоль) и бис(2,4,6-трихлорфенил)малоната (0,56 г, 1,2 ммоль) в THF (4,0 мл) перемешивали при 88°C в течение 1 ч. Затем смесь фильтровали и промывали твердое вещество этилацетатом. Осадок на фильтре собирали и сушили с получением 7-бром-2-гидроксипиразино[1,2-а]пиримидин-4-она (0,18 г, 74%). МС m/z 242,0 [M+H]⁺, 244,0 [M+2+H]⁺.

Стадия В:

Следуя методике, описанной в примере 34, стадия С, путем осуществления взаимодействия 7-бром-2-гидроксипиразино[1,2-а]пиримидин-4-она (0,18 г, 0,74 ммоль), трет-бутил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-5,6-дигидропиридин-1(2Н)-карбоксилата (0,27 г, 0,89 ммоль), PdCl₂dppf (60 мг, 0,074 ммоль), K₂CO₃ (0,31 г, 2,2 ммоль) в DMF (2,5 мл) получали трет-бутил-4-(2-гидроксипиразино[1,2-а]пиримидин-7-ил)-5,6-дигидропиридин-1(2Н)-карбоксилат (0,18 г, 70%). МС m/z 345,3 [M+H]⁺.

Стадия С:

В раствор трет-бутил-4-(2-гидроксипиразино[1,2-а]пиримидин-7-ил)-5,6-дигидропиридин-1(2Н)-карбоксилата (0,18 г, 0,52 ммоль) в DMF (3,0 мл) при комнатной температуре добавляли NaH (60%, 23 мг, 0,57 ммоль). Смесь перемешивали в течение 15 мин, а затем одной порцией добавляли PhNTf₂ (0,22 г, 0,62 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи. Путем обработки продукта водой с последующей очисткой этилацетатом в дихлорметане (0-20%) получали трет-бутил-4-(4-оксо-2-(трифторметилсульфонилокси)-4Н-пиразино[1,2-а]пиримидин-7-ил)-5,6-дигидропиридин-1(2Н)-карбоксилат (0,1 г, 40%). МС m/z 377,1 [M-Boc+H]⁺.

Стадия D:

Смесь трет-бутил-4-(4-оксо-2-(трифторметилсульфонилокси)-4Н-пиразино[1,2-а]пиримидин-7-ил)-5,6-дигидропиридин-1(2Н)-карбоксилата (80 мг, 0,17 ммоль), 3,4-диметоксифенилбороновой кислоты (46 мг, 0,25 ммоль), PdCl₂dppf (14 мг, 0,017 ммоль), K₃PO₄ (54 мг, 0,25 ммоль) в диоксане (2,0 мл) перемешивали при 100°C в течение 24 ч. Смесь фильтровали, упаривали и очищали этилацетатом в дихлорметане

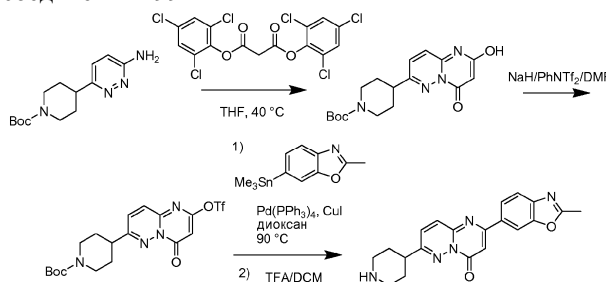
(0-20%) с получением трет-бутил-4-(2-(3,4-диметоксифенил)-4-оксо-4Н-пиразино[1,2-а]пиримидин-7-ил)-5,6-дигидропиридин-1 (2Н)-карбоксилата (43 мг, 55%). ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ 9,10 (1H, c), 8,61 (1H, c), 7,72 (1H, c), 7,70 (1H, д, $J=1,8$ Гц), 7,00 (3H, м), 4,19-4,26 (2H, м), 4,03 (3H, c), 3,98 (3H, c), 3,69-3,76 (2H, м), 2,56-2,67 (2H, м), 1,51 (9H, c).

Стадия Е:

Следуя методике, описанной в примере 34, стадия D, путем обработки трет-бутил-4-(2-(3,4-диметоксифенил)-4-оксо-4Н-пиразино[1,2-а]пиримидин-7-ил)-5,6-дигидропиридин-1(2Н)-карбоксилата (43 мг, 0,09 ммоль) TFA (1,0 мл) и дихлорметаном (1,0 мл) получали указанное в заголовке соединения в виде желтого твердого вещества (34 мг, 100%). Т.пл. 205-208°C; МС m/z 365,4 $[\text{M}+\text{H}]^+$; ^1H ЯМР (500 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9,15 (1H, д, $J=0,9$ Гц), 8,41 (1H, c), 7,85-7,94 (1H, м), 7,78 (1H, д, $J=1,9$ Гц), 7,27 (1H, c), 7,11 (1H, д, $J=8,5$ Гц), 6,97-7,05 (1H, м), 3,89 (3H, c), 3,84 (3H, c), 3,58 (2H, шир.с), 3,21-3,42 (3H, м), 3,07 (2H, т, $J=5,7$ Гц).

Как представлено ниже в табл. 1, дополнительные соединения, раскрытые в настоящем документе, могут быть получены в соответствии с примером 57 путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции.

Пример 58. Получение соединения 499



Стадия А:

Смесь трет-бутил-4-(6-аминопиридазин-3-ил)пиперидин-1-карбоксилата (0,88 г, 3,2 ммоль) и бис(2,4,6-трихлорфенил)малоната (1,76 г, 3,8 ммоль) в THF (12 мл) перемешивали при 40°C в течение 1 ч. Затем, смесь упаривали и очищали метанолом в дихлорметане (0-10%) с получением трет-бутил-4-(2-гидрокси-4-оксо-4Н-пиримидо[1,2-б]пиридазин-7-ил)пиперидин-1-карбоксилата (0,69 г, 63%). МС m/z 347,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Стадия В:

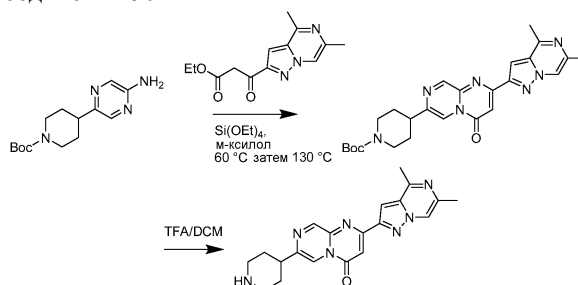
Следуя методике, описанной в примере 57, стадия С, путем осуществления взаимодействия трет-бутил-4-(2-гидрокси-4-оксо-4Н-пиримидо[1,2-б]пиридазин-7-ил)пиперидин-1-карбоксилата (0,69 г, 2,0 ммоль), NaH (60%, 88 мг, 2,2 ммоль), PhNTf₂ (0,79 г, 2,2 ммоль) в DMF (12 мл) получали трет-бутил-4-(4-оксо-2-(трифторметилсульфонилокси)-4Н-пиримидо[1,2-б]пиридазин-7-ил)пиперидин-1-карбоксилат (0,87 г, 91%). ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ 7,90 (1H, д, $J=9,5$ Гц), 7,61 (1H, д, $J=9,5$ Гц), 6,45 (1H, c), 4,28-4,36 (2H, м), 3,20-3,30 (1H, м), 2,82-2,93 (2H, м), 1,94-2,02 (2H, м), 1,75-1,85 (2H, м), 1,49 (9H, c).

Стадия С:

Смесь трет-бутил-4-(4-оксо-2-(трифторметилсульфонилокси)-4Н-пиримидо[1,2-б]пиридазин-7-ил)пиперидин-1-карбоксилата (0,24 г, 0,5 ммоль), 2-метил-6-(триметилстанил)бензо[d]оксазола (0,18 г, 0,6 ммоль), Pd(PPh₃)₄ (58 мг, 0,05 ммоль), CuI (23 мг, 0,12 ммоль) в диоксане (2,0 мл) перемешивали при 90°C в течение ночи. Смесь концентрировали и очищали метанолом в дихлорметане (0-10%). Целевые фракции объединяли и упаривали. Остаток обрабатывали TFA (1,0 мл) и дихлорметаном (1,0 мл) и выби-вали продукт, как описано в примере 34, стадия D, с получением указанного в заголовке соединения в виде желтого твердого вещества (86 мг, 48%). Т.пл. 126-128°C; МС m/z 362,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$; ^1H ЯМР (500 МГц, метанол- d_4) δ 8,20 (1H, c), 7,91-7,99 (2H, м), 7,67 (2H, д, $J=8,2$ Гц), 7,07 (1H, c), 3,45 (2H, д, $J=12,3$ Гц), 3,07-3,21 (2H, м), 3,30-3,24 (1H, м), 2,61 (3H, c), 2,14 (4H, шир.с).

Как представлено ниже в табл. 1, дополнительные соединения, раскрытые в настоящем документе, могут быть получены в соответствии с примером 58 путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции.

Пример 59. Получение соединения 502



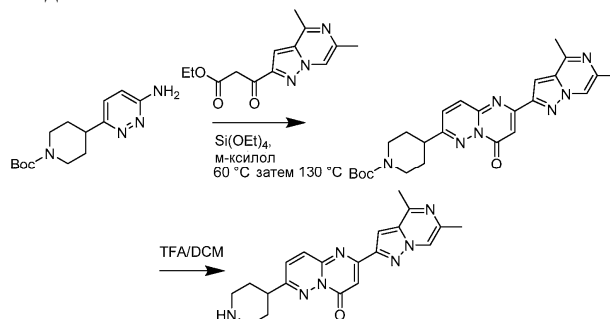
Стадия А:

Смесь трет-бутил-4-(5-аминопиразин-2-ил)пиперидин-1-карбоксилата (0,2 г, 0,72 ммоль), этил-3-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-3-оксoproпаноата (0,21 г, 0,79 ммоль), $\text{Si}(\text{OEt})_4$ (0,16 мл, 0,72 ммоль), PPTs (18 мг, 0,072 ммоль) в мета-ксилоле (0,36 мл) перемешивали при 60°C в течение 1 ч, а затем при 130°C в течение ночи. Смесь охлаждали, наносили непосредственно на колонку с силикагелем и очищали метанолом в дихлорметане (0-10%). Путем дополнительной очистки этилацетатом в дихлорметане (20-100%) получали трет-бутил-4-(2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4-оксо-4Н-пиразино[1,2-а]пиримидин-7-ил)пиперидин-1-карбоксилат (0,117 г, 34%). МС m/z 476,4 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Стадия В: Следуя методике, описанной в примере 34, стадия D, путем обработки трет-бутил-4-(2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4-оксо-4Н-пиразино[1,2-а]пиримидин-7-ил)пиперидин-1-карбоксилата (117 мг, 0,25 ммоль) TFA (1,0 мл) и дихлорметаном (2,0 мл) получали указанное в заголовке соединение в виде желтого твердого вещества (93 мг, 100%). МС m/z 376,4 $[\text{M}+\text{H}]^+$; ^1H ЯМР (500 МГц, метанол- d_4) δ 9,13 (1H, д, $J=1,3$ Гц), 8,53 (1H, с), 8,27 (1H, д, $J=0,6$ Гц), 7,55 (1H, д, $J=1,3$ Гц), 7,28 (1H, с), 3,27-3,34 (2H, м), 2,99-3,09 (1H, м), 2,85-2,96 (2H, м), 2,75 (3H, с), 2,47 (3H, д, $J=0,9$ Гц), 2,05-2,14 (2H, м), 1,84-1,95 (2H, м).

Как представлено ниже в табл. 1, дополнительные соединения, раскрытые в настоящем документе, могут быть получены в соответствии с примером 59 путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции.

Пример 60. Получение соединения 512



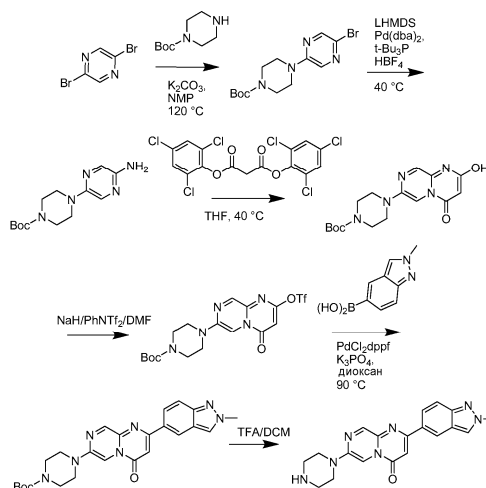
Стадия А:

Следуя методике, описанной в примере 59, стадия А, путем осуществления взаимодействия трет-бутил-4-(6-аминопиридазин-3-ил)пиперидин-1-карбоксилата (0,28 г, 1,0 ммоль), этил-3-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-3-оксoproпаноата (0,28 г, 1,1 ммоль), $\text{Si}(\text{OEt})_4$ (0,22 мл, 1,0 мл), PPTs (25 мг, 0,1 ммоль) в мета-ксилоле (0,5 мл) получали трет-бутил-4-(2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4-оксо-4Н-пиримидо[1,2-б]пиридазин-7-ил)пиперидин-1-карбоксилат (60 мг, 13%). МС m/z 476,4 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Стадия В:

Следуя методике, описанной в примере 34, стадия D, путем обработки трет-бутил-4-(2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4-оксо-4Н-пиримидо[1,2-б]пиридазин-7-ил)пиперидин-1-карбоксилата (60 мг, 0,13 ммоль) TFA (1,0 мл) и дихлорметаном (1,0 мл) получали указанное в заголовке соединение в виде желтого твердого вещества (47 мг, 100%). МС m/z 376,4 $[\text{M}+\text{H}]^+$; ^1H ЯМР (500 МГц, метанол- d_4) δ 8,27-8,31 (1H, м), 8,06 (1H, д, $J=9,5$ Гц), 7,78 (1H, с), 7,57 (1H, д, $J=0,9$ Гц), 7,39 (1H, с), 3,25-3,30 (2H, м), 3,15-3,23 (1H, м), 2,82-2,90 (2H, м), 2,79 (3H, с), 2,51 (3H, д, $J=0,9$ Гц), 2,02-2,09 (2H, м), 1,85-1,96 (2H, м).

Пример 61. Получение соединения 586



Стадия А:

Смесь 2,5-дибромпиразина (1,45 г, 6,1 ммоль), трет-бутилпиперазин-1-карбоксилата (1,13 г, 6,1 ммоль) и K_2CO_3 (1,26 г, 9,2 ммоль) в NMP (6,0 мл) перемешивали при 120°C в течение ночи. Смесь охлаждали, а затем путем выбивания продукта водой с последующей очисткой этилацетатом в дихлорметане (0-15%) получали трет-бутил-4-(5-бромпиразин-2-ил)пиперазин-1-карбоксилат (1,45 г, 69%). МС m/z 343,3 $[M+H]^+$, 345,3 $[M+2+H]^+$.

Стадия В:

Смесь трет-бутил-4-(5-бромпиразин-2-ил)пиперазин-1-карбоксилата (1,25 г, 3,6 ммоль), LiHMDS (1,0М, 4,4 мл, 4,4 ммоль), $Pd(dba)_2$ (105 мг, 0,18 ммоль), $P^tBu_3 HBF_4$ (53 мг, 0,18 ммоль) в толуоле (4,4 мл) перемешивали при 40°C в течение ночи в атмосфере Ar. Затем смесь охлаждали, обрабатывали ацетонитрилом (2,0 мл) и 1н HCl (0,2 мл), перемешивали в течение 15 мин и очищали на силикагеле, элюируя метанолом в дихлорметане (0-10%), с получением трет-бутил-4-(5-аминопиразин-2-ил) пиперазин-1-карбоксилата (0,96 г, 94%). МС m/z 280,2 $[M+H]^+$.

Стадия С:

Смесь трет-бутил-4-(5-аминопиразин-2-ил)пиперазин-1-карбоксилата (0,68 г, 2,4 ммоль), бис(2,4,6-трихлорфенил) малонат (1,36 г, 2,9 ммоль) в THF (15 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 64 ч. Затем, смесь фильтровали. Твердое вещество промывали этилацетатом и сушили с получением трет-бутил-4-(2-гидрокси-4-оксо-4Н-пиразино[1,2-а]пиримидин-7-ил)пиперазин-1-карбоксилата (0,65 г, 77%). МС m/z 348,3 $[M+H]^+$.

Стадия D:

Следуя методике, описанной в примере 57, стадия С, путем осуществления взаимодействия трет-бутил-4-(2-гидрокси-4-оксо-4Н-пиразино[1,2-а]пиримидин-7-ил)пиперазин-1-карбоксилата (0,65 г, 1,9 ммоль), NaH (60%, 82 мг, 2,1 ммоль) и $PhNTf_2$ (0,74 г, 2,1 ммоль) в DMF (10 мл) получали трет-бутил-4-(4-оксо-2-(трифторметилсульфонилокси)-4Н-пиразино[1,2-а]пиримидин-7-ил)пиперазин-1-карбоксилат (0,72 г, 80%). МС m/z 480,2 $[M+H]^+$.

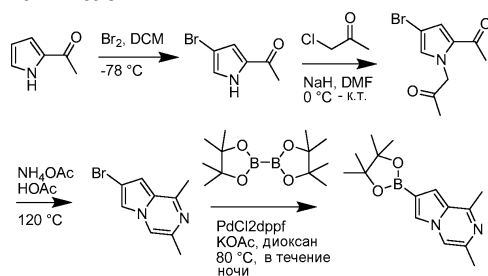
Стадия Е:

Следуя методике, описанной в примере 57, стадия D, путем осуществления взаимодействия трет-бутил-4-(4-оксо-2-(трифторметилсульфонилокси)-4Н-пиразино[1,2-а]пиримидин-7-ил)пиперазин-1-карбоксилата (0,38 г, 0,79 ммоль) и 2-метил-2Н-индазол-5-илбороновой кислоты (0,21 г, 1,2 ммоль) в присутствии $PdCl_2dppf$ (64 мг, 0,08 ммоль) и K_3PO_4 (0,25 г, 1,2 ммоль) в диоксане (6,0 мл) получали трет-бутил-4-(2-(2-метил-2Н-индазол-5-ил)-4-оксо-4Н-пиразино[1,2-а]пиримидин-7-ил)пиперазин-1-карбоксилат (0,22 г, 60%). МС m/z 462,3 $[M+H]^+$.

Стадия F:

Следуя методике, описанной в примере 34, стадия D, путем обработки трет-бутил-4-(2-(2-метил-2Н-индазол-5-ил)-4-оксо-4Н-пиразино[1,2-а]пиримидин-7-ил)пиперазин-1-карбоксилата (0,22 г, 0,48 ммоль) TFA (1,0 мл) и дихлорметаном (1,0 мл) получали указанное в заголовке соединения в виде желтого твердого вещества (0,17 мг, 99%). Т.пл. 160-162°C; МС m/z 362,3 $[M+H]^+$; ^1H ЯМР (500 МГц, метанол- d_4) δ 9,04 (1H, д, $J=1,3$ Гц), 8,50 (1H, дд, $J=1,6, 0,9$ Гц), 8,18 (1H, с), 7,97-8,02 (2H, м), 7,71 (1H, д, $J=9,1$ Гц), 7,01 (1H, с), 4,23 (3H, с), 3,61-3,67 (4H, м), 3,13-3,20 (4H, м).

Пример 62. Получение соединения 695



Часть 1, стадия А:

В суспензию 1-(1Н-пиррол-2-ил)этанона (2,18 г, 20 ммоль) в дихлорметане (100 мл) при -78°C по каплям в течение 30 минут добавляли раствор брома (1,23 мл, 24 ммоль) в дихлорметане (25 мл). Смесь перемешивали при -78°C в течение 10 мин после добавления, а затем вливали в воду со льдом. Водный слой экстрагировали дихлорметаном. Органические экстракты объединяли, сушили и упаривали. Остаток очищали этилацетатом в дихлорметане (0-20%) с получением 1-(4-бром-1Н-пиррол-2-ил)этанона (3,48 г, 92%). МС m/z 188,0 $[M+H]^+$, 190,0 $[M+2+H]^+$.

Часть 1, стадия В:

В раствор 1-(4-бром-1Н-пиррол-2-ил)этанона (3,48 г, 18,5 ммоль) в DMF (40 мл) при 0°C порциями добавляли NaH (60%, 0,81 г, 20,4 ммоль). Температуру оставляли повышаться до комнатной температуры, и по каплям добавляли 1-хлорпропан-2-он (1,54 мл, 19,4 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Путем обработки продукта водой с последующей очисткой этилацетатом в гексане (5-30%) получали 1-(2-ацетил-4-бром-1Н-пиррол-1-ил)пропан-2-он (2,9 г, 64%). ^1H ЯМР

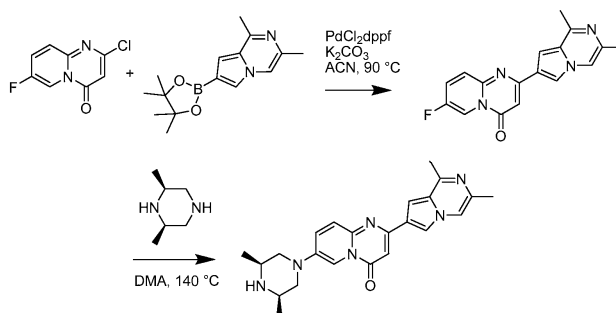
(500 МГц, CDCl₃) δ 6,99 (1H, д, J=1,9 Гц), 6,77 (1H, д, J=1,6 Гц), 5,00 (2H, с), 2,39 (3H, с), 2,25 (3H, с).

Часть 1, стадия С:

Смесь 1-(2-ацетил-4-бром-1H-пиррол-1-ил)пропан-2-она (2,9 г, 11,9 ммоль) и ацетата аммония (18 г, 238 ммоль) в уксусной кислоте (100 мл) перемешивали при 120°C в течение ночи. Затем уксусную кислоту удаляли на ротонном испарителе, затем к остатку добавляли воду со льдом, и подщелачивали смесь до pH 9 добавлением NaOH. Смесь экстрагировали этилацетатом. Органические экстракты объединяли, сушили и упаривали. Остаток очищали этилацетатом в дихлорметане (0-10%) с получением 7-бром-1,3-диметилпирроло[1,2-а]пиазина (2,4 г, 90%). МС m/z 225,1 [M+H]⁺, 227,1 [M+2+H]⁺.

Часть 1, стадия D:

Следуя методике, описанной в примере 14, часть 2, путем осуществления взаимодействия 7-бром-1,3-диметилпирроло[1,2-а]пиазина (0,67 г, 3,0 ммоль), 4,4,4',4',5,5,5'-октаметил-2,2'-би(1,3,2-диоксаборолана) (0,99 г, 3,9 ммоль), PdCl₂dppf (0,24 г, 0,3 ммоль), K₂CO₃ (0,88 г, 9,0 ммоль) в диоксане (10 мл) получали 1,3-диметил-7-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)пирроло[1,2-а]пиазин, который использовали непосредственно на следующей стадии без дополнительной очистки. МС m/z 191,2 [M-пинакол+H]⁺.



Часть 2, стадия А:

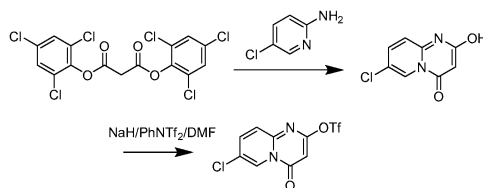
Следуя методике, описанной в примере 14, часть 3, стадия А, путем осуществления взаимодействия 2-хлор-7-фтор-4H-пиrido[1,2-а]пиримидин-4-она (0,3 г, 1,5 ммоль) с 1,3-диметил-7-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)пирроло[1,2-а]пиазином (1,5 ммоль) получали 2-(1,3-диметилпирроло[1,2-а]пиазин-7-ил)-7-фтор-4H-пиrido[1,2-а]пиримидин-4-он (0,34 г, 74%). МС m/z 309,2 [M+H]⁺.

Часть 2, стадия В:

Следуя методике, описанной в примере 14, часть 3, стадия В, путем осуществления взаимодействия 2-(1,3-диметилпирроло[1,2-а]пиазин-7-ил)-7-фтор-4H-пиrido[1,2-а]пиримидин-4-она (0,14 г, 0,45 ммоль) с 2,6-диметилпиперазином (0,26 г, 2,27 ммоль) получали указанное в заголовке соединение в виде желтого твердого вещества (57 мг, 32%). Т.пл. 254-256°C; МС m/z 403,4 [M+H]⁺; ¹H ЯМР (500 МГц, метанол-d₄) δ 8,20 (1H, д, J=2,8 Гц), 7,99 (1H, д, J=1,6 Гц), 7,84-7,90 (1H, м), 7,72 (1H, д, J=0,6 Гц), 7,58 (1H, д, J=9,5 Гц), 7,25 (1H, т, J=1,1 Гц), 6,69 (1H, с), 3,60 (2H, д, J=9,5 Гц), 3,03-3,11 (2H, м), 2,62 (3H, с), 2,37 (2H, т, J=11,3 Гц), 2,31 (3H, д, J=0,9 Гц), 1,21 (6H, д, J=6,3 Гц).

Как представлено ниже в табл. 1, дополнительные соединения, раскрытые в настоящем документе, могут быть получены в соответствии с примером 62 путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции.

Пример 63. Получение соединения 731

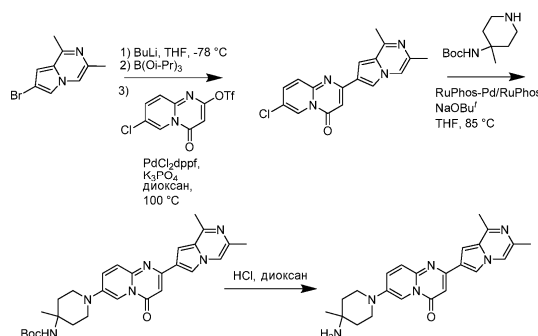


Часть 1, стадия А:

Следуя методике, описанной в примере 57, стадия А, путем осуществления взаимодействия 5-хлорпиридин-2-амин (2,57 г, 20 ммоль) и бис(2,4,6-трихлорфенил)малоната (10,2 г, 22 ммоль) в THF (100 мл) получали 7-хлор-2-гидрокси-4H-пиrido[1,2-а]пиримидин-4-он (3,89 г, 97%). ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 12,01 (1H, шир.с), 8,89 (1H, д, J=2,2 Гц), 8,10 (1H, дд, J=9,3, 2,4 Гц), 7,44 (1H, д, J=9,5 Гц), 5,19 (1H, шир.с).

Часть 1, стадия В:

Следуя методике, описанной в примере 57, стадия С, путем осуществления взаимодействия 7-хлор-2-гидрокси-4H-пиrido[1,2-а]пиримидин-4-она (3,89 г, 19,8 ммоль) с NaH (60%, 0,87 г, 21,8 ммоль) и PhNTf₂ (7,78 г, 21,8 ммоль) в DMF (50 мл) получали трифторметансульфонат 7-хлор-4-оксо-4H-пиrido[1,2-а]пиримидин-2-ила (5,9 г, 91%). МС m/z 370,0 [M+H]⁺.



Часть 2, стадия А:

В раствор 7-бром-1,3-диметилпирроло[1,2-а]пиазина (1,1 г, 4,9 ммоль) в THF (20 мл) при -78°C по каплям добавляли BuLi (1,6М, 4,7 мл, 7,5 ммоль). Смесь перемешивали при -78°C в течение 30 мин и добавляли триизопропилборат (1,7 мл, 7,4 ммоль). Температуру оставляли медленно повышаться до комнатной температуры. Реакционную смесь гасили добавлением воды (1,0 мл) и упаривали смесь досуха в условиях вакуума. К остатку добавляли трифторметансульфонат 7-хлор-4-оксо-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-2-ила (1,6 г, 4,9 ммоль), PdCl_2dppf (0,4 г, 0,49 ммоль), K_3PO_4 (1,55 г, 7,3 ммоль) и диоксан (40 мл). Смесь перемешивали при 100°C в течение ночи в атмосфере Ar, после чего смесь охлаждали, упаривали и очищали на силикагеле, элюируя метанолом в дихлорметане (0-10%), с получением 7-хлор-2-(1,3-диметилпирроло[1,2-а]пиазин-7-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (0,34 г, 22%). МС m/z 325,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

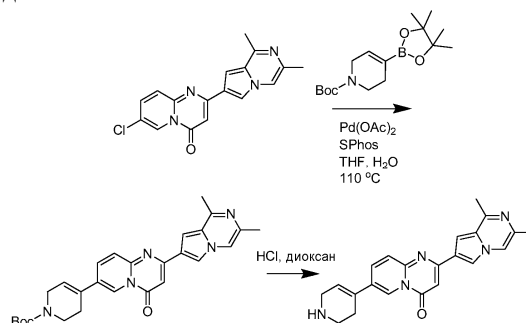
Часть 2, стадия В:

Смесь 7-хлор-2-(1,3-диметилпирроло [1,2-а]пиазин-7-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (0,2 г, 0,62 ммоль), трет-бутил-4-метилпиперидин-4-илкарбамата (0,17 г, 0,8 ммоль), RuPhos-Pd (22 мг, 0,031 ммоль), RuPhos (14 мг, 0,031 ммоль) и трет-бутоксид натрия (83 мг, 0,87 ммоль) в THF (1,5 мл) перемешивали при 85°C в течение ночи в атмосфере Ar. Затем смесь охлаждали, к ней добавляли уксусную кислоту (1,4 экв.), а затем очищали на силикагеле, элюируя метанолом в дихлорметане (0-10%), с получением трет-бутил-1-(2-(1,3-диметилпирроло[1,2-а]пиазин-7-ил)-4-оксо-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-7-ил)-4-метилпиперидин-4-илкарбамата (70 мг, 22%). МС m/z 503,4 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Часть 2, стадия С:

трет-Бутил-1-(2-(1,3-диметилпирроло[1,2-а]пиазин-7-ил)-4-оксо-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-7-ил)-4-метилпиперидин-4-илкарбамат (70 мг, 0,14 ммоль) обрабатывали HCl в диоксане (4н, 1,0 мл) в течение 30 мин. Затем растворитель удаляли. Остаток повторно обрабатывали аммиаком в метаноле и упаривали. Остаток очищали метанолом в дихлорметане (0-10%) с получением указанного в заголовке соединения в виде желтого твердого вещества (36 мг, 64%). Т.пл. $244-246^{\circ}\text{C}$; МС m/z 403,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$; ^1H ЯМР (500 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8,22-8,27 (2H, м), 8,04 (1H, дд, $J=9,8, 2,8$ Гц), 7,96 (1H, с), 7,60 (1H, д, $J=9,8$ Гц), 7,41 (1H, т, $J=1,3$ Гц), 6,82 (1H, с), 3,25-3,30 (4H, м), 2,58 (3H, с), 2,27 (3H, д, $J=0,9$ Гц), 1,47-1,65 (6H, м), 1,10 (3H, с).

Пример 64. Получение соединения 743



Стадия А:

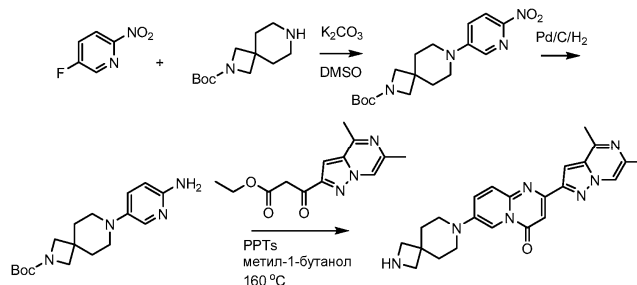
Смесь 7-хлор-2-(1,3-диметилпирроло[1,2-а]пиазин-7-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-она (0,14 г, 0,43 ммоль), трет-бутил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-5,6-дигидропиридин-1(2Н)-карбоксилата (0,2 г, 0,65 ммоль), $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (1,9 мг, 0,0086 ммоль), SPhos (7,0 мг, 0,0172 ммоль) и K_3PO_4 (0,18 г, 0,86 ммоль) в THF (1,0 мл) и воде (0,5 мл) перемешивали при 110°C в течение ночи. Путем обработки продукта водой с последующей очисткой метанолом в дихлорметане (0-10%) получали трет-бутил-4-(2-(1,3-диметилпирроло[1,2-а]пиазин-7-ил)-4-оксо-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-7-ил)-5,6-дигидропиридин-1(2Н)-карбоксилат (0,13 г, 65%). МС m/z 472,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Стадия В:

Следуя методике, описанной в примере 63, часть 2, стадия С, путем обработки трет-бутил-4-(2-(1,3-диметилпирроло[1,2-а]пиазин-7-ил)-4-оксо-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-7-ил)-5,6-дигидропиридин-

1(2Н)-карбоксилата (0,13 г, 0,28 ммоль) HCl в диоксане (1,0 мл) получали указанное в заголовке соединение в виде желтого твердого вещества (5 мг, 5%). Т.пл. 189-191°C; МС m/z 372,3 [M+H]⁺; ¹H ЯМР (500 МГц, метанол-d₄) δ 8,81 (1H, д, J=1,9 Гц), 8,03 (2H, д, J=1,6 Гц), 7,71 (1H, с), 7,62 (1H, д, J=9,5 Гц), 7,28 (1H, с), 6,76 (1H, с), 6,41-6,50 (1H, м), 3,58 (2H, д, J=2,5 Гц), 3,15 (2H, т, J=5,8 Гц), 2,63 (3H, с), 2,54 (2H, шир.с), 2,32 (3H, д, J=0,6 Гц).

Пример 65. Получение соединения 804



Стадия А:

5-Фтор-2-нитропиридин (200 мг, 1,41 ммоль), трет-бутил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат (319 мг, 1,41 ммоль) и K₂CO₃ (195 мг, 1,41 ммоль) объединяли в DMSO (8 мл).

Реакционную смесь нагревали при 70°C в течение 15 ч и охлаждали до комнатной температуры, после чего выпаривали растворитель. Путем экстрагирования (CH₂Cl₂ и H₂O) с последующим проведением хроматографии на силикагеле (CH₂Cl₂/MeOH=98/2) получали сложный трет-бутиловый эфир 7-(6-нитропиридин-3-ил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоновой кислоты (320 мг, 65%) в виде желтого твердого вещества. МС m/z 349,5 [M+H]⁺.

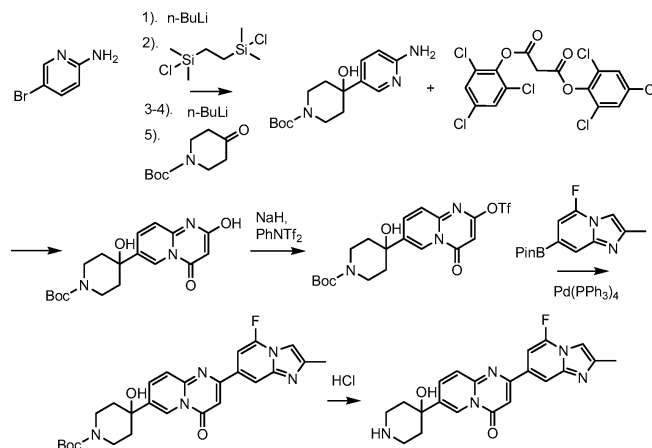
Стадия В:

Сложный трет-бутиловый эфир 7-(6-нитропиридин-3-ил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоновой кислоты (315 мг, 0,90 ммоль) и Pd/C (32 мг) объединяли в MeOH (40 мл) и помещали в атмосферу водорода (H₂ из баллона) на 15 ч. Реакционную смесь фильтровали через целит и подвергали хроматографии на силикагеле (CH₂Cl₂/MeOH=98/2) с получением сложного трет-бутилового эфира 7-(6-аминопиридин-3-ил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоновой кислоты (227 мг, 78%) в виде не совсем белого твердого вещества. МС m/z 319,6 [M+H]⁺.

Стадия С:

Смесь сложного трет-бутилового эфира 7-(6-аминопиридин-3-ил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоновой кислоты (100 мг, 0,31 ммоль), этил-3-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-3-оксoproпаноата (90 мг, 0,31 ммоль, полученного как описано в примере 9, стадии А-В) и PPTs (87 мг, 0,345 ммоль) в метил-1-бутаноле (2 мл) нагревали при 160°C в течение 15 ч. Смесь охлаждали до комнатной температуры, вливали в водный раствор NaOH (1М) и экстрагировали CH₂Cl₂. Объединенные органические фазы сушили над Na₂SO₄, и подвергали остаток хроматографии на силикагеле (CH₂Cl₂/MeOH=9/1; и 1% водный NH₃) с получением указанного в заголовке продукта (40 мг, 31%) в виде желтого твердого вещества. МС m/z 416,2 [M+H]⁺. ¹H ЯМР (CDCl₃, 600 МГц) δ 8,18 (д, J=1,1 Гц, 1H), 8,15 (с, 1H), 7,45 (дд, 1H), 7,80 (д, 1H), 7,32 (с, 1H), 7,11 (с, 1H), 3,51 (м, 2H), 3,42 (д, 1H), 3,36 (д, 1H), 3,15 (м, 2H), 3,00 (д, 1H), 2,97 (д, 1H), 2,79 (с, 3H), 2,52 (с, 3H), 2,10 (м, 2H), 1,89 (м, 2H).

Пример 66. Получение соединения 811



Стадия А:

5-Бромпиридин-2-амин (1,0 г, 5,8 ммоль) в THF (20 мл), охлажденный до -78°C в атмосфере Ar, объединяли с n-BuLi (3,6 мл, 5,8 ммоль, 1,6М в гексанах) и перемешивали в течение 0,5 ч. Добавляли 1,2-бис(хлордиметилсилил)этан (1,2 г, 5,8 ммоль) в THF (10 мл) и оставляли смесь нагреваться до темпера-

туры окружающей среды в течение 1 ч. Затем смесь повторно охлаждали до -78°C и добавляли второй эквивалент $n\text{-BuLi}$ (3,6 мл, 5,8 ммоль, 1,6М в гексанах). Смесь перемешивали в течение 0,5 ч при -78°C , а затем оставляли нагреваться до температуры окружающей среды в течение 1 ч. Затем смесь повторно охлаждали до -78°C и добавляли третий эквивалент $n\text{-BuLi}$ (3,6 мл, 5,8 ммоль, 1,6М в гексанах). Смесь перемешивали в течение 1 ч при -78°C , а затем добавляли трет-бутил-4-оксопиперидин-1-карбоксилат (1,3 г, 6,4 ммоль) в THF (10 мл), и оставляли реакционную смесь нагреваться до температуры окружающей среды. Смесь разбавляли EtOAc, промывали солевым раствором, сушили (Na_2SO_4) и концентрировали. Остаток элюировали с силикагеля EtOAc (0-100%) в н-гептане с получением трет-бутил-4-(6-аминопиперидин-3-ил)-4-гидроксипиперидин-1-карбоксилата в виде светло-желтого твердого вещества (1,1 г, 64%). MS m/z 294,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Стадия В:

Смесь бис(2,4,6-трихлорфенил)малоната (0,80 г, 1,7 ммоль) и трет-бутил-4-(6-аминопиперидин-3-ил)-4-гидроксипиперидин-1-карбоксилата (0,50 г, 1,7 ммоль) нагревали в толуоле (10 мл) при 60°C в течение 2 ч. Реакционную смесь концентрировали для удаления летучих веществ. Остаток элюировали с силикагеля MeOH (0-20%) в CH_2Cl_2 с получением трет-бутил-4-гидрокси-4-(2-гидрокси-4-оксо-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-7-ил)пиперидин-1-карбоксилата в виде светло-желтого твердого вещества (0,43 г, 70%). MS m/z 362,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Стадия С:

Смесь трет-бутил-4-гидрокси-4-(2-гидрокси-4-оксо-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-7-ил)пиперидин-1-карбоксилата (0,17 г, 0,5 ммоль), 1,1,1-трифтор- N -фенил- N -(трифторметилсульфони)метансульфонамида (0,19 г, 0,5 ммоль) и карбоната калия (0,13 г, 0,9 ммоль) в DMF (3 мл) перемешивали при температуре окружающей среды. Спустя 1 ч смесь разбавляли EtOAc, промывали водой, солевым раствором, сушили (Na_2SO_4) и концентрировали. Остаток элюировали с силикагеля EtOAc (10-50%) в н-гептане с получением трет-бутил-4-гидрокси-4-(4-оксо-2-(трифторметилсульфонилокси)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-7-ил)пиперидин-1-карбоксилата в виде кристаллического желтого твердого вещества (0,08 г, 35%). MS m/z 494,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Стадия D:

Следуя методике, описанной в примере 15, стадия А, путем осуществления взаимодействия трет-бутил-4-гидрокси-4-(4-оксо-2-(трифторметилсульфонилокси)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-7-ил)пиперидин-1-карбоксилата (80 мг, 0,16 ммоль), 8-фтор-2-метил-6-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)имидазо[1,2-а]пиридина (67 мг, 0,24 ммоль, полученного в примере 16, стадия В), тетракис(трифенилфосфин)палладия(0) (9 мг, 0,01 ммоль) и K_2CO_3 (31 мг, 0,32 ммоль) в смеси MeCN/вода (2 мл/0,3 мл) получали трет-бутил-4-(2-(8-фтор-2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-4-оксо-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-7-ил)-4-гидроксипиперидин-1-карбоксилат в виде не совсем белого кристаллического твердого вещества (60 мг, 75%). MS m/z 494,5 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Стадия E:

Следуя методике, описанной в примере 24, стадия В, путем осуществления взаимодействия продукта, полученного на стадии D, и HCl в диоксане (4М, 2 мл) получали 2-(8-фтор-2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-7-(4-гидроксипиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он в виде белого твердого вещества (11 мг, 49%). MS m/z 394,4 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$, 300 МГц) δ 9,31 (д, $J=1,2$ Гц, 1H), 9,01 (д, $J=1,8$ Гц, 1H), 8,12 (дд, $J=9,3$, 1,8 Гц, 1H), 7,96 (д, $J=2,4$ Гц, 1H), 7,88 (дд, $J=12,6$, 1,2 Гц, 1H), 7,75 (д, $J=9,3$ Гц, 1H), 7,06 (с, 1H), 5,34 (шир.с, 1H), 2,91 (кажущийся т, $J=12,0$ Гц, 2H), 2,79 (д, $J=12,0$ Гц, 2H), 2,39 (с, 3H), 1,89-1,84 (м, 2H), 1,60 (д, $J=12,0$ Гц, 2H).

В табл. 1 представлены выделенные соединения в форме свободного основания соединения формулы (I), которые могут быть получены в соответствии с методиками указанного примера путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции. Получение любой соли, изотополога, стереоизомера, рацемата, энантиомера, диастереоизомера или таутомера из формы свободного основания соединения формулы (I) также предполагается и дополнительно включено в объем описания, представленного в настоящем документе. В случаях, когда форма свободного основания соединения не была выделена из солевой формы, предполагается, что средний специалист в данной области техники сможет провести необходимые реакции для получения и выделения формы свободного основания соединения.

Термин "Соед." представляет собой "номер соединения", термин "Прим." представляет собой "номер примера" (где * указывает на то, что соответствующий пример для соединения представлен выше), термин "т.пл." представляет собой "точку плавления ($^{\circ}\text{C}$)", термин "MS" представляет собой "пик(и) масс-спектрометрии m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$, $[\text{M}+2+\text{H}]^+$, $[\text{M}-\text{H}]^-$ или $[\text{M}+2-\text{H}]^-$ ", термин "D" представляет собой "разложение/разложившееся", термин "DR" представляет собой "интервал разложения", термин "S" представляет собой "размягчение", термин "ND" указывает на то, что значение "не было определено", и термин "NI" указывает на то, что соединение "не было выделено".

Таблица 1

Пр.	Соед.	Название	Т.пл.	МС
4*	1	2-(4-метоксифенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	182-184	337,3
4	2	2-(4-метоксифенил)-7-(4-метилпиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	178-182	351,3
4	3	2-(4-метоксифенил)-7-[(3R)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	152-154	351,3
4	4	7-[(3R,5S)-3,5-диметилпиперазин-1-ил]-2-(4-метоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	185-187	365,3
4	5	7-(1,4-дiazепан-1-ил)-2-(4-метоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	149-152	351,3
3*	6	2-(3,4-диметоксифенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	182-184	367,5
3	7	2-(3,4-диметоксифенил)-7-(3,3-диметилпиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	138-140	395,3
3	8	2-(3,4-диметоксифенил)-7-[(3R)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	181-184	381,3
3	9	2-(3,4-диметоксифенил)-7-(4-этилпиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	159-162	395,3
3	10	7-(1,4-дiazепан-1-ил)-2-(3,4-диметоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	ND	381,3
3	11	2-(3,4-диметоксифенил)-7-(4-метил-1,4-дiazепан-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	166-168	395,3
3	12	2-(4-метоксифенил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	158-160	351,3
3	13	2-(3,4-диметоксифенил)-7-(4-метилпиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-	183-185	381,3

		а) пиримидин-4-он			
3	14	2-(3,4-диметоксифенил)-7-[(3R,5S)-3,5-диметилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	182-187	395,3	
3	15	2-(3,4-диметоксифенил)-7-(4-пропилпиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	185-189	409,3	
4	16	2-(4-метоксифенил)-7-(4-метил-1,4-дiazепан-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	137-141	365,3	
4	17	7-(3,3-диметилпиперазин-1-ил)-2-(4-метоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	ND	365,3	
4	18	2-(1,3-бензодиоксол-5-ил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	198-201	351,3	
4	19	2-(1,3-бензодиоксол-5-ил)-7-(4-метилпиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	235-237	365,2	
4	20	2-(1,3-бензодиоксол-5-ил)-7-[(3R)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	195-197	365,3	
4	21	2-(1,3-бензодиоксол-5-ил)-7-[(3R,5S)-3,5-диметилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	198-201	379,3	
4	22	2-(3-метоксифенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	147-149	337,2	
4	23	2-(3-метоксифенил)-7-(4-метилпиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	173-175	351,2	
4	24	2-(3-метоксифенил)-7-[(3R)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	164-166	351,2	
4	25	7-[(3R,5S)-3,5-диметилпиперазин-1-ил]-2-(3-метоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	189-191	365,3	
4	26	7-(4-этилпиперазин-1-ил)-2-(3-метоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-	158-160	365,3	

		а] пиримидин-4-он		
4	27	7-(1,4-дiazепан-1-ил)-2-(3-метоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	ND	351,2
4	28	2-(3-метоксифенил)-7-(4-метил-1,4-diazепан-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	130-132	365,2
8*	29	2-(6-метилимидазо[1,2-а] пиридин-2-ил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	193-198	361,3
3	30	2-(3,4-диметоксифенил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	153-158	381,3
4	31	2-(2,3-дигидро-1,4-бензодиоксин-6-ил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	230-232	365,3
4	32	2-(2,3-дигидро-1,4-бензодиоксин-6-ил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	205-207	379,3
3	33	2-фенил-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	151-153	307,2
3	34	7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-2-фенил-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	170-173	321,3
4	35	2-(2,3-дигидро-1,4-бензодиоксин-6-ил)-7-[(3R)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	212-214	379,2
4	36	2-(2,3-дигидро-1,4-бензодиоксин-6-ил)-7-(3,3-диметилпиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	196-198	393,3
4	37	2-(2,3-дигидро-1,4-бензодиоксин-6-ил)-7-[(3R,5S)-3,5-диметилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	247-250	393,3
4	38	7-(1,4-diazепан-1-ил)-2-(2,3-дигидро-1,4-бензодиоксин-6-ил)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	180-182	379,3
4	39	2-(2,3-дигидро-1,4-бензодиоксин-6-ил)-7-(4-метил-1,4-diazепан-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	150-152	393,3

1	40	2-(3,4-диметоксифенил)-9-фтор-7-(4-метилпиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	183-185	399,3
1	41	2-(3-хлорфенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	185-189	341,2
1	42	2-(4-хлорфенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	207-212	341,2
1	43	7-(пиперазин-1-ил)-2-[3-(трифторметил)фенил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	199-207	375,2
1	44	7-(пиперазин-1-ил)-2-[4-(трифторметил)фенил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	285 (D)	375,2
1	45	2-(3-метилфенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	183-187	321,2
1	46	2-(4-фторфенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	214-218	325,2
1	47	2-(4-нитрофенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	237-242	352,2
1	48	2-(3,4-диметоксифенил)-9-фтор-7-(пиперидин-4-иламино)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	224-226	399,3
3	49	2-[4-(диметиламино)фенил]-9-фтор-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	216-218	368,3
3	50	2-[4-(диметиламино)фенил]-9-фтор-7-[(3R)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	205-207	382,3
1	51	2-(2-фторфенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	142-146	325,2
28*	52	3-(3,4-диметоксифенил)-8-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	175-179	367,2
3	53	2-[4-(диметиламино)фенил]-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	211-215	350,3
3	54	2-[4-(диметиламино)фенил]-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	199-202	364,3

3	55	2-(3,4-диметилфенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	186-188	335,2
3	56	2-(3,4-диметилфенил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	207-209	349,3
3	57	2-[3-(диметиламино)фенил]-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	178-180	350,2
3	58	2-[3-(диметиламино)фенил]-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	144-146	364,3
3	59	2-[4-(дифторметокси)фенил]-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	131-133	373,5
3	60	2-[4-(дифторметокси)фенил]-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	166-168	387,2
1	61	2-(3-фторфенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	153-156	325,2
1	62	2-(3-нитрофенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	175 (D)	352,2
1	63	2-(4-метилфенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	192-195	321,2
3	64	2-(2-фтор-4,5-диметоксифенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	177-180	385,2
3	65	2-(2-фтор-4,5-диметоксифенил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	167-170	399,2
3	66	7-(3,8-диазабицикло[3.2.1]окт-3-ил)-2-(3,4-диметоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	158-161	393,3
1	67	2-[4-метокси-3-(трифторметил)фенил]-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	177-181	405,1
1	68	2-[4-метокси-3-(трифторметил)фенил]-7-[(3R)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	205-212	419,3

1	69	2-[4-метокси-3-(трифторметил)фенил]-7- [(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н- пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	195-200	419,3
6*	70	2-(3,4-диметоксифенил)-9-метокси-7- (пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2- а]пиримидин-4-он	185-187	397,3
11	71a	2-(3,5-дифтор-4-гидроксифенил)-7- (пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2- а]пиримидин-4-он	NI	NI
1*	72	2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7- (пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2- а]пиримидин-4-он	191-195	355,0
3	73	4-[4-оксо-7-(пиперазин-1-ил)-4Н- пиридо[1,2-а]пиримидин-2- ил]бензонитрил	146-151	332,1
7*	74	2-(6-метилимидазо[1,2-а]пиразин-2-ил)- 7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2- а]пиримидин-4-он	221-225	362,2
7	75	2-(6-метилимидазо[1,2-а]пиразин-2-ил)- 7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н- пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	235-238	376,2
1	76	2-[3-фтор-5-(трифторметил)фенил]-7- (пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2- а]пиримидин-4-он	ND	393
1	77	2-[4-фтор-3-(трифторметил)фенил]-7- (пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2- а]пиримидин-4-он	214-217	393,1
1	78	2-[2-метокси-3-(трифторметил)фенил]-7- (пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2- а]пиримидин-4-он	194-200	405,1
1	79	2-(3,5-дифторфенил)-7-(пиперазин-1- ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	195-198	343
1	80	7-(пиперазин-1-ил)-2-[3- (трифторметокси)фенил]-4Н-пиридо[1,2- а]пиримидин-4-он	140-143	391
5*	81	2-[4-метокси-3-(трифторметокси)фенил]- 7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2- а]пиримидин-4-он	158-162	421,1

5*	82	2-[4-гидрокси-3-(трифторметокси)фенил]-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	245-248	407,2
5	83	2-[4-метокси-3-(трифторметокси)фенил]-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	176-178	435,9
5	84	2-[4-гидрокси-3-(трифторметокси)фенил]-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	152-155	421,2
31*	85	2-(3,4-диметоксифенил)-4-оксо-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-хинолизин-1-карбонитрил	199-202	391,2
1	86	2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-[(3R)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	175-178	369,1
1	87	2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	175-178	369,1
1	88	2-(6-метоксипиридин-3-ил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	173-178	338,2
1	89	2-(2,4-диметоксифенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	171-173	367,3
1	90	2-(2,4-диметоксифенил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	172-177	381,2
32*	91	2-(3,4-диметоксифенил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-хинолизин-4-он	243-245	380,2
11*	92	2-(5-фторпиридин-3-ил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	201-208	326,2
11	93	2-(5-фторпиридин-3-ил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	191-199	340,1
11	94	2-(5-хлорпиридин-3-ил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	208-218	342
11	95	2-(5-хлорпиридин-3-ил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-	227-232	356

		а] пиримидин-4-он			
1	96	2-(5-хлор-6-метоксипиридин-3-ил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	201-209	372,1	
12	97	2-(1Н-индол-6-ил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	202-206	346,2	
12*	98	2-(1Н-индол-5-ил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	266-272	346,2	
3	99	2-[3-(диформетокси)-4-метоксифенил]-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	ND	403,4	
3	100	2-[3-(диформетокси)-4-гидроксифенил]-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	233-237	389,2	
3	101	2-[3-(диформетокси)-4-метоксифенил]-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	167-169	417	
3	102	2-[3-(диформетокси)-4-гидроксифенил]-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	192-197	403,2	
33	103	2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-хинолизин-4-он	200-202	354,1	
33	104	2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-хинолизин-4-он	188-192	368,1	
1	105	2-(3,5-дифторфенил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	189-194	357,2	
33*	106	2-(3,4-диметоксифенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-хинолизин-4-он	170-172	366,1	
13*	107	2-(имидазо[1,2-а] пиридин-7-ил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	258-270	347	
12	108	2-(имидазо[1,2-а] пиридин-6-ил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	ND	347	
15*	109	2-(2-метилимидазо[1,2-а] пиридин-6-ил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	259-267	361,1	

3	110	2-(3-хлор-4-метоксифенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	201-203	371,4 , 373,4
3	111	2-(3-хлор-4-метоксифенил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	187-189	385,5 , 387,5
1	112	2-(3-этокси-4-метоксифенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	194-196	381,1
1	113	2-(3-этокси-4-метоксифенил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	159-162	395,1
15	114	2-(2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-7-(4-метилпиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	ND	375,1
15	115	2-(2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	ND	375,1
15	116	7-(1,4-дiazепан-1-ил)-2-(2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	ND	375,1
15	117	7-[(3R,5S)-3,5-диметилпиперазин-1-ил]-2-(2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	181-186	389,1
7	118	2-(6,8-диметилимидазо[1,2-а]пиразин-2-ил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	189-192	376,5
7	119	2-(6,8-диметилимидазо[1,2-а]пиразин-2-ил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	202-208	390,5
9	120	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	195-200	376,5
9	121	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	192-194	390,5
22	122	2-(3,4-диметоксифенил)-7-(2-метилпиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-	197-200	374

		а] пиримидин-4-он			
15	123	7-(пиперазин-1-ил)-2-[2-(трифторметил)имидазо[1,2-а]пиридин-6-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	250-255	415,5	
15	124	2-(2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	228-232	375,5	
15	125	2-(2,3-диметилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	236-240	375,5	
2	126	2-(3,4-диметоксифенил)-7-[(3aR,6aS)-гексагидропирроло[3,4-с]пиррол-2(1H)-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	286-290	393,1	
2	127	7-(4-аминопиперидин-1-ил)-2-(3,4-диметоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	182-185	381,1	
19*	128	7-(пиперазин-1-ил)-2-(1H-пирроло[2,3-b]пиридин-5-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	252-255	347,1	
19	129	2-(1-метил-1H-пирроло[2,3-b]пиридин-5-ил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	230-233	361,1	
19	130	7-[(3R,5S)-3,5-диметилпиперазин-1-ил]-2-(1-метил-1H-пирроло[2,3-b]пиридин-5-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	265-268	389,1	
9	131	7-[(3R,5S)-3,5-диметилпиперазин-1-ил]-2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	ND	404,5	
9	132	7-(1,4-дiazепан-1-ил)-2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	ND	390,5	
14	133	2-(2-метил-1,3-бензоксазол-6-ил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	219-222	362,5	
14	134	2-(2-метил-1,3-бензоксазол-6-ил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	191-193	376,5	
14	135	2-(2-метил-1,3-бензотиазол-5-ил)-7-	174-180	392,2	

		[(3S) -3-метилпиперазин-1-ил] -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он		
14	136	2-(2-метил-1, 3-бензотиазол-5-ил) -7-(пиперазин-1-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	228-230	378,1
14	137	2-(2-метил-2Н-индазол-5-ил) -7-(пиперазин-1-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	175-180	361,5
14	138	2-(2-метил-2Н-индазол-5-ил) -7-[(3S) -3-метилпиперазин-1-ил] -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	166-170	375,5
14	139	2-(3-фтор-5-метоксифенил) -7-(пиперазин-1-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	168-170	355,5
14	140	2-(3-фтор-5-метоксифенил) -7-[(3S) -3-метилпиперазин-1-ил] -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	154-156	369,5
16	141	2-(2, 8-диметилимидазо [1, 2-а] пиридин-6-ил) -7-(пиперазин-1-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	270-274	375,1
2	142	2-(3, 4-диметоксифенил) -9-метил-7-[(3S) -3-метилпиперазин-1-ил] -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	176-182	395,5
22*	143	2-(3, 4-диметоксифенил) -7-(1, 2, 3, 6-тетрагидропиридин-4-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	196-198	364,1
24*	144	2-(3, 4-диметоксифенил) -7-(пиперидин-4-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	214-217	366,4
1	145	2-(3-фтор-4, 5-диметоксифенил) -7-(пиперазин-1-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	ND	385,5
3	146	2-(3, 4-диметоксифенил) -7-(4-гидроксипиперазин-1-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	202-204	383,5
2	147	2-(3, 4-диметоксифенил) -7-[(3S) -3-(диметиламино) пирролидин-1-ил] -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	156-158	395,4
2	148	2-(3, 4-диметоксифенил) -7-[4-	158-161	409,1

		(диметиламино) пиперидин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он		
14	149	2-(4-метокси-3-метилфенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	198-203	351,5
14	150	3-[4-оксо-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-2-ил]бензонитрил	224-231	332,1
14	151	2-метокси-5-[4-оксо-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-2-ил]бензонитрил	191-197	362
14	152	2-(3-фтор-4-гидроксифенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	259-266	341,5
20*	153	2-(4-этокси-3-фторфенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	180-186	369,1
20	154	2-[3-фтор-4-(2,2,2-трифторэтокси)фенил]-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	198-201	423,1
14	155	2-(2-метил-1,3-бензоксазол-5-ил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	178-183	362
14	156	2-(2-метил-1,3-бензоксазол-5-ил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	ND	376,5
14	157	2-(3-фтор-4-метилфенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	174-176	339,5
14	158	2-(3-фтор-4-метилфенил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	175-178	353,5
2	159	7-[(3S)-3-аминопирролидин-1-ил]-2-(3,4-диметоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	148-151	367,1
2	160	2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	175 (S), 216-222	381,1
14	161	7-(1,4-дiazепан-1-ил)-2-(2-метил-1,3-бензотиазол-5-ил)-4Н-пиридо[1,2-	208-212	392,2

		а] пиримидин-4-он		
10	162	7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-2-(4-метил-1,3-тиазол-2-ил)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	225-230	342,1
10*	163	2-(4-метил-1,3-тиазол-2-ил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	142-147	328,2
25*	164	2-(3,4-диметоксифенил)-7-(1-метилпиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	181-183	380,1
2	165	2-(3,4-диметоксифенил)-7-[(3S)-3-(пропан-2-иламино) пирролидин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	169-172	409,1
1	166	2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-(4-метил-1,4-дiazепан-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	176-178	383,1
14	167	2-(4-метокси-3-нитрофенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	183-187	382,5
14	168	2-[3-фтор-4-(метилсульфанил)фенил]-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	174-176	371,1
15	169	7-(4-метил-1,4-дiazепан-1-ил)-2-(2-метилимидазо[1,2-а] пиридин-6-ил)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	208-213	389,1
9*	170	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а] пиразин-2-ил)-7-(4-метилпиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	254-256	390,4
14*	171	2-(2-метил-1,3-бензоксазол-6-ил)-7-(4-метилпиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	178-183	376,5
14	172	7-[(3R,5S)-3,5-диметилпиперазин-1-ил]-2-(2-метил-1,3-бензоксазол-6-ил)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	233-235	390,3
17	173	2-(5-фтор-6-метоксипиридин-3-ил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	175-180	370,5
17	174	7-[(3R,5S)-3,5-диметилпиперазин-1-ил]-	160-165	384,5

		2-(5-фтор-6-метоксипиридин-3-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он		
14	175	7-[(3R,5S)-3,5-диметилпиперазин-1-ил]-2-(2-метил-1,3-бензотиазол-5-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	208-212	406,1
14	176	2-(2-метил-1,3-бензотиазол-5-ил)-7-(4-метилпиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	214-218	392,1
14	177	2-(2-метил-1,3-бензотиазол-5-ил)-7-(4-метил-1,4-дiazепан-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	165-170	406,1
14	178	7-[(8aS)-гексагидропирроло[1,2-а]пиазин-2(1H)-ил]-2-(2-метил-1,3-бензотиазол-5-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	254-256	418,1
21*	179	2-(4-метил-1H-имидазол-1-ил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	204-206	311,1
21	180	2-(4-метил-1H-имидазол-1-ил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	204-206	325,5
2	181	2-(3,4-диметоксифенил)-7-{[2-(метиламино)этил]амино}-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	135-138	355
17*	182	2-(5-фтор-6-метоксипиридин-3-ил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	166-170	356,4
17	183	2-(3,5-дифтор-4-метоксифенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	167-169	373,4
17	184	2-(3,5-дифтор-4-метоксифенил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	182-184	387,5
2	185	7-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-(3-фтор-4-метоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	196-201	397,1
2	186	2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-(1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-	182-184	352

		а] пиримидин-4-он			
2	187	2-(3,4-диметоксифенил)-7-(пиперидин-4-иламино)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	ND	381,1	
23*	188	2-(3,4-диметоксифенил)-7-(1-метил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	165-168	378,3	
14	189	2-(3-хлор-5-фторфенил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	188-190	373	
14	190	2-(3-хлор-5-фторфенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	180-184	359,1	
18*	191	7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-2-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	168-170	325,2	
18	192	2-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	ND	311,1	
14	193	2-(2-метил-1,3-бензоксазол-6-ил)-7-[(3R)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	175-177	376,5	
14	194	7-(3,3-диметилпиперазин-1-ил)-2-(2-метил-1,3-бензоксазол-6-ил)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	160-162	390,5	
14	195	7-(1,4-дiazепан-1-ил)-2-(2-метил-1,3-бензоксазол-6-ил)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	134-137	376,5	
14	196	2-(2-метил-1,3-бензоксазол-6-ил)-7-(4-метил-1,4-diazепан-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	146-150	390,5	
14	197	7-[(8aS)-гексагидропирроло[1,2-а]пиразин-2(1Н)-ил]-2-(2-метил-1,3-бензоксазол-6-ил)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	214-217	402,5	
14	198	7-[(8aR)-гексагидропирроло[1,2-а]пиразин-2(1Н)-ил]-2-(2-метил-1,3-бензоксазол-6-ил)-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	194-199	402,5	

14	199	2-(4,5-диметоксипиридин-2-ил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	207-209	368,4
33	200	7-[3-(диметиламино)пирролидин-1-ил]-2-(3-фтор-4-метоксифенил)-4Н-хинолизин-4-он	259-261	382,1
33	201	7-(4-аминопиперидин-1-ил)-2-(3-фтор-4-метоксифенил)-4Н-хинолизин-4-он	ND	368,2
14	202	7-(4-этилпиперазин-1-ил)-2-(2-метил-1,3-бензоксазол-6-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	212-216	390,5
33	203a	7-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-(3-фтор-4-метоксифенил)-4Н-хинолизин-4-он	NI	NI
23	204	2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-(1-метил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	129-132	366
2	205	7-[(3S)-3-(диметиламино)пирролидин-1-ил]-2-(3-фтор-4-метоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	187-192	383,1
2	206	7-[(3R,4R)-3-(диметиламино)-4-гидроксипирролидин-1-ил]-2-(3-фтор-4-метоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	223-228	399
2	207	7-(4-аминопиперидин-1-ил)-2-(3-фтор-4-метоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	173-179	369,1
2	208	2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-[4-(метиламино)пиперидин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	167-171	383,1
16*	209	2-(8-фтор-2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	282-288	379,4
16	210	7-[(3R,5S)-3,5-диметилпиперазин-1-ил]-2-(8-фтор-2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	255-259	407,1
16	211	2-(8-фтор-2-метилимидазо[1,2-	262-266	407,6

		a] пиридин-6-ил) -7-(4-метил-1,4- диазепан-1-ил) -4Н-пиридо[1,2- а] пиримидин-4-он		
2	212	2-(3-фтор-4-метоксифенил) -7- [(3aR, 6aS) -гексагидропирроло[3,4- с] пиррол-2(1H) -ил] -4Н-пиридо[1,2- а] пиримидин-4-он	195-200	381,1
2	213	2-(3-фтор-4-метоксифенил) -7- [(3aR, 6aS) -5- метилгексагидропирроло[3,4-с] пиррол- 2(1H) -ил] -4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4- он	204-210	395,1
25	214	2-(3,4-диметоксифенил) -7-[1-(2- гидроксиэтил) пиперидин-4-ил] -4Н- пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	145-148	410
14	215	2-(4-фтор-3-метоксифенил) -7-[(3S) -3- метилпиперазин-1-ил] -4Н-пиридо[1,2- а] пиримидин-4-он	130-135	369,2
14	216	2-(4-фтор-3-метоксифенил) -7- (пиперазин-1-ил) -4Н-пиридо[1,2- а] пиримидин-4-он	170-172	355,2
14	217	2-(3,4-дифтор-5-метоксифенил) -7-[(3S) - 3-метилпиперазин-1-ил] -4Н-пиридо[1,2- а] пиримидин-4-он	160-164	387,1
14	218	2-(3,4-дифтор-5-метоксифенил) -7- (пиперазин-1-ил) -4Н-пиридо[1,2- а] пиримидин-4-он	155-160	373,1
14	219	2-(2-метил-1,3-бензотиазол-6-ил) -7- (пиперазин-1-ил) -4Н-пиридо[1,2- а] пиримидин-4-он	218-220	378,1
29*	220	7-(3-фтор-4-метоксифенил) -2- (пиперазин-1-ил) -4Н-пиридо[1,2- а] пиримидин-4-он	202-206	355
14	221	2-(2-метил-1,3-бензотиазол-6-ил) -7- [(3S) -3-метилпиперазин-1-ил] -4Н- пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	214-216	392,1
2	222	2-(3-фтор-4-метоксифенил) -7-[(3S) -3- (метиламино) пирролидин-1-ил] -4Н-	208-216	369,1

		пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он		
2	223	2- (3-фтор-4-метоксифенил) -7- { 4- [(метиламино) метил] пиперидин-1-ил } -4Н- пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	163-170	397, 1
2	224	7- [(3S) -3-аминопирролидин-1-ил] -2- (3- фтор-4-метоксифенил) -4Н-пиридо [1, 2- а] пиримидин-4-он	193-198	355
2	225	2- (3-фтор-4-метоксифенил) -7- { [(3R) -1- метилпирролидин-3-ил] амино } -4Н- пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	197-202	369, 1
2	226	7- { 4- [(диметиламино) метил] пиперидин-1- ил } -2- (3-фтор-4-метоксифенил) -4Н- пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	178-185	411, 1
14	227	2- (6-метоксипиридин-2-ил) -7- (пиперазин-1-ил) -4Н-пиридо [1, 2- а] пиримидин-4-он	214-218	338, 1
14	228	7- (пиперазин-1-ил) -2- (пиридин-3-ил) - 4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	175-178	308
14	229	2- (5-метоксипиридин-3-ил) -7- (пиперазин-1-ил) -4Н-пиридо [1, 2- а] пиримидин-4-он	192-195	338
14	230	3-фтор-5- { 7- [(3S) -3-метилпиперазин-1- ил] -4-оксо-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин- 2-ил } бензонитрил	185-188	364, 2
14	231	3-фтор-5- [4-оксо-7- (пиперазин-1-ил) - 4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-2- ил] бензонитрил	238-244	350, 1
2	232	2- (3-фтор-4-метоксифенил) -7- [(3'S, 4'S) -4'-гидрокси-1, 3'- бипирролидин-1'-ил] -4Н-пиридо [1, 2- а] пиримидин-4-он	226-232	425, 1
2	233	2- (3-фтор-4-метоксифенил) -7- { метил [(3R) -пирролидин-3-ил] амино } -4Н- пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	143-147	369, 1
14	234	7- [(3S) -3, 4-диметилпиперазин-1-ил] -2- (2-метил-1, 3-бензоксазол-6-ил) -4Н- пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	205-209	390, 6
27	235	2- (3, 4-диметоксифенил) -7- [(1-	ND	396, 2

		метилпиперидин-4-ил)окси]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он		
27	236	2-(3,4-диметоксифенил)-7-[(3S)-пирролидин-3-илокси]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	164-166	368,1
27*	237	2-(3,4-диметоксифенил)-7-(пиперидин-4-илокси)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	221-224	382,2
2	238	7-(1,4-дизаепан-1-ил)-2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	160-177	395,5
2*	239	2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-{метил[(3R)-1-метилпирролидин-3-ил]амино}-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	143-149	383,5
14	240	7-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-(2-метил-1,3-бензоксазол-6-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	206-210	404,5
14	241	7-[(3S)-3-(диметиламино)пирролидин-1-ил]-2-(2-метил-1,3-бензоксазол-6-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	189-193	390,5
14	242	7-(4-аминопиперидин-1-ил)-2-(2-метил-1,3-бензоксазол-6-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	ND	376,2
14	243	7-[(3aR,6aS)-гексагидропирроло[3,4-с]пиррол-2(1H)-ил]-2-(2-метил-1,3-бензоксазол-6-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	ND	388,3
14	244	7-[(3R)-3,4-диметилпиперазин-1-ил]-2-(2-метил-1,3-бензоксазол-6-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	181-187	390,5
34*	245	2-(3,4-диметоксифенил)-7-(1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-хинолизин-4-он	174-176	363,2
2	246	2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-[(3aR,6aR)-1-метилгексагидропирроло[3,4-b]пиррол-5(1H)-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	205-209	395,2

2	247	2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-7-(1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	186-191	378,2
23	248	2-(3,4-диметоксифенил)-7-[1-(2-гидроксиэтил)-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	134-137	408,2
35*	249	2-(3,4-диметоксифенил)-7-(1-метил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-хинолизин-4-он	194-196	377,2
24	250	2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-7-(пиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	176-181	380,3
23	251	2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-7-(1-метил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	187-196	392,2
25	252	2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-7-(1-метилпиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	170-174	394,2
14	253	7-(1,4-дiazепан-1-ил)-2-(2-метил-1,3-бензотиазол-6-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	205-207	392,2
14	254	2-(2-метил-1,3-бензотиазол-6-ил)-7-(4-метил-1,4-дiazепан-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	158-160	406,1
14	255	7-[(8aS)-гексагидропирроло[1,2-а]пиразин-2(1H)-ил]-2-(2-метил-1,3-бензотиазол-6-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	250-260 (DR)	418,1
14	256	2-(2-метил-1,3-бензотиазол-6-ил)-7-(4-метилпиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	230-234	392,1
2	257	2-(3,4-диметоксифенил)-7-[(3aR,6aS)-гексагидропирроло[3,4-с]пиррол-2(1H)-ил]-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	215 (S), 246-251	407,3
9	258	7-[(3S)-3,4-диметилпиперазин-1-ил]-2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-	220-223	404,3

		ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он		
9	259	2- (4, 6-диметилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил) -7- [(3R, 5S) -3, 4, 5-триметилпиперазин-1-ил] -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	254-260	418, 3
2	260	2- (3, 4-диметоксифенил) -9-метил-7- [(3aR, 6aS) -5-метилгексагидропирроло [3, 4-с] пиррол-2 (1Н) -ил] -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	212-218	421, 2
2	261	2- (3, 4-диметоксифенил) -7- [4- (диметиламино) пиперидин-1-ил] -9-метил-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	167-171	423, 3
22	262	7- [(1R, 5S) -8-азабицикло [3.2.1] окт-2-ен-3-ил] -2- (3, 4-диметоксифенил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	191-194	390, 2
26*	263	2- (3, 4-диметоксифенил) -7- (1, 2, 5, 6-тетрагидропиридин-3-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	146-150	364, 2
14	264	7- [(3R) -3- (диметиламино) пирролидин-1-ил] -2- (2-метил-1, 3-бензоксазол-6-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	203-207	390, 2
14	265	2- (2-этил-1, 3-бензоксазол-6-ил) -7- (пиперазин-1-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	170-175	376, 2
14	266	2- (2-этил-1, 3-бензоксазол-6-ил) -7- [(3S) -3-метилпиперазин-1-ил] -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	168-170	390, 2
14	267	2- (2-метил-1, 3-бензоксазол-6-ил) -7- [(3aR, 6aS) -5-метилгексагидропирроло [3, 4-с] пиррол-2 (1Н) -ил] -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	200-204	402, 2
29	268	7- (8-фтор-2-метилимидазо [1, 2-а] пиридин-6-ил) -2- (пиперазин-1-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	308 (D)	379, 2
16	269	2- (8-фтор-2-метилимидазо [1, 2-а] пиридин-6-ил) -7- (4-метилпиперазин-1-	283-286	393, 3

		ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он		
16	270	2-(8-фтор-2-метилимидазо [1, 2-а] пиридин-6-ил) -7-[(3R) -3-метилпиперазин-1-ил] -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	ND	393,3
16	271	2-(8-фтор-2-метилимидазо [1, 2-а] пиридин-6-ил) -7-[(8aS) -гексагидропирроло [1, 2-а] пиазин-2 (1H) -ил] -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	270-274	419,3
16	272	2-(8-фтор-2-метилимидазо [1, 2-а] пиридин-6-ил) -7-[(8aR) -гексагидропирроло [1, 2-а] пиазин-2 (1H) -ил] -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	277-280	419,2
16	273	7-(4-аминопиперидин-1-ил) -2-(8-фтор-2-метилимидазо [1, 2-а] пиридин-6-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	ND	393,3
16	274	7-[(3R) -3-(диметиламино) пирролидин-1-ил] -2-(8-фтор-2-метилимидазо [1, 2-а] пиридин-6-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	300 (D)	407,3
16	275	7-[(3S) -3-(диметиламино) пирролидин-1-ил] -2-(8-фтор-2-метилимидазо [1, 2-а] пиридин-6-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	294-297	407,3
30*	276	2-(4-аминопиперидин-1-ил) -7-(3-фтор-4-метоксифенил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	268-283	369,3
30	277	2-[(3R) -3-(диметиламино) пирролидин-1-ил] -7-(3-фтор-4-метоксифенил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	167-170	383,2
30	278	2-[(3S) -3-(диметиламино) пирролидин-1-ил] -7-(3-фтор-4-метоксифенил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	167-169	383,2
2	279	2-(3-фтор-4-метоксифенил) -7-[(3aR, 6aS) -5-(2-гидроксиэтил) гексагидропирроло [3, 4-с] пиррол-2 (1H) -ил] -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	180-186	425,3

2	280	2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7- [(3aS, 6aS)-1- метилгексагидропирроло[3,4-b]пиррол- 5(1H)-ил]-4H-пиридо[1,2-a]пиримидин-4- он	207-211	395,3
2	281	2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7- [(3aR, 6aS)-5-(пропан-2- ил)гексагидропирроло[3,4-c]пиррол- 2(1H)-ил]-4H-пиридо[1,2-a]пиримидин-4- он	189-192	423,3
2	282	7-[(3R)-3-(диметиламино)пирролидин-1- ил]-2-(3-фтор-4-метоксифенил)-4H- пиридо[1,2-a]пиримидин-4-он	188-191	383,3
14	283	7-(3,3-диметилпиперазин-1-ил)-2-(2- метил-1,3-бензотиазол-6-ил)-4H- пиридо[1,2-a]пиримидин-4-он	200-202	406,3
14	284	7-[(8aR)-гексагидропирроло[1,2- a]пиазин-2(1H)-ил]-2-(2-метил-1,3- бензотиазол-6-ил)-4H-пиридо[1,2- a]пиримидин-4-он	254-256	418,2
14	285	7-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2- (2-метил-1,3-бензотиазол-6-ил)-4H- пиридо[1,2-a]пиримидин-4-он	ND	420,2
27	286	2-(2-метил-1,3-бензотиазол-6-ил)-7- (пиперидин-4-илокси)-4H-пиридо[1,2- a]пиримидин-4-он	218-220	393,1
16	287	2-(8-хлор-2-метилимидазо[1,2- a]пиридин-6-ил)-7-(пиперазин-1-ил)-4H- пиридо[1,2-a]пиримидин-4-он	245-251	395,2
16	288	2-(8-хлор-2-метилимидазо[1,2- a]пиридин-6-ил)-7-[(3R, 5S)-3,5- диметилпиперазин-1-ил]-4H-пиридо[1,2- a]пиримидин-4-он	289-295	423,1
16	289	2-(8-хлор-2-метилимидазо[1,2- a]пиридин-6-ил)-7-(4-метил-1,4- дiazепан-1-ил)-4H-пиридо[1,2- a]пиримидин-4-он	239-244	423,2
16	290	2-(8-хлор-2-метилимидазо[1,2-	236-239	409,1

		а] пиридин-6-ил) -7- [(3R) -3- метилпиперазин-1-ил] -4Н-пиридо [1, 2- а] пиримидин-4-он		
16	291	2- (8-хлор-2-метилимидазо [1, 2- а] пиридин-6-ил) -7- [(3S) -3- метилпиперазин-1-ил] -4Н-пиридо [1, 2- а] пиримидин-4-он	236-239	409,1
16	292	2- (8-хлор-2-метилимидазо [1, 2- а] пиридин-6-ил) -7- [(8aR) - гексагидропирроло [1, 2-а] пиазин-2 (1Н) - ил] -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	274-280	435,2
16	293	2- (8-хлор-2-метилимидазо [1, 2- а] пиридин-6-ил) -7- [(8aS) - гексагидропирроло [1, 2-а] пиазин-2 (1Н) - ил] -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	269-275	435,2
46*	294	7- (3-фтор-4-метоксифенил) -2- (1, 2, 3, 6- тетрагидропиридин-4-ил) -4Н-пиридо [1, 2- а] пиримидин-4-он	188-192	352,1
39	295	7- [(3S) -3, 4-диметилпиперазин-1-ил] -2- (8-фтор-2-метилимидазо [1, 2-а] пиридин- 6-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	269-275	407,3
39	296	7- [(3R) -3, 4-диметилпиперазин-1-ил] -2- (8-фтор-2-метилимидазо [1, 2-а] пиридин- 6-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	279-282	407,3
39	297	7- [4- (диметиламино) пиперидин-1-ил] -2- (8-фтор-2-метилимидазо [1, 2-а] пиридин- 6-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	250-257	421,3
39	298	2- [4- (диметиламино) пиперидин-1-ил] -7- (3-фтор-4-метоксифенил) -4Н-пиридо [1, 2- а] пиримидин-4-он	157-160	397,2
37	299	2- (4-фтор-2-метил-1, 3-бензоксазол-6- ил) -7- (1, 2, 3, 6-тетрагидропиридин-4- ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	177-180	377,2
23	300	2- (4-фтор-2-метил-1, 3-бензоксазол-6- ил) -7- (1-метил-1, 2, 3, 6- тетрагидропиридин-4-ил) -4Н-пиридо [1, 2- а] пиримидин-4-он	178-181	391,3
2	301	2- (3-фтор-4-метоксифенил) -7-	194-201	395,2

		[(4aR, 7aR) -октагидро-6H-пирроло [3, 4-b] пиридин-6-ил) -4H-пиридо [1, 2-a] пиримидин-4-он		
37	302	2-(2-метил-1, 3-бензоксазол-6-ил) -7-(1, 2, 3, 6-тетрагидропиридин-4-ил) -4H-пиридо [1, 2-a] пиримидин-4-он	ND	359, 2
23	303	2-(2-метил-1, 3-бензоксазол-6-ил) -7-(1-метил-1, 2, 3, 6-тетрагидропиридин-4-ил) -4H-пиридо [1, 2-a] пиримидин-4-он	132-135	373, 3
23	304	7-(1-этил-1, 2, 3, 6-тетрагидропиридин-4-ил) -2-(2-метил-1, 3-бензоксазол-6-ил) -4H-пиридо [1, 2-a] пиримидин-4-он	128-131	387, 3
36	305	2-(4-фтор-2-метил-1, 3-бензоксазол-6-ил) -7-(пиперазин-1-ил) -4H-пиридо [1, 2-a] пиримидин-4-он	184-186	380, 3
36*	306	2-(4-фтор-2-метил-1, 3-бензоксазол-6-ил) -7-[(3S) -3-метилпиперазин-1-ил] -4H-пиридо [1, 2-a] пиримидин-4-он	207-209	394, 3
39	307	7-[(3S) -3, 4-диметилпиперазин-1-ил] -2-(4-фтор-2-метил-1, 3-бензоксазол-6-ил) -4H-пиридо [1, 2-a] пиримидин-4-он	194-196	408, 3
36	308	2-(4-фтор-2-метил-1, 3-бензоксазол-6-ил) -7-(4-метилпиперазин-1-ил) -4H-пиридо [1, 2-a] пиримидин-4-он	219-221	394, 1
36	309	7-(4-этилпиперазин-1-ил) -2-(4-фтор-2-метил-1, 3-бензоксазол-6-ил) -4H-пиридо [1, 2-a] пиримидин-4-он	212-214	408, 2
36	310	2-(4-фтор-2-метил-1, 3-бензоксазол-6-ил) -7-(4-пропилпиперазин-1-ил) -4H-пиридо [1, 2-a] пиримидин-4-он	175-178	422, 1
2	311	7-[(3aR, 6aS) -5-этилгексагидропирроло [3, 4-c] пиррол-2(1H) -ил] -2-(3-фтор-4-метоксифенил) -4H-пиридо [1, 2-a] пиримидин-4-он	157-167	409, 1
22	312	2-(3-фтор-4-метоксифенил) -9-метил-7-(1, 2, 3, 6-тетрагидропиридин-4-ил) -4H-пиридо [1, 2-a] пиримидин-4-он	211-215	366, 1
2	313	2-(3-фтор-4-метоксифенил) -7-	223-227	409, 1

		[(4aR, 7aR) -1-метилоктагидро-6H-пирроло [3, 4-b] пиридин-6-ил] -4H-пиридо [1, 2-a] пиримидин-4-он			
2	314	2-(3, 4-диметоксифенил) -9-метил-7-[(3R) -3-метилпиперазин-1-ил] -4H-пиридо [1, 2-a] пиримидин-4-он	177-184	395, 2	
23	315	2-(3-фтор-4-метоксифенил) -9-метил-7-(1-метил-1, 2, 3, 6-тетрагидропиридин-4-ил) -4H-пиридо [1, 2-a] пиримидин-4-он	184-190	380, 1	
24	316	7-(3-фтор-4-метоксифенил) -2-(пиперидин-4-ил) -4H-пиридо [1, 2-a] пиримидин-4-он	278-281	354, 1	
25	317	7-(3-фтор-4-метоксифенил) -2-(1-метилпиперидин-4-ил) -4H-пиридо [1, 2-a] пиримидин-4-он	202-205	368, 1	
23	318	7-(1-этил-1, 2, 3, 6-тетрагидропиридин-4-ил) -2-(4-фтор-2-метил-1, 3-бензоксазол-6-ил) -4H-пиридо [1, 2-a] пиримидин-4-он	151-154	405, 2	
23	319	2-(4-фтор-2-метил-1, 3-бензоксазол-6-ил) -7-(1-пропил-1, 2, 3, 6-тетрагидропиридин-4-ил) -4H-пиридо [1, 2-a] пиримидин-4-он	159-162	419, 3	
25	320	2-(3, 4-диметоксифенил) -7-[(1R, 5S) -8-метил-8-азабицикло [3.2.1] окт-3-ил] -4H-пиридо [1, 2-a] пиримидин-4-он	ND	406, 2	
2	321	2-(3, 4-диметоксифенил) -7-[(2R) -2-метилпиперазин-1-ил] -4H-пиридо [1, 2-a] пиримидин-4-он	ND	381, 1	
54*	322	2-(2-метил-1, 3-бензоксазол-6-ил) -7-[(3S) -3-метилпиперазин-1-ил] -4H-хинолизин-4-он	115-117	375, 3	
54	323	2-(2-метил-1, 3-бензоксазол-6-ил) -7-(4-метилпиперазин-1-ил) -4H-хинолизин-4-он	ND	375, 1	
39	324	7-[(3S) -4-этил-3-метилпиперазин-1-ил] -2-(2-метил-1, 3-бензоксазол-6-ил) -4H-хинолизин-4-он	288-290	403, 2	
39	325	7-[(3S) -3, 4-диметилпиперазин-1-ил] -2-(2-метил-1, 3-бензоксазол-6-ил) -4H-	>300	389, 2	

		хинолизин-4-он		
45	326	7-(4-аминопиперидин-1-ил)-2-(2-метил-1,3-бензоксазол-6-ил)-4Н-хинолизин-4-он	288-290	375,2
2	327	2-(3-фтор-4-метоксифенил)-9-метил-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо [1,2-а] пиримидин-4-он	198-202	383,1
2	328	7-[4-(диметиламино) пиперидин-1-ил]-2-(3-фтор-4-метоксифенил)-9-метил-4Н-пиридо [1,2-а] пиримидин-4-он	141-145	411,2
25	329	2-(3-фтор-4-метоксифенил)-9-метил-7-(1-метилпиперидин-4-ил)-4Н-пиридо [1,2-а] пиримидин-4-он	198-203	382,2
53	330	7-[4-(циклопропиламино) пиперидин-1-ил]-2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-4Н-пиридо [1,2-а] пиримидин-4-он	141 (S), 158-161	435,3
39	331	2-(8-хлор-2-метилимидазо [1,2-а] пиридин-6-ил)-7-[(3S)-3,4-диметилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо [1,2-а] пиримидин-4-он	258-262	423,2
2	332	2-(3,4-диметоксифенил)-7-[(3R,5S)-3,5-диметилпиперазин-1-ил]-9-метил-4Н-пиридо [1,2-а] пиримидин-4-он	225-233	409,3
2	333	2-(3,4-диметоксифенил)-7-[(3R)-3,4-диметилпиперазин-1-ил]-9-метил-4Н-пиридо [1,2-а] пиримидин-4-он	148 (S), 168-177	409,3
9	334	2-(4,6-диметилпиразоло [1,5-а] пиразин-2-ил)-7-(4-метил-1,4-дiazепан-1-ил)-4Н-пиридо [1,2-а] пиримидин-4-он	169-171	404,4
9	335	2-(4,6-диметилпиразоло [1,5-а] пиразин-2-ил)-7-[(3R)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо [1,2-а] пиримидин-4-он	ND	390,4
9	336	2-(4,6-диметилпиразоло [1,5-а] пиразин-2-ил)-7-[(8aS)-гексагидропирроло [1,2-а] пиразин-2 (1H)-ил]-4Н-пиридо [1,2-а] пиримидин-4-он	215-218	416,3
9	337	2-(4,6-диметилпиразоло [1,5-а] пиразин-2-ил)-7-[(8aR)-гексагидропирроло [1,2-	228-230	416,4

		а] пиаэин-2 (1Н) -ил] -4Н-пиридо [1, 2-а] пиаимидин-4-он		
9	338	2- (4, 6-диметилпиаэоло [1, 5-а] пиаэин-2-ил) -7- (4-этилпипераэин-1-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиаимидин-4-он	251-253	404, 4
9	339	7- [4- (диметиламино) пиперидин-1-ил] -2- (4, 6-диметилпиаэоло [1, 5-а] пиаэин-2-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиаимидин-4-он	208-210	418, 4
9	340	7- (3, 3-диметилпипераэин-1-ил) -2- (4, 6-диметилпиаэоло [1, 5-а] пиаэин-2-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиаимидин-4-он	195-197	404, 4
9	341	7- (4-циклопропилпипераэин-1-ил) -2- (4, 6-диметилпиаэоло [1, 5-а] пиаэин-2-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиаимидин-4-он	189-192	416, 4
38*	342	2- (4, 6-диметилпиаэоло [1, 5-а] пиаэин-2-ил) -7- (1, 2, 3, 6-тетрагидропиридин-4-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиаимидин-4-он	207-210	373, 3
39	343	2- (4, 6-диметилпиаэоло [1, 5-а] пиаэин-2-ил) -7- [(3R) -4-этил-3-метилпипераэин-1-ил] -4Н-пиридо [1, 2-а] пиаимидин-4-он	ND	418, 4
2	344	2- (3, 4-диметоксифенил) -9-метил-7- (4-метилпипераэин-1-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиаимидин-4-он	191-198	395, 3
2	345	2- (3, 4-диметоксифенил) -7- [4- (диметиламино) пиперидин-1-ил] -9-этил-4Н-пиридо [1, 2-а] пиаимидин-4-он	146-150	437, 3
23	346	2- (3, 4-диметоксифенил) -7- [1- (2-гидроксиэтил) -1, 2, 3, 6-тетрагидропиридин-4-ил] -9-метил-4Н-пиридо [1, 2-а] пиаимидин-4-он	169-179	422, 3
14	347	7- [4- (диметиламино) пиперидин-1-ил] -2- (2-метил-1, 3-бензотиазол-5-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиаимидин-4-он	218-220	420, 2
45	348	7- (4-аминопиперидин-1-ил) -2- (2-метил-1, 3-бензотиазол-5-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиаимидин-4-он	190-192	392, 1
45	349	7- [(3aR, 6aS) -гексагидропирроло [3, 4-с] пиррол-2 (1Н) -ил] -2- (2-метил-1, 3-	ND	404, 1

		бензотиазол-5-ил)-4Н-пиридо [1, 2- а] пиримидин-4-он			
23	350	2-(4, 6-диметилпиразоло [1, 5-а] пиразин- 2-ил)-7-(1-метил-1, 2, 3, 6- тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо [1, 2- а] пиримидин-4-он	193-197	387, 4	
23	351	2-(4, 6-диметилпиразоло [1, 5-а] пиразин- 2-ил)-7-(1-этил-1, 2, 3, 6- тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо [1, 2- а] пиримидин-4-он	202-204	401, 4	
23	352	2-(4, 6-диметилпиразоло [1, 5-а] пиразин- 2-ил)-7-(1-пропил-1, 2, 3, 6- тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо [1, 2- а] пиримидин-4-он	191-193	415, 5	
49*	353	2-(3, 4-диметоксифенил)-7-(1, 2, 3, 6- тетрагидропиридин-4-ил)-4Н- пиримидо [1, 2-а] пиримидин-4-он	ND	365, 1	
23	354	7-(1-циклопропил-1, 2, 3, 6- тетрагидропиридин-4-ил)-2-(4, 6- диметилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил)- 4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	ND	413, 4	
23	355	2-(4, 6-диметилпиразоло [1, 5-а] пиразин- 2-ил)-7-[1-(пропан-2-ил)-1, 2, 3, 6- тетрагидропиридин-4-ил]-4Н-пиридо [1, 2- а] пиримидин-4-он	186-189	415, 4	
23	356	7-(1-циклобутил-1, 2, 3, 6- тетрагидропиридин-4-ил)-2-(4, 6- диметилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил)- 4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	191-193	427, 4	
23	357	2-(4, 6-диметилпиразоло [1, 5-а] пиразин- 2-ил)-7-[1-(оксетан-3-ил)-1, 2, 3, 6- тетрагидропиридин-4-ил]-4Н-пиридо [1, 2- а] пиримидин-4-он	ND	429, 3	
53	358	2-(3, 4-диметоксифенил)-9-метил-7-[4- (метиламино) пиперидин-1-ил]-4Н- пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	ND	409, 3	
53	359	2-(3, 4-диметоксифенил)-7-[4- (этиламино) пиперидин-1-ил]-9-метил-4Н-	ND	423, 4	

		пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он		
2	360	2- (3, 4-диметоксифенил) -8-метил-7- (пиперазин-1-ил) -4Н-пиридо [1, 2- а] пиримидин-4-он	161-169	381,3
39	361	2- (3, 4-диметоксифенил) -7- [4- (пропан-2- иламино) пиперидин-1-ил] -4Н-пиридо [1, 2- а] пиримидин-4-он	ND	423,3
23	362	7- (1-циклобутил-1, 2, 3, 6- тетрагидропиридин-4-ил) -2- (3, 4- диметоксифенил) -4Н-пиридо [1, 2- а] пиримидин-4-он	152-154	418,3
23	363	2- (3, 4-диметоксифенил) -7- [1- (пропан-2- ил) -1, 2, 3, 6-тетрагидропиридин-4-ил] - 4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	116-118	406,3
23	364	2- (3, 4-диметоксифенил) -7- [1- (оксетан- 3-ил) -1, 2, 3, 6-тетрагидропиридин-4-ил] - 4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	178-180	420,3
23	365	2- (3, 4-диметоксифенил) -7- (1-пропил- 1, 2, 3, 6-тетрагидропиридин-4-ил) -4Н- пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	158-160	406,2
22	366	2- (3, 4-диметоксифенил) -7- [4- (метиламино) циклогекс-1-ен-1-ил] -4Н- пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	232-235	392,3
23	367	2- (3, 4-диметоксифенил) -7- [4- (диметиламино) циклогекс-1-ен-1-ил] -4Н- пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	162-164	406,2
23	368	2- (3, 4-диметоксифенил) -7- {4- [этил (метил) амино] циклогекс-1-ен-1- ил} -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	132-134	420,4
23	369	2- (3, 4-диметоксифенил) -7- {4- [метил (пропил) амино] циклогекс-1-ен-1- ил} -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	116-118	434,4
23	370	2- (3, 4-диметоксифенил) -7- (1-этил- 1, 2, 3, 6-тетрагидропиридин-4-ил) -4Н- пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	170-172	392,3
46	371	7- (3, 4-диметоксифенил) -2- (1, 2, 3, 6- тетрагидропиридин-4-ил) -4Н-пиридо [1, 2- а] пиримидин-4-он	172-178	364,3

46	372	7-(8-фтор-2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-2-(1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	ND	376,2
16	373	2-(8-фтор-2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-7-[4-(пропан-2-ил)пиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	260-264	421,3
16	374	2-(8-хлор-2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-7-[4-(пропан-2-ил)пиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	287-292	437,4
46	375	7-(2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-2-(1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	197-201	358,2
23	376	7-(2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-2-(1-метил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	203-207	372,2
23	377	7-(3,4-диметоксифенил)-2-(1-метил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	149-152	378,3
23	378	2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-7-(1-пропил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	171-177	420,3
23	379	7-(1-циклобутил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	167-178	432,3
55	380a	2-(2-метил-1,3-бензотиазол-6-ил)-7-(пиперидин-4-ил)-4Н-пиримидо[1,2-б]пиридазин-4-он	NI	NI
45	381	7-(4-аминопиперидин-1-ил)-2-(2-метил-1,3-бензотиазол-6-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	190-194	392,2
45	382	7-(3-аминопирролидин-1-ил)-2-(2-метил-1,3-бензотиазол-6-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	196-200	378,2
14	383	7-[(3R)-3-(диметиламино)пирролидин-1-	235-240	406,3

		ил]-2-(2-метил-1,3-бензотиазол-6-ил)-			
		4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он			
37	384	2-(2-метил-1,3-бензотиазол-6-ил)-7-(1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	124-126	375,2	
16	385	2-(8-фтор-2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-7-[4-(2-метоксиэтил)пиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	258-262	437,5	
23	386	2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-7-[1-(оксетан-3-ил)-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	180-195 (DR)	434,3	
23	387	2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-7-[1-(пропан-2-ил)-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	153-163	420,4	
23	388	2-(3,4-диметоксифенил)-7-(1-этил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	ND	406,4	
22	389	2-(3,4-диметоксифенил)-8-метил-7-(1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	175 (D)	378,3	
23	390	7-(1-циклопропил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	180-189	418,4	
23	391	2-(3,4-диметоксифенил)-8-метил-7-(1-метил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	174-178	392,4	
23	392	2-(2-метил-1,3-бензотиазол-6-ил)-7-(1-метил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	170-172	389,2	
23	393	7-[1-(2-гидроксиэтил)-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил]-2-(2-метил-1,3-бензотиазол-6-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	178-180	419,2	
23	394	2-(2-метил-1,3-бензотиазол-6-ил)-7-[1-	168-170	417,2	

		(пропан-2-ил)-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он		
23	395	7-(1-циклопропил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-2-(2-метил-1,3-бензотиазол-6-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	158-160	415,3
23	396	7-(1-этил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-2-(2-метил-1,3-бензотиазол-6-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	128-130 (DR)	403,2
39	397	7-[(3R)-3,4-диметилпиперазин-1-ил]-2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	247-249	404,5
56*	398	2-(3,4-диметоксифенил)-7-(1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиримидо[1,2-b]пиридазин-4-он	195-200	365,3
9	399	7-[(1S,4S)-2,5-диазабицикло[2.2.1]гепт-2-ил]-2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	218-221	388,3
39	400	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-[(1S,4S)-5-метил-2,5-диазабицикло[2.2.1]гепт-2-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	188-191	402,3
39	401	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-[(1S,4S)-5-этил-2,5-диазабицикло[2.2.1]гепт-2-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	175-177	416,4
57*	402	2-(3,4-диметоксифенил)-7-(1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиразино[1,2-а]пиримидин-4-он	205-208	365,4
24	403	2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-(пиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	122-125	354,3
25	404	2-(3,4-диметоксифенил)-7-(1-этилпиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	155-157	394,4
24	405	2-(3,4-диметоксифенил)-7-[цис-4-	156-158	394,4

		(метиламино) циклогексил]-4Н- пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он		
24	406	2-(3, 4-диметоксифенил)-7-(пиперидин-3- ил)-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	126-129	366, 3
53*	407	2-(3, 4-диметоксифенил)-9-метил-7-[4- (пропиламино) пиперидин-1-ил]-4Н- пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	178-184	437, 5
22	408	2-(3, 4-диметоксифенил)-9-этил-7- (1, 2, 3, 6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н- пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	171-177	392, 4
24	409	7-(2-метилимидазо [1, 2-а] пиридин-6-ил)- 2-(пиперидин-4-ил)-4Н-пиридо [1, 2- а] пиримидин-4-он	255-258	360, 4
24	410	7-(8-фтор-2-метилимидазо [1, 2- а] пиридин-6-ил)-2-(пиперидин-4-ил)-4Н- пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	295-298	378, 4
23	411	7-(8-фтор-2-метилимидазо [1, 2- а] пиридин-6-ил)-2-(1-метил-1, 2, 3, 6- тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо [1, 2- а] пиримидин-4-он	218-222	390, 4
16	412	7-(4-циклопропилпиперазин-1-ил)-2-(8- фтор-2-метилимидазо [1, 2-а] пиридин-6- ил)-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	254-258	419, 4
57	413а	2-(1, 3-диметилпирроло [1, 2-а] пиазин-7- ил)-7-(1, 2, 3, 6-тетрагидропиридин-4- ил)-4Н-пиазино [1, 2-а] пиримидин-4-он	NI	NI
2	414	2-(3, 4-диметоксифенил)-7-[(8aR) - гексагидропирроло [1, 2-а] пиазин-2 (1H) - ил]-9-метил-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин- 4-он	ND	421, 4
23	415	2-(3, 4-диметоксифенил)-9-этил-7-(1- метил-1, 2, 3, 6-тетрагидропиридин-4-ил)- 4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	177-182	406, 4
53	416	2-(3, 4-диметоксифенил)-9-метил-7-[4- (пропан-2-иламино) пиперидин-1-ил]-4Н- пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	178-183	437, 5
2	417	2-(3, 4-диметоксифенил)-7-[(8aS) - гексагидропирроло [1, 2-а] пиазин-2 (1H) -	183-189	421, 4

		ил]-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он		
23	418	2-(3,4-диметоксифенил)-9-этил-7-(1-этил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	148-153	420,5
53	419	2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-7-[4-(морфолин-4-ил)пиперидин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	219-224	465,5
9	420	2-(6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	202-204	362,2
57	421	2-(2-метил-1,3-бензоксазол-6-ил)-7-(1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиразино[1,2-а]пиримидин-4-она гидрохлорид (1/1)	ND	360,1
23	422	2-(2-метил-1,3-бензоксазол-6-ил)-7-(1-метил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиразино[1,2-а]пиримидин-4-он	240-242	374,3
23	423	7-(1-этил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-2-(2-метил-1,3-бензоксазол-6-ил)-4Н-пиразино[1,2-а]пиримидин-4-он	225-227	388,4
24	424	2-(2-метил-1,3-бензотиазол-6-ил)-7-(пиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	222-224	377,1
9	425	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-[4-(пирролидин-1-ил)пиперидин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	215-218	444,4
9	426	7-(1,4'-бипиперидин-1'-ил)-2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	236-238	458,4
9	427	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-[4-(4-метилпиперазин-1-ил)пиперидин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	198-200	473,5
9	428	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-[4-(морфолин-4-ил)пиперидин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	192-195	460,4
37	429	2-(2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-	206-208	358,4

		7-(1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он		
23	430	2-(2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-7-(1-метил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	137-140	372,2
23	431	7-(1-этил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-2-(2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	220-223	386,4
14	432	7-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-(2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	204-206	403,4
53	433	2-(3,4-диметоксифенил)-7-{4-[(2-гидроксиэтил)амино]пиперидин-1-ил}-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	185-193	439,4
25	434	2-(3,4-диметоксифенил)-9-этил-7-(1-метилпиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	146 (S), 166-169	408,4
53	435	7-[4-(диэтиламино)пиперидин-1-ил]-2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	149-155	451,5
25	436	2-(3,4-диметоксифенил)-9-этил-7-(1-этилпиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	157-162	422,4
14	437	2-(2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-7-[4-(пирролидин-1-ил)пиперидин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	230-232	429,4
51	438	2-(2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-7-(пиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	298-300	360,1
25	439	2-(2-метил-1,3-бензотиазол-6-ил)-7-(1-метилпиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	240-242	391,4
9	440	7-(4-метилпиперазин-1-ил)-2-(6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	230-240 (DR)	376,2
9	441	7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-2-(6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	235-240 (DR)	376,2

9	442	7-[(3R, 5S)-3, 5-диметилпиперазин-1-ил]-2-(6-метилпиразоло[1, 5-а]пиразин-2-ил)-4Н-пиридо[1, 2-а]пиримидин-4-он	258-260	390, 3
37*	443	2-(1-метил-1Н-индазол-5-ил)-7-(1, 2, 3, 6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1, 2-а]пиримидин-4-он	200-203	358, 2
37	444	2-[6-(диметиламино)пиридин-3-ил]-7-(1, 2, 3, 6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1, 2-а]пиримидин-4-он	255-257	348, 4
37	445	7-[4-(диэтиламино)пиперидин-1-ил]-2-(2-метилимидазо[1, 2-а]пиридин-6-ил)-4Н-пиридо[1, 2-а]пиримидин-4-он	208-210	431, 4
53	446	2-(3, 4-диметоксифенил)-7-{4-[2-(гидроксиэтил)(метил)амино]пиперидин-1-ил}-9-метил-4Н-пиридо[1, 2-а]пиримидин-4-он	164-171	453, 5
2	447	2-(3, 4-диметоксифенил)-9-этил-7-[(3R)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1, 2-а]пиримидин-4-он	140-147	409, 2
25	448	2-(2-метилимидазо[1, 2-а]пиридин-6-ил)-7-(1-метилпиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1, 2-а]пиримидин-4-он	218-220	374, 3
23	449	2-(1-метил-1Н-индазол-5-ил)-7-(1-метил-1, 2, 3, 6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1, 2-а]пиримидин-4-он	148-150	372, 3
23	450	2-[6-(диметиламино)пиридин-3-ил]-7-(1-метил-1, 2, 3, 6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1, 2-а]пиримидин-4-он	214-216	362, 4
9	451	7-[4-(диэтиламино)пиперидин-1-ил]-2-(4, 6-диметилпиразоло[1, 5-а]пиразин-2-ил)-4Н-пиридо[1, 2-а]пиримидин-4-он	232-235	446, 5
24	452	2-(4, 6-диметилпиразоло[1, 5-а]пиразин-2-ил)-7-(пиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1, 2-а]пиримидин-4-он	ND	375, 4
25	453	2-(4, 6-диметилпиразоло[1, 5-а]пиразин-2-ил)-7-(1-метилпиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1, 2-а]пиримидин-4-он	220-222	389, 3
25	454	2-(4, 6-диметилпиразоло[1, 5-а]пиразин-	170-172	403, 3

		2-ил)-7-(1-этилпиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он		
2	455	2-(3,4-диметоксифенил)-9-этил-7-[(8aR)-гексагидропирроло[1,2-а]пиразин-2(1H)-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	180-184	435,3
53	456	2-(3,4-диметоксифенил)-7-{4-[(2-метоксиэтил)амино]пиперидин-1-ил}-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	178-182	453,3
9	457	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-9-метил-7-(4-метилпиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	262-271	404,2
2	458	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-[(8aR)-гексагидропирроло[1,2-а]пиразин-2(1H)-ил]-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	244-256	430,3
2	459	7-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	231-241	432,4
25	460	7-(2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-2-(1-метилпиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	227-230	374,3
25	461	7-(2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-2-[1-(пропан-2-ил)пиперидин-4-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	215-218	402,3
25	462	7-(8-фтор-2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-2-(1-метилпиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	235-238	392,3
23	463	7-(1-этил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-2-(1-метил-1Н-индазол-5-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	172-174	386,3
23	464	2-(1-метил-1Н-индазол-5-ил)-7-(1-пропил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	152-154	400,4
24	465	2-[6-(диметиламино)пиридин-3-ил]-7-(пиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	208-210	350,3

9	466	7-(4-этилпиперазин-1-ил)-2-(6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	220-230 (DR)	390,3
9	467	7-[(8aR)-гексагидропирроло[1,2-а]пиразин-2(1H)-ил]-2-(6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	240-250 (DR)	402,3
9	468	7-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-(6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	240-242	404,3
9	469	7-[4-(2-гидроксиэтил)пиперазин-1-ил]-2-(6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	254-256	406,3
25	470	2-(2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-7-(1-пропилпиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	159-161	402,4
23	471	7-[1-(2-гидроксиэтил)-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил]-2-(1-метил-1Н-индазол-5-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	ND	402,3
9	472	7-[(3R)-3-метилпиперазин-1-ил]-2-(6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	240-244	376,2
38	473	2-(6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-(1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	260-265 (DR)	359,2
37	474	2-(2-метил-2Н-индазол-5-ил)-7-(1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	239-241	358,4
37	475	2-(1-метил-1Н-индазол-5-ил)-7-(1-метилпиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	216-218	374,4
25	476	2-(2-метил-2Н-индазол-5-ил)-7-(1-метил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	226-228	372,3
23	477	7-(1-этил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-2-(2-метил-2Н-индазол-5-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	198-200	386,4

23	478	7-(1-этилпиперидин-4-ил)-2-(2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	190-192	388,4
23	479	2-(1,3-диметилпирроло[1,2-а]пиразин-7-ил)-7-[1-(пропан-2-ил)-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил]-4Н-пиразино[1,2-а]пиримидин-4-он	220-222	415,3
22	480	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-9-метил-7-(1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	> 300	387,4
23	481	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-9-метил-7-(1-метил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	ND	401,4
23	482	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-(1-этил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	ND	415,5
23	483	7-(1-циклопропил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	ND	427,4
23	484	2-(6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-(1-метил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	126-128 (DR)	373,2
23	485	7-(1-этил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-2-(6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	ND	387,3
50*	486	2-(5,7-диметилфуро[2,3-с]пиридин-2-ил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	198-200	376,3
50	487	2-(5,7-диметилфуро[2,3-с]пиридин-2-ил)-7-(4-метилпиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	256-258	390,2
50	488	2-(5,7-диметилфуро[2,3-с]пиридин-2-ил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-	202-204	390,3

		пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он		
14	489	2- (1-метил-1Н-индазол-5-ил) -7- (4-метилпиперазин-1-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	194-196	375, 3
14	490	2- (1-метил-1Н-индазол-5-ил) -7- (пиперазин-1-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	206-208	361, 3
14	491	7- [4- (диметиламино) пиперидин-1-ил] -2- (1-метил-1Н-индазол-5-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	209-212	403, 5
14	492	7- (4-метил-1, 4-дiazепан-1-ил) -2- (1-метил-1Н-индазол-5-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	ND	389, 4
23	493	7- (1-этил-1, 2, 3, 6-тетрагидропиридин-4-ил) -2- (2-метил-1, 3-бензоксазол-6-ил) -4Н-пиримидо [1, 2-б] пиридазин-4-он	205-207	388, 4
16	494	2- (8-хлор-2-метилимидазо [1, 2-а] пиридин-6-ил) -7- (4-этилпиперазин-1-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	264-268	423, 4
39	495	2- (8-хлор-2-метилимидазо [1, 2-а] пиридин-6-ил) -7- [(3R) -4-этил-3-метилпиперазин-1-ил] -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	239-245	437, 5
39	496	2- (8-хлор-2-метилимидазо [1, 2-а] пиридин-6-ил) -7- [(3S) -4-этил-3-метилпиперазин-1-ил] -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	234-245	437, 5
39	497	2- (8-хлор-2-метилимидазо [1, 2-а] пиридин-6-ил) -7- [(3R) -3-метил-4- (пропан-2-ил) пиперазин-1-ил] -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	278-281	451, 3
39	498	2- (8-хлор-2-метилимидазо [1, 2-а] пиридин-6-ил) -7- [(3S) -3-метил-4- (пропан-2-ил) пиперазин-1-ил] -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	264-270	451, 3
58*	499	2- (2-метил-1, 3-бензоксазол-6-ил) -7- (пиперидин-4-ил) -4Н-пиримидо [1, 2-б] пиридазин-4-он	126-128	362, 2

25	500	2-(2-метил-1,3-бензоксазол-6-ил)-7-(1-метилпиперидин-4-ил)-4Н-пиримидо[1,2-b]пиридазин-4-он	272-275	376,4
25	501	7-(1-этилпиперидин-4-ил)-2-(2-метил-1,3-бензоксазол-6-ил)-4Н-пиримидо[1,2-b]пиридазин-4-он	284-286	390,4
59*	502	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-(пиперидин-4-ил)-4Н-пиразино[1,2-а]пиримидин-4-он	ND	376,4
25	503	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-(1-метилпиперидин-4-ил)-4Н-пиразино[1,2-а]пиримидин-4-он	257-259	390,3
25	504	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-(1-этилпиперидин-4-ил)-4Н-пиразино[1,2-а]пиримидин-4-он	ND	404,3
57	505	2-(1-метил-1Н-индазол-5-ил)-7-(1,2,3,6-тетрагидропиперидин-4-ил)-4Н-пиразино[1,2-а]пиримидин-4-он	228-230	359,2
23	506	2-(1-метил-1Н-индазол-5-ил)-7-(1-метил-1,2,3,6-тетрагидропиперидин-4-ил)-4Н-пиразино[1,2-а]пиримидин-4-он	234-236	373,3
23	507	7-(1-этил-1,2,3,6-тетрагидропиперидин-4-ил)-2-(1-метил-1Н-индазол-5-ил)-4Н-пиразино[1,2-а]пиримидин-4-он	ND	387,4
2	508	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-(4-этилпиперазин-1-ил)-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	241-252	418,5
2	509	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-9-метил-7-[(3R)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	213-222	404,5
2	510	7-[(3R)-3,4-диметилпиперазин-1-ил]-2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	244-253	418,4
2	511	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-[(3R)-4-этил-3-метилпиперазин-1-ил]-9-метил-4Н-пиридо[1,2-	240-245	432,5

		а] пиримидин-4-он		
60*	512	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-(пиперидин-4-ил)-4Н-пиримидо[1,2-б]пиридазин-4-он	ND	376,4
25	513	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-(1-метилпиперидин-4-ил)-4Н-пиримидо[1,2-б]пиридазин-4-он	265-267	390,3
25	514	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-(1-этилпиперидин-4-ил)-4Н-пиримидо[1,2-б]пиридазин-4-он	283-285	404,4
2	515	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-(октагидро-5Н-пирроло[3,2-с]пиридин-5-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	198-200	416,3
24	516	2-(8-хлор-2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-7-(пиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	287-293	394,2
25	517	2-(8-хлор-2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-7-(1-метилпиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	292-296	408,3
25	518	2-(8-хлор-2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-7-(1-этилпиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	240-246	422,3
25	519	2-(8-хлор-2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-7-[1-(пропан-2-ил)пиперидин-4-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	279-285	436,5
2	520	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-9-метил-7-(4-метил-1,4-дiazепан-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	ND	418,3
58	521	2-(2-метил-2Н-индазол-5-ил)-7-(пиперидин-4-ил)-4Н-пиримидо[1,2-б]пиридазин-4-он	ND	361,4
25	522	2-(2-метил-2Н-индазол-5-ил)-7-(1-метилпиперидин-4-ил)-4Н-пиримидо[1,2-б]пиридазин-4-он	260-262	375,2
25	523	7-(1-этилпиперидин-4-ил)-2-(2-метил-2Н-индазол-5-ил)-4Н-пиримидо[1,2-	253-255	389,3

		b] пиридазин-4-он		
25	524	2-(8-хлор-2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-7-(1-метилпиперидин-4-ил)-4Н-пиримидо[1,2-б]пиридазин-4-он	289-291	409,3
25	525	2-(8-хлор-2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-7-(1-этилпиперидин-4-ил)-4Н-пиримидо[1,2-б]пиридазин-4-он	284-286	423,2
25	526	2-(8-хлор-2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-7-[1-(2-гидроксиэтил)пиперидин-4-ил]-4Н-пиримидо[1,2-б]пиридазин-4-он	255-257	439,3
50	527	2-(5,7-диметилфуро[2,3-с]пиридин-2-ил)-7-[(3R,5S)-3,5-диметилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	260-262	404,3
50	528	7-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-(5,7-диметилфуро[2,3-с]пиридин-2-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	200-202	418,3
50	529	2-(5,7-диметилфуро[2,3-с]пиридин-2-ил)-7-[4-(2-гидроксиэтил)пиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	256-258	420,3
25	530	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-[1-(2-гидроксиэтил)пиперидин-4-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	228-230	419,3
9	531	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-[4-(2-гидроксиэтил)пиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	246-248	420,4
39	532	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-[(3R)-4-(2-гидроксиэтил)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	238-240	434,3
43	533	2-(8-хлор-2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-7-[(3S)-4-(2-метоксиэтил)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	179-183	467,3
43	534	2-(8-хлор-2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-7-{(3S)-4-[2-(2-гидроксиэтокси)этил]-3-метилпиперазин-1-ил}-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	201-205	497,3

39	535	2-(8-хлор-2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-7-[(3S)-4-циклопропил-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	253-257	449,3
39	536	2-(8-хлор-2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-7-[(3S)-4-циклобутил-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	228-232	463,3
43	537	2-(8-хлор-2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-7-[(3S)-4-(2-гидроксиэтил)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	228-234	453,3
43	538	2-(8-фтор-2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-7-[(3S)-4-(2-метоксиэтил)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	215-219	451,3
43	539	2-(8-фтор-2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-7-[(3S)-4-(2-гидроксиэтил)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	270-274	437,3
43	540	2-(8-фтор-2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-7-{(3S)-4-[2-(2-гидроксиэтокси)этил]-3-метилпиперазин-1-ил}-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	175-181	481,3
39	541	2-(8-фтор-2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-7-[(3S)-3-метил-4-(пропан-2-ил)пиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	191-194	435,3
39	542	7-[(3S)-4-циклопропил-3-метилпиперазин-1-ил]-2-(8-фтор-2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	242-246	433,4
39	543	7-[(3S)-4-циклобутил-3-метилпиперазин-1-ил]-2-(8-фтор-2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	264-267	447,3
2	544	7-(3,3-диметилпиперазин-1-ил)-2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-9-	ND	418,3

		метил-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он		
14	545	2- (1-метил-1Н-индазол-5-ил) -7- [(3R) -3-метилпиперазин-1-ил] -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	190-192	375, 3
9	546	2- (4-этил-6-метилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил) -7- (пиперазин-1-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	230-233	390, 5
9	547	2- (4-этил-6-метилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил) -7- (4-метилпиперазин-1-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	250-252	404, 5
9	548	2- (4-этил-6-метилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил) -7- (4-этилпиперазин-1-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	250-252	418, 5
9	549	2- (4-этил-6-метилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил) -7- [4- (2-гидроксиэтил) пиперазин-1-ил] -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	240-242	434, 5
9	550	7- [4- (диметиламино) пиперидин-1-ил] -2- (4-этил-6-метилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	258-260	432, 5
9	551	7- [4- (диэтиламино) пиперидин-1-ил] -2- (4-этил-6-метилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	232-235	460, 6
14	552	7- [(3R, 5S) -3, 5-диметилпиперазин-1-ил] -2- (1-метил-1Н-индазол-5-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	240-242	389, 5
14	553	2- (1-метил-1Н-индазол-5-ил) -7- [(3S) -3-метилпиперазин-1-ил] -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	206-208	375, 4
25	554	2- (2-метилимидазо [1, 2-а] пиридин-6-ил) -7- [1- (пропан-2-ил) пиперидин-4-ил] -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	218-220	402, 4
16	555	2- (2-метилимидазо [1, 2-а] пиридин-7-ил) -7- (пиперазин-1-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	272-277	361, 3
24	556	2- (2-метилимидазо [1, 2-а] пиридин-7-ил) -7- (пиперидин-4-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	257-260	360, 3

39	557	2-(2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-7-ил)- 7-(4-метилпиперазин-1-ил)-4Н- пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	285-288	375,3
39	558	7-(4-этилпиперазин-1-ил)-2-(2- метилимидазо[1,2-а]пиридин-7-ил)-4Н- пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	219-222	389,3
25	559	2-(2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-7-ил)- 7-(1-метилпиперидин-4-ил)-4Н- пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	255-260	374,3
25	560	7-(1-этилпиперидин-4-ил)-2-(2- метилимидазо[1,2-а]пиридин-7-ил)-4Н- пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	229-233	388,4
2	561	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин- 2-ил)-9-метил-7-[(3S)-3- метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2- а]пиримидин-4-он	210-219	404,4
2	562	7-[(3R,5S)-3,5-диметилпиперазин-1-ил]- 2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин- 2-ил)-9-метил-4Н-пиридо[1,2- а]пиримидин-4-он	273-283	418,4
2	563	7-[(3S)-3,4-диметилпиперазин-1-ил]-2- (4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2- ил)-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин- 4-он	244-253	418,4
2	564	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин- 2-ил)-9-метил-7-[(3R,5S)-3,4,5- триметилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2- а]пиримидин-4-он	297-310	432,4
23	565	2-(2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)- 7-[1-(пропан-2-ил)-1,2,3,6- тетрагидропиридин-4-ил]-4Н-пиридо[1,2- а]пиримидин-4-он	230-232	400,5
58	566	2-(2-метил-2Н-индазол-5-ил)-7- (пиперидин-4-ил)-4Н-пиразино[1,2- а]пиримидин-4-он	235-237	361,3
25	567	2-(2-метил-2Н-индазол-5-ил)-7-(1- метилпиперидин-4-ил)-4Н-пиразино[1,2- а]пиримидин-4-он	275-277	375,3

25	568	7-(1-этилпиперидин-4-ил)-2-(2-метил-2Н-индазол-5-ил)-4Н-пиразино[1,2-а]пиримидин-4-он	198-200	389,3
25	569	7-[1-(2-гидроксиэтил)пиперидин-4-ил]-2-(2-метил-2Н-индазол-5-ил)-4Н-пиразино[1,2-а]пиримидин-4-он	230-232	405,3
9	570	7-{4-[(диметиламино)метил]пиперидин-1-ил}-2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	206-208	432,3
9	571	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-[4-(пирролидин-1-илметил)пиперидин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	177-180	458,5
9	572	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-[4-(пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	192-195	472,6
9	573	2-(3,4-диметоксифенил)-7-{4-[(диметиламино)метил]пиперидин-1-ил}-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	182-184	423,3
9	574	2-(3,4-диметоксифенил)-7-[4-(пирролидин-1-илметил)пиперидин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	194-196	449,5
9	575	2-(3,4-диметоксифенил)-7-[4-(пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	184-186	463,5
25	576	7-[1-(2-гидроксиэтил)пиперидин-4-ил]-2-(2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	200-202	404,4
23	577	7-[1-(2-гидроксиэтил)-1,2,3,6-тетрагидропиперидин-4-ил]-2-(2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	248-250	402,2
25	578	2-(2-метил-2Н-индазол-5-ил)-7-(1-метилпиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	256-258	374,3
25	579	2-(2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-	277-280	375,3

		7-(1-метилпиперидин-4-ил)-4Н- пиразино[1,2-а]пиримидин-4-он		
25	580	7-(1-этилпиперидин-4-ил)-2-(2- метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-4Н- пиразино[1,2-а]пиримидин-4-он	255-258	389,3
25	581	7-[1-(2-гидроксиэтил)пиперидин-4-ил]- 2-(2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)- 4Н-пиразино[1,2-а]пиримидин-4-он	250-252	405,3
53	582	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин- 2-ил)-7-{4-[2- гидроксиэтил(метил)амино]пиперидин-1- ил}-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин- 4-он	250-259	462,4
53	583	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин- 2-ил)-9-метил-7-[4- (пропиламино)пиперидин-1-ил]-4Н- пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	231-241	446,4
2	584	7-(4-амино-4-метилпиперидин-1-ил)-2- (4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2- ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	200-203	404,5
58	585	2-(2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)- 7-(пиперидин-4-ил)-4Н-пиразино[1,2- а]пиримидин-4-он	ND	361,3
61*	586	2-(2-метил-2Н-индазол-5-ил)-7- (пиперазин-1-ил)-4Н-пиразино[1,2- а]пиримидин-4-он	160-162	362,3
58	587	2-(8-хлор-2-метилимидазо[1,2- а]пиридин-6-ил)-7-(пиперидин-4-ил)-4Н- пиразино[1,2-а]пиримидин-4-он	ND	395,3
58	588	2-(2,8-диметилимидазо[1,2-а]пиридин-6- ил)-7-(пиперидин-4-ил)-4Н- пиразино[1,2-а]пиримидин-4-он	ND	375,4
39	589	2-(2-метил-2Н-индазол-5-ил)-7-(4- метилпиперазин-1-ил)-4Н-пиразино[1,2- а]пиримидин-4-он	ND	376,4
39	590	7-(4-этилпиперазин-1-ил)-2-(2-метил- 2Н-индазол-5-ил)-4Н-пиразино[1,2- а]пиримидин-4-он	214-216	390,4

39	591	7-[4-(2-гидроксиэтил) пиперазин-1-ил]- 2-(2-метил-2Н-индазол-5-ил)-4Н- пиразино[1,2-а] пиримидин-4-он	200-202	406,4
25	592	2-(2,8-диметилимидазо[1,2-а] пиридин-6- ил)-7-(1-метилпиперидин-4-ил)-4Н- пиразино[1,2-а] пиримидин-4-он	249-251	389,3
25	593	2-(2,8-диметилимидазо[1,2-а] пиридин-6- ил)-7-(1-этилпиперидин-4-ил)-4Н- пиразино[1,2-а] пиримидин-4-он	242-244	403,4
25	594	2-(2,8-диметилимидазо[1,2-а] пиридин-6- ил)-7-[1-(2-гидроксиэтил) пиперидин-4- ил]-4Н-пиразино[1,2-а] пиримидин-4-он	242-244	419,4
25	595	2-(8-хлор-2-метилимидазо[1,2- а] пиридин-6-ил)-7-[1-(пропан-2- ил) пиперидин-4-ил]-4Н-пиразино[1,2- а] пиримидин-4-он	243-245	437,3
53	596	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а] пиразин- 2-ил)-7-[4-(этиламино) пиперидин-1-ил]- 9-метил-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	228-236	432,4
53	597	7-{4-[бис(2- гидроксиэтил) amino] пиперидин-1-ил}-2- (4,6-диметилпиразоло[1,5-а] пиразин-2- ил)-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин- 4-он	218-227	492,4
25	598	7-[1-(2-гидроксиэтил) пиперидин-4-ил]- 2-(2-метил-1,3-бензоксазол-6-ил)-4Н- пиримидо[1,2-б] пиридазин-4-он	205-207	406,3
25	599	2-(8-хлор-2-метилимидазо[1,2- а] пиридин-6-ил)-7-[1-(2- гидроксиэтил) пиперидин-4-ил]-4Н- пиразино[1,2-а] пиримидин-4-он	266-268	439,3
25	600	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а] пиразин- 2-ил)-7-[1-(оксетан-3-ил) пиперидин-4- ил]-4Н-пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	150-152	431,3
50	601	2-(5,7-диметилфуоро[2,3-с] пиридин-2- ил)-7-(4-этилпиперазин-1-ил)-4Н- пиридо[1,2-а] пиримидин-4-он	202-204	404,3
39	602	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а] пиразин-	210-212	430,3

		2-ил) -7-(1-метилоктагидро-5Н-пирроло [3, 2-с] пиридин-5-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он		
51*	603	2-(1-метил-1Н-индазол-5-ил) -7-(пиперидин-4-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	268-270	360,4
25	604	7-(1-этилпиперидин-4-ил) -2-(1-метил-1Н-индазол-5-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	184-186	388,5
25	605	7-[1-(2-гидроксиэтил) пиперидин-4-ил] -2-(1-метил-1Н-индазол-5-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	204-206	404,5
24	606	2-(2-метил-2Н-индазол-5-ил) -7-(пиперидин-4-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	194-196	360,4
24	607	2-(2, 8-диметилимидазо [1, 2-а] пиридин-6-ил) -7-(пиперидин-4-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	282-284	374,3
25	608	2-(2-метил-2Н-индазол-5-ил) -7-[1-(пропан-2-ил) пиперидин-4-ил] -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	ND	402,5
53	609	2-(4, 6-диметилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил) -7-{4-[2-гидроксиэтил) амино] пиперидин-1-ил} -9-метил-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	221-232	448,4
53	610	2-(4, 6-диметилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил) -9-метил-7-[4-(метиламино) пиперидин-1-ил] -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	218-227	418,4
53	611	2-(4, 6-диметилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил) -9-метил-7-[4-(пропан-2-иламино) пиперидин-1-ил] -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	215-225	446,4
25	612	7-(1-этилпиперидин-4-ил) -2-(2-метил-2Н-индазол-5-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	202-204	388,5
25	613	7-[1-(2-гидроксиэтил) пиперидин-4-ил] -2-(2-метил-2Н-индазол-5-ил) -4Н-	170-172	404,5

		пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он		
25	614	2- (2, 8-диметилимидазо [1, 2-а] пиридин-6-ил) -7- (1-метилпиперидин-4-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	200-202	388,5
25	615	2- (2, 8-диметилимидазо [1, 2-а] пиридин-6-ил) -7- (1-этилпиперидин-4-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	202-204	402,5
25	616	2- (2, 8-диметилимидазо [1, 2-а] пиридин-6-ил) -7- [1- (пропан-2-ил) пиперидин-4-ил] -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	242-244	416,5
25	617	2- (2, 8-диметилимидазо [1, 2-а] пиридин-6-ил) -7- [1- (2-гидроксиэтил) пиперидин-4-ил] -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	ND	418,5
9	618	2- (4-этил-6-метилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил) -7- (4-пропилпиперазин-1-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	243-245	432,5
9	619	2- (4-этил-6-метилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил) -7- [4- (пропан-2-ил) пиперазин-1-ил] -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	255-258	432,5
9	620	7- (4-циклопропилпиперазин-1-ил) -2- (4-этил-6-метилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	258-260	430,5
39	621	7- (4-циклобутилпиперазин-1-ил) -2- (4-этил-6-метилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	275-278	444,5
39	622	2- (4-этил-6-метилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил) -7- [4- (оксетан-3-ил) пиперазин-1-ил] -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	205-208	446,5
39	623	2- (4, 6-диметилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил) -7- (1-этилоктагидро-5Н-пирроло [3, 2-с] пиридин-5-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	176-178	444,5
39	624	2- (4, 6-диметилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил) -7- [1- (2-гидроксиэтил) октагидро-5Н-пирроло [3, 2-с] пиридин-5-ил] -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	184-187	460,5

40*	625	2-(4-метокси-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-(4-метилпиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	242-244	406,5
40*	626	2-(4-гидрокси-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-(4-метилпиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	280-283	392,4
25	627	2-(2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-7-[1-(пропан-2-ил)пиперидин-4-ил]-4Н-пиразино[1,2-а]пиримидин-4-он	229-231	403,3
25	628	7-(1-циклобутилпиперидин-4-ил)-2-(2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-4Н-пиразино[1,2-а]пиримидин-4-он	249-251	415,2
39*	629	7-[(3R)-3,4-диметилпиперазин-1-ил]-2-(4-этил-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	257-259	418,5
39	630	7-[(3R)-4-этил-3-метилпиперазин-1-ил]-2-(4-этил-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	256-258	432,5
39	631	2-(4-этил-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-[(3R)-3-метил-4-пропилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	243-245	446,5
39	632	2-(4-этил-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-[(3R)-4-(2-гидроксиэтил)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	238-241	448,5
9	633	7-[(3R,5S)-3,5-диметилпиперазин-1-ил]-2-(4-этил-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	258-260	418,4
9	634	2-(4-этил-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-[4-(пирролидин-1-ил)пиперидин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	229-232	458,6
9	635	2-(4-этил-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-	202-204	404,4

		а] пиримидин-4-он		
9	636	2-(4-этил-6-метилпиразоло [1,5-а] пиразин-2-ил)-7-(4-метил-1,4-дiazепан-1-ил)-4Н-пиридо [1,2-а] пиримидин-4-он	175-180	418,4
16	637	2-(8-этил-2-метилимидазо [1,2-а] пиридин-6-ил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо [1,2-а] пиримидин-4-он	264-271	389,4
16	638	2-(8-этил-2-метилимидазо [1,2-а] пиридин-6-ил)-7-[(3R)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо [1,2-а] пиримидин-4-он	230-234	403,4
16	639	2-(8-этил-2-метилимидазо [1,2-а] пиридин-6-ил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо [1,2-а] пиримидин-4-он	232-236	403,4
25	640	2-(4,6-диметилпиразоло [1,5-а] пиразин-2-ил)-7-[1-(пропан-2-ил) пиперидин-4-ил]-4Н-пиридо [1,2-а] пиримидин-4-он	196-198	417,5
25	641	7-(1-циклопропилпиперидин-4-ил)-2-(4,6-диметилпиразоло [1,5-а] пиразин-2-ил)-4Н-пиридо [1,2-а] пиримидин-4-он	180-183	415,5
25	642	7-(1-циклобутилпиперидин-4-ил)-2-(4,6-диметилпиразоло [1,5-а] пиразин-2-ил)-4Н-пиридо [1,2-а] пиримидин-4-он	189-191	429,5
39	643	2-(4-этил-6-метилпиразоло [1,5-а] пиразин-2-ил)-7-[(3R)-3-метил-4-(пропан-2-ил) пиперазин-1-ил]-4Н-пиридо [1,2-а] пиримидин-4-он	242-244	446,5
39	644	7-[(3R)-4-циклопропил-3-метилпиперазин-1-ил]-2-(4-этил-6-метилпиразоло [1,5-а] пиразин-2-ил)-4Н-пиридо [1,2-а] пиримидин-4-он	244-247	444,5
39	645	7-[(3R)-4-циклобутил-3-метилпиперазин-1-ил]-2-(4-этил-6-метилпиразоло [1,5-а] пиразин-2-ил)-4Н-пиридо [1,2-а] пиримидин-4-он	261-264	458,6
39	646	2-(4-этил-6-метилпиразоло [1,5-	216-219	460,5

		а] пиразин-2-ил) -7- [(3R) -3-метил-4- (оксетан-3-ил) пиперазин-1-ил] -4Н- пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он			
39	647	2- (8-этил-2-метилимидазо [1, 2- а] пиридин-6-ил) -7- [4- (2- гидроксиэтил) пиперазин-1-ил] -4Н- пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	248-253	433,3	
39	648	7- (4-циклобутилпиперазин-1-ил) -2- (8- этил-2-метилимидазо [1, 2-а] пиридин-6- ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	274-279	443,5	
39	649	2- (8-этил-2-метилимидазо [1, 2- а] пиридин-6-ил) -7- [(3R) -4- (2- гидроксиэтил) -3-метилпиперазин-1-ил] - 4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	217-220	447,4	
39	650	7- [(3R) -4-циклобутил-3-метилпиперазин- 1-ил] -2- (8-этил-2-метилимидазо [1, 2- а] пиридин-6-ил) -4Н-пиридо [1, 2- а] пиримидин-4-он	209-212	457,4	
39	651	2- (8-этил-2-метилимидазо [1, 2- а] пиридин-6-ил) -7- [(3S) -4- (2- гидроксиэтил) -3-метилпиперазин-1-ил] - 4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	220-223	447,4	
39	652	7- [(3S) -4-циклобутил-3-метилпиперазин- 1-ил] -2- (8-этил-2-метилимидазо [1, 2- а] пиридин-6-ил) -4Н-пиридо [1, 2- а] пиримидин-4-он	ND	457,5	
59	653	2- (4-этил-6-метилпиразоло [1, 5- а] пиразин-2-ил) -7- (пиперидин-4-ил) -4Н- пиразино [1, 2-а] пиримидин-4-он	ND	390,4	
25	654	2- (4-этил-6-метилпиразоло [1, 5- а] пиразин-2-ил) -7- (1-метилпиперидин-4- ил) -4Н-пиразино [1, 2-а] пиримидин-4-он	261-263	404,5	
25	655	2- (4-этил-6-метилпиразоло [1, 5- а] пиразин-2-ил) -7- (1-этилпиперидин-4- ил) -4Н-пиразино [1, 2-а] пиримидин-4-он	273-275	418,3	
24	656	2- (4-этил-6-метилпиразоло [1, 5- а] пиразин-2-ил) -7- (пиперидин-4-ил) -4Н- пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	236-238	389,4	

25	657	2-(4-этил-6-метилпиразоло[1,5- а]пиразин-2-ил)-7-(1-метилпиперидин-4- ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	190-192	403,5
25	658	2-(4-этил-6-метилпиразоло[1,5- а]пиразин-2-ил)-7-(1-этилпиперидин-4- ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	194-196	417,5
25	659	2-(4-этил-6-метилпиразоло[1,5- а]пиразин-2-ил)-7-[1-(2- гидроксиэтил)пиперидин-4-ил]-4Н- пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	207-209	433,5
25	660	2-(4-этил-6-метилпиразоло[1,5- а]пиразин-2-ил)-7-(1-пропилпиперидин- 4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	203-204	431,5
9	661	2-(4-этил-6-метилпиразоло[1,5- а]пиразин-2-ил)-7-[(3R)-3- метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2- а]пиримидин-4-он	185-188	404,5
43*	662	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин- 2-ил)-7-[1-(2-фторэтил)пиперидин-4- ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	197-199	421,5
43	663	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин- 2-ил)-7-[1-(3-фторпропил)пиперидин-4- ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	186-188	435,5
43	664	2-(4-этил-6-метилпиразоло[1,5- а]пиразин-2-ил)-7-[4-(2- фторэтил)пиперазин-1-ил]-4Н- пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	245-247	436,5
43	665	2-(4-этил-6-метилпиразоло[1,5- а]пиразин-2-ил)-7-[4-(3- фторпропил)пиперазин-1-ил]-4Н- пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	240-242	450,6
43	666	2-(4-этил-6-метилпиразоло[1,5- а]пиразин-2-ил)-7-[(3R)-4-(2- фторэтил)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н- пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	255-257	450,6
43	667	2-(4-этил-6-метилпиразоло[1,5- а]пиразин-2-ил)-7-[(3R)-4-(3- фторпропил)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-	244-246	464,6

		пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он		
43	668	2-(4-этил-6-метилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил)-7-[1-(2-фторэтил) пиперидин-4-ил]-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	206-208	435, 6
43	669	2-(4-этил-6-метилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил)-7-[1-(3-фторпропил) пиперидин-4-ил]-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	216-218	449, 6
43	670	2-(4, 6-диметилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил)-7-{(3R)-4-[2-(2-гидроксиэтокси) этил]-3-метилпиперазин-1-ил}-9-метил-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	ND	492, 4
24	671	2-(4, 6-диметилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил)-9-метил-7-(пиперидин-4-ил)-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	247-255	389, 3
25	672	2-(4, 6-диметилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил)-9-метил-7-(1-метилпиперидин-4-ил)-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	237-248	403, 4
39	673	2-(4, 6-диметилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил)-7-[(3R)-4-(2-гидроксиэтил)-3-метилпиперазин-1-ил]-9-метил-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	273-281	448, 4
48*	674	2-[8-(гидроксиметил)-2-метилимидазо [1, 2-а] пиридин-6-ил]-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	>320	391, 3
16	675	7-[(3R, 5S)-3, 5-диметилпиперазин-1-ил]-2-(8-этил-2-метилимидазо [1, 2-а] пиридин-6-ил)-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	ND	417, 4
16	676	2-(8-этил-2-метилимидазо [1, 2-а] пиридин-6-ил)-7-(4-метил-1, 4-дiazепан-1-ил)-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	ND	417, 3
39	677	2-[8-(гидроксиметил)-2-метилимидазо [1, 2-а] пиридин-6-ил]-7-(4-	262-266	405, 3

		метилпиперазин-1-ил) -4Н-пиридо [1, 2- а] пиримидин-4-он		
39	678	7- (4-этилпиперазин-1-ил) -2- [8- (гидроксиметил) -2-метилимидазо [1, 2- а] пиридин-6-ил] -4Н-пиридо [1, 2- а] пиримидин-4-он	258-262	419,3
25	679	2- (4-этил-6-метилпиразоло [1, 5- а] пиразин-2-ил) -7- [1- (пропан-2- ил) пиперидин-4-ил] -4Н-пиридо [1, 2- а] пиримидин-4-он	228-230	431,5
25	680	7- (1-циклопропилпиперидин-4-ил) -2- (4- этил-6-метилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2- ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	196-199	429,5
25	681	7- (1-циклобутилпиперидин-4-ил) -2- (4- этил-6-метилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2- ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	227-229	443,5
25	682	2- (4-этил-6-метилпиразоло [1, 5- а] пиразин-2-ил) -7- [1- (оксетан-3- ил) пиперидин-4-ил] -4Н-пиридо [1, 2- а] пиримидин-4-он	190-192	445,5
9	683	2- (4-циклопропил-6-метилпиразоло [1, 5- а] пиразин-2-ил) -7- (пиперазин-1-ил) -4Н- пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	226-229	402,4
9	684	2- (4-циклопропил-6-метилпиразоло [1, 5- а] пиразин-2-ил) -7- (4-метилпиперазин-1- ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	238-240	416,5
9	685	2- (4-циклопропил-6-метилпиразоло [1, 5- а] пиразин-2-ил) -7- (4-этилпиперазин-1- ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	236-238	430,5
9	686	2- (4-циклопропил-6-метилпиразоло [1, 5- а] пиразин-2-ил) -7- [4- (2- гидроксиэтил) пиперазин-1-ил] -4Н- пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	239-241	446,5
25	687	2- (4, 6-диметилпиразоло [1, 5-а] пиразин- 2-ил) -7- (1-пропилпиперидин-4-ил) -4Н- пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	185-187	417,4
41*	688	2- [4- (диметиламино) -6- метилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил] -7-	245-248	405,4

		(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он		
14	689	2-(2-метил-1Н-бензимидазол-6-ил)-7-(4-метилпиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	292-294	375,3
39	690	7-(4-этилпиперазин-1-ил)-2-(2-метил-1Н-бензимидазол-6-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	283-285	389,3
58	691	2-(2,8-диметилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-7-(пиперидин-4-ил)-4Н-пиримидо[1,2-б]пиридазин-4-он	215-217	375,4
58	692	2-(2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-7-(пиперидин-4-ил)-4Н-пиримидо[1,2-б]пиридазин-4-он	249-251	361,3
25	693	7-[1-(2,2-диметил-1,3-диоксан-5-ил)пиперидин-4-ил]-2-(4-этил-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	236-238	503,5
42*	694	7-[1-(1,3-дигидроксипропан-2-ил)пиперидин-4-ил]-2-(4-этил-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	228-230	463,6
62*	695	7-[(3R,5S)-3,5-диметилпиперазин-1-ил]-2-(1,3-диметилпирроло[1,2-а]пиразин-7-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	254-256	403,4
24	696	2-(8-этил-2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-7-(пиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	221-224	388,3
25	697	2-(8-этил-2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-7-(1-метилпиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	214-218	402,4
25	698	2-(8-этил-2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-7-(1-этилпиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	196-200	416,5
25	699	2-(8-этил-2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-7-[1-(2-гидроксиэтил)пиперидин-4-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	244-247	432,4

39	700	7-[(3R) -3,4-диметилпиперазин-1-ил]-2-(8-этил-2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	217-220	417,4
39	701	2-(8-этил-2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-7-[(3R) -4-этил-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	179-182	431,4
25	702	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-(1-этилпиперидин-4-ил)-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	231-240	417,4
25	703	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-[1-(2-гидроксиэтил)пиперидин-4-ил]-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	224-233	433,3
25	704	7-(1-циклобутилпиперидин-4-ил)-2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	228-237	443,5
25	705	9-метил-2-(2-метил-2Н-индазол-5-ил)-7-(1-метилпиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	222-227	388,3
2	706	7-[4-(диметиламино)-4-метилпиперидин-1-ил]-2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	237-239	432,4
2	707	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-[4-(этиламино)-4-метилпиперидин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	187-189	432,4
2	708	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-[4-метил-4-(пропиламино)пиперидин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	181-183	446,4
2	709	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-{4-[(2-гидроксиэтил)амино]-4-метилпиперидин-1-ил}-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	196-198	448,4
25	710	7-(1-циклобутилпиперидин-4-ил)-9-метил-2-(2-метил-2Н-индазол-5-ил)-4Н-	232-235	428,4

		пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он		
25	711	7-[1-(2-гидроксиэтил) пиперидин-4-ил]-9-метил-2-(2-метил-2Н-индазол-5-ил)-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	216-222	418, 4
25	712	2-(4, 6-диметилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил)-9-метил-7-(1-пропилпиперидин-4-ил)-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	216-223	431, 4
62	713	2-(1, 3-диметилпирроло [1, 2-а] пиразин-7-ил)-7-[(3R) -3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	ND	389, 3
47*	714	2-(8-циклопропил-2-метилимидазо [1, 2-а] пиридин-6-ил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	274-277	401, 4
47	715	2-(8-циклопропил-2-метилимидазо [1, 2-а] пиридин-6-ил)-7-[(3R) -3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	246-250	415, 4
47	716	2-(8-циклопропил-2-метилимидазо [1, 2-а] пиридин-6-ил)-7-[(3S) -3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	246-250	415, 4
47	717	2-(8-циклопропил-2-метилимидазо [1, 2-а] пиридин-6-ил)-7-[(3R, 5S) -3, 5-диметилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	205-209	429, 5
25	718	7-(1-циклопропилпиперидин-4-ил)-9-метил-2-(2-метил-2Н-индазол-5-ил)-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	226-231	414, 4
25	719	7-(1-этилпиперидин-4-ил)-9-метил-2-(2-метил-2Н-индазол-5-ил)-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	237-241	402, 5
2	720	2-(4, 6-диметилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил)-9-метил-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	254-264	390, 4
24	721	9-метил-2-(2-метил-2Н-индазол-5-ил)-7-(пиперидин-4-ил)-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	211 (S), 223-227	374, 3
27	722	2-(4, 6-диметилпиразоло [1, 5-а] пиразин-	249-252	405, 4

		2-ил)-7-[(1-метилпиперидин-4-ил) окси] - 4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он			
9	723	2-(6-метил-4-пропилпиразоло [1, 5- а] пиразин-2-ил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н- пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	250-252	404, 4	
9	724	7-(4-метилпиперазин-1-ил)-2-(6-метил- 4-пропилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил)- 4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	246-248	418, 4	
9	725	7-(4-этилпиперазин-1-ил)-2-(6-метил-4- пропилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил)-4Н- пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	231-233	432, 5	
9	726	7-[4-(2-гидроксиэтил) пиперазин-1-ил]- 2-(6-метил-4-пропилпиразоло [1, 5- а] пиразин-2-ил)-4Н-пиридо [1, 2- а] пиримидин-4-он	225-227	448, 4	
9	727	7-[(3R) -3-метилпиперазин-1-ил]-2-(6- метил-4-пропилпиразоло [1, 5-а] пиразин- 2-ил)-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	195-197	418, 4	
9	728	7-[(3S) -3-метилпиперазин-1-ил]-2-(6- метил-4-пропилпиразоло [1, 5-а] пиразин- 2-ил)-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	195-197	418, 4	
9	729	7-[(3R, 5S) -3, 5-диметилпиперазин-1-ил]- 2-(6-метил-4-пропилпиразоло [1, 5- а] пиразин-2-ил)-4Н-пиридо [1, 2- а] пиримидин-4-он	249-251	432, 5	
39	730	2-(1, 3-диметилпирроло [1, 2-а] пиразин-7- ил)-7-[(3R) -3-метил-4-(пропан-2- ил) пиперазин-1-ил]-4Н-пиридо [1, 2- а] пиримидин-4-он	249-251	431, 3	
63*	731	7-(4-амино-4-метилпиперидин-1-ил)-2- (1, 3-диметилпирроло [1, 2-а] пиразин-7- ил)-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	244-246	403, 3	
2	732	2-(4, 6-диметилпиразоло [1, 5-а] пиразин- 2-ил)-7-[(3S) -3-этилпиперазин-1-ил]-9- метил-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	243-251	418, 5	
16	733	2-[2-метил-8- (трифторметил) имидазо [1, 2-а] пиридин-6- ил]-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо [1, 2-	325-328	429, 3	

		а] пиримидин-4-он			
16	734	7-[(3R) -3-метилпиперазин-1-ил]-2-[2-метил-8-(трифторметил) имидазо [1, 2-а] пиридин-6-ил]-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	303-306	443,2	
16	735	7-[(3S) -3-метилпиперазин-1-ил]-2-[2-метил-8-(трифторметил) имидазо [1, 2-а] пиридин-6-ил]-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	>320	443,2	
16	736	7-[(3R, 5S) -3, 5-диметилпиперазин-1-ил]-2-[2-метил-8-(трифторметил) имидазо [1, 2-а] пиридин-6-ил]-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	293-296	457,3	
2	737	7-(4-амино-4-метилпиперидин-1-ил)-2-(4-этил-6-метилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил)-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	216-218	418,5	
14	738	2-(2, 7-диметил-2Н-индазол-5-ил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	194-196	375,4	
24	739	2-(2, 7-диметил-2Н-индазол-5-ил)-7-(пиперидин-4-ил)-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	228-230	374,4	
52	740	7-(3-аминопроп-1-ин-1-ил)-2-(4, 6-диметилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил)-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	242-244	345,4	
14	741	2-(2, 7-диметил-2Н-индазол-5-ил)-7-[(3R) -3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	170-172	389,4	
52	742	7-(3-аминопропил)-2-(4, 6-диметилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил)-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	ND	349,3	
64*	743	2-(1, 3-диметилпирроло [1, 2-а] пиразин-7-ил)-7-(1, 2, 3, 6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	189-191	372,3	
38	744	2-(4, 6-диметилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил)-7-(2, 2, 6, 6-тетраметил-1, 2, 3, 6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	218-221	429,5	

38	745	2-(4-этил-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-(2,2,6,6-тетраметил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	255-258	443,5
45	746	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-[(3aR,6aS)-гексагидропирроло[3,4-с]пиррол-2(1H)-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	239-242	402,4
2	747	2-(4-этил-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-[(3aR,6aS)-гексагидропирроло[3,4-с]пиррол-2(1H)-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	246-249	416,4
62	748	7-[(3R,5S)-3,5-диметилпиперазин-1-ил]-2-(1-этил-3-метилпирроло[1,2-а]пиразин-7-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	238-241	417,4
62	749	7-(1,4-дiazепан-1-ил)-2-(1-этил-3-метилпирроло[1,2-а]пиразин-7-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	200-202	403,4
14	750	2-(2,7-диметил-2Н-индазол-5-ил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	308-310	389,4
39	751	2-(2,7-диметил-2Н-индазол-5-ил)-7-[(3S)-3,4-диметилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	202-204	403,4
25	752	2-(2,7-диметил-2Н-индазол-5-ил)-7-(1-метилпиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	208-210	388,3
25	753	2-(2,7-диметил-2Н-индазол-5-ил)-7-(1-этилпиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	162-164	402,4
2	754	9-метил-2-(2-метил-2Н-индазол-5-ил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	233-243	375,3
2	755	9-метил-2-(2-метил-2Н-индазол-5-ил)-7-[(3R)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	ND	389,4
2	756	9-метил-2-(2-метил-2Н-индазол-5-ил)-7-	ND	389,3

		[(3S) -3-метилпиперазин-1-ил] -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он		
2	757	7- [3- (диметиламино) азетидин-1-ил] -2- (4, 6-диметилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	226-228	390, 4
2	758	7- [3- (диэтиламино) азетидин-1-ил] -2- (4, 6-диметилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	231-233	418, 5
2	759	2- (4, 6-диметилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил) -7- [3- (пирролидин-1-ил) азетидин-1-ил] -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	235-237	416, 4
9	760	7- (1, 4-дiazепан-1-ил) -2- (4-этил-6-метилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	212-214	404, 4
45	761	7- [(3aR, 6aS) -гексагидропирроло [3, 4-с] пиррол-2 (1H) -ил] -2- (6-метил-4-пропилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	212-214	430, 4
38	762	2- (6-метил-4-пропилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил) -7- (1, 2, 3, 6-тетрагидропиридин-4-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	257-260	401, 4
38	763	2- (4-этил-6-метилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил) -7- (1, 2, 3, 6-тетрагидропиридин-4-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	287-289	387, 4
45*	764	7- [(3S) -3- (аминометил) пирролидин-1-ил] -2- (4, 6-диметилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	244-246	390, 4
2	765	2- (4, 6-диметилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил) -7- [3- (пиперидин-1-ил) азетидин-1-ил] -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	220-223	430, 5
24	766	2- (6-метил-4-пропилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил) -7- (пиперидин-4-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	228-230	403, 4
2	767	7- (2, 7-дiazаспиро [4.4] non-2-ил) -2- (4, 6-диметилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-	208-210	416, 4

		ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он		
14	768	2- (2, 7-диметил-2Н-индазол-5-ил) -7- (4-метилпиперазин-1-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	216-218	389, 5
52*	769	7- [3- (диметиламино) пропил] -2- (4, 6-диметилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	136-138	377, 3
39	770	7- { (3S) -3- [(диметиламино) метил] пирролидин-1-ил} -2- (4, 6-диметилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	239-241	418, 4
24	771	2- (4-этил-6-метилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил) -9-метил-7- (пиперидин-4-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	241-249	403, 4
24	772	9-метил-2- (1-метил-1Н-индазол-5-ил) -7- (пиперидин-4-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	212-217	374, 3
22	773	2- (4-этил-6-метилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил) -9-метил-7- (1, 2, 3, 6-тетрагидропиридин-4-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	265 (D)	401, 3
25	774	2- (4-этил-6-метилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил) -9-метил-7- (1-метилпиперидин-4-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	220-227	417, 3
51	775	2- (1, 7-диметил-1Н-индазол-5-ил) -7- (пиперидин-4-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	220-222	374, 2
14	776	2- (1, 7-диметил-1Н-индазол-5-ил) -7- (пиперазин-1-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	160-163	375, 3
14	777	2- (1, 7-диметил-1Н-индазол-5-ил) -7- [(3S) -3-метилпиперазин-1-ил] -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	248-250	389, 3
39	778	7- { (3S) -3- [(диэтиламино) метил] пирролидин-1-ил} -2- (4, 6-диметилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	194-196	446, 4

39	779	2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-{(3S)-3-[(этиламино)метил]пирролидин-1-ил}-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	ND	418,4
2	780	7-{3-[(диметиламино)метил]азетидин-1-ил}-2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	228-230	404,4
2	781	7-{3-[(диэтиламино)метил]азетидин-1-ил}-2-(4,6-диметилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	205-207	432,4
62	782	2-(1-этил-3-метилпирроло[1,2-а]пиразин-7-ил)-7-[(8aS)-гексагидропирроло[1,2-а]пиразин-2(1H)-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	220-222	429,3
2	783	2-(4-этил-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-9-метил-7-{(3R)-3-метилпиперазин-1-ил}-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	223-233	418,4
25	784	9-метил-2-(1-метил-1Н-индазол-5-ил)-7-(1-метилпиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	255-263	388,3
39	785	7-{(3R)-3,4-диметилпиперазин-1-ил}-2-(4-этил-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	234-240	432,4
25	786	7-(1-этилпиперидин-4-ил)-9-метил-2-(1-метил-1Н-индазол-5-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	236-240	402,4
2	787	2-(4-этил-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-9-метил-7-{(3S)-3-метилпиперазин-1-ил}-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	227-236	418,4
2	788	7-[1-(2-гидроксиэтил)пиперидин-4-ил]-9-метил-2-(1-метил-1Н-индазол-5-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	225-228	418,4
2	789	7-{(3S)-3,4-диметилпиперазин-1-ил}-2-	235-241	432,4

		(4-этил-6-метилпиразоло [1,5-а] пиразин-2-ил) -9-метил-4Н-пиридо [1,2-а] пиримидин-4-он		
25	790	2-(4-этил-6-метилпиразоло [1,5-а] пиразин-2-ил) -7-(1-этилпиперидин-4-ил) -9-метил-4Н-пиридо [1,2-а] пиримидин-4-он	201-208	431,4
22	791	9-метил-2-(2-метил-2Н-индазол-5-ил) -7-(1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил) -4Н-пиразино [1,2-а] пиримидин-4-он	> 240 (D)	373,3
25	792	7-(1-циклобутилпиперидин-4-ил) -2-(4-этил-6-метилпиразоло [1,5-а] пиразин-2-ил) -9-метил-4Н-пиридо [1,2-а] пиримидин-4-он	231-237	457,3
25	793	2-(4-этил-6-метилпиразоло [1,5-а] пиразин-2-ил) -7-[1-(2-гидроксиэтил) пиперидин-4-ил] -9-метил-4Н-пиридо [1,2-а] пиримидин-4-он	210-216	447,4
16	794	2-(8-этил-2-метилимидазо [1,2-а] пиридин-6-ил) -7-[(8aR) -гексагидропирроло [1,2-а] пиразин-2(1H) -ил] -4Н-пиридо [1,2-а] пиримидин-4-он	231-235	429,3
16	795	2-(8-этил-2-метилимидазо [1,2-а] пиридин-6-ил) -7-[(8aS) -гексагидропирроло [1,2-а] пиразин-2(1H) -ил] -4Н-пиридо [1,2-а] пиримидин-4-он	229-233	429,3
51	796	9-метил-2-(2-метил-2Н-индазол-5-ил) -7-(пиперидин-4-ил) -4Н-пиразино [1,2-а] пиримидин-4-он	229-235	375,3
2	797	7-[(3R) -3-(аминометил) пирролидин-1-ил] -2-(4,6-диметилпиразоло [1,5-а] пиразин-2-ил) -4Н-пиридо [1,2-а] пиримидин-4-он	214-217	390,4
44*	798	2-(4,6-диметилпиразоло [1,5-а] пиразин-2-ил) -7-[(2S,6S) -2,6-диметил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил] -4Н-пиридо [1,2-а] пиримидин-4-он	228-231	401,3
2	799	7-{(3R) -3-	229-231	418,4

		[(диметиламино) метил] пирролидин-1-ил} - 2- (4, 6-диметилпиразоло [1, 5-а] пиразин- 2-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он		
24	800	7- [(2S, 6S) -2, 6-диметилпиперидин-4-ил] - 2- (4, 6-диметилпиразоло [1, 5-а] пиразин- 2-ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	248-250	403,3
16	801	2- (8-фтор-2-метилимидазо [1, 2- а] пиридин-6-ил) -7- [4- (2- гидроксиэтил) пиперазин-1-ил] -4Н- пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	ND	423,5
16	802	2- (имидазо [1, 2-а] пиридин-6-ил) -7- (4- метилпиперазин-1-ил) -4Н-пиридо [1, 2- а] пиримидин-4-он	ND	361,5
36	803	2- (4-фтор-2-метил-1, 3-бензоксазол-6- ил) -7- [(8aS) -гексагидропирроло [1, 2- а] пиразин-2 (1Н) -ил] -4Н-пиридо [1, 2- а] пиримидин-4-он	ND	420,6
65*	804	7- (2, 7-дiazаспиро [3.5] нон-7-ил) -2- (4, 6-диметилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2- ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	ND	416,2
14	805	7- (4-метилпиперазин-1-ил) -2- (2- метил [1, 2, 4] триазоло [1, 5-а] пиридин-6- ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	ND	376,1
16	806	7- (4-метилпиперазин-1-ил) -2- [2-метил- 8- (трифторметил) имидазо [1, 2-а] пиридин- 6-ил] -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	ND	443,6
16	807	2-метил-6- [7- (4-метилпиперазин-1-ил) - 4-оксо-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-2- ил] имидазо [1, 2-а] пиридин-8-карбонитрил	ND	400,6
16	808	2- (2, 8-диметилимидазо [1, 2-а] пиридин-6- ил) -7- (4-метилпиперазин-1-ил) -4Н- пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	ND	389,5
16	809	7- (4, 7-дiazаспиро [2.5] окт-7-ил) -2- (2, 8-диметилимидазо [1, 2-а] пиридин-6- ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	ND	401,4
25	810	2- (8-фтор-2-метилимидазо [1, 2- а] пиридин-6-ил) -7- (1-метилпиперидин-4- ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	ND	392,4

66*	811	2-(8-фтор-2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-7-(4-гидроксиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	ND	394,4
9	812	2-(4-этил-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-[(8aS)-гексагидропирроло[1,2-а]пиразин-2(1H)-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	ND	430,7
9	813	2-(4-этил-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-[(8aR)-гексагидропирроло[1,2-а]пиразин-2(1H)-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	ND	430,6
9	814	7-[(3R)-3-(диметиламино)пирролидин-1-ил]-2-(4-этил-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	ND	418,7
9	815	7-[(3S)-3-(диметиламино)пирролидин-1-ил]-2-(4-этил-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	ND	418,7
16	816	2-(8-фтор-2-метилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-7-[(8aS)-8a-метилгексагидропирроло[1,2-а]пиразин-2(1H)-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	ND	433,6
9	817	2-(4-этил-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-(4-этилпиперазин-1-ил)-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	ND	432,6
9	818	2-(4-этил-6-метилпиразоло[1,5-а]пиразин-2-ил)-7-[(8aS)-гексагидропирроло[1,2-а]пиразин-2(1H)-ил]-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	ND	444,6
16	819	2-(2,8-диметилимидазо[1,2-а]пиридин-6-ил)-7-(4-этилпиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он	ND	403,7
16	820	2-(2,8-диметилимидазо[1,2-а]пиридин-6-	ND	415,7

		ил) -7-[(8aS) -гексагидропирроло [1, 2- а] пиразин-2 (1Н) -ил] -4Н-пиридо [1, 2- а] пиримидин-4-он		
16	821	2- (2, 8-диметилимидазо [1, 2-а] пиридин-6- ил) -7- (8а-метилгексагидропирроло [1, 2- а] пиразин-2 (1Н) -ил) -4Н-пиридо [1, 2- а] пиримидин-4-он	ND	429,7
9	822	7- [(3R) -3- (диметиламино) пирролидин-1- ил] -2- (4-этил-6-метилпиразоло [1, 5- а] пиразин-2-ил) -9-метил-4Н-пиридо [1, 2- а] пиримидин-4-он	ND	432,6
9	823	2- (4-этил-6-метилпиразоло [1, 5- а] пиразин-2-ил) -7- { [2- (морфолин-4- ил) этил] amino} -4Н-пиридо [1, 2- а] пиримидин-4-он	ND	434,6
9	824	7- { [2- (диметиламино) этил] amino} -2- (4- этил-6-метилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2- ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	ND	392,6
9	825	7- { [2- (диметиламино) этил] (метил) amino} -2- (4- этил-6-метилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2- ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	ND	406,6
9	826	2- (4-этил-6-метилпиразоло [1, 5- а] пиразин-2-ил) -7- {метил [2- (метиламино) этил] amino} -4Н-пиридо [1, 2- а] пиримидин-4-он	ND	392,6
16	827	7- [(3R) -3- (диметиламино) пирролидин-1- ил] -2- (2, 8-диметилимидазо [1, 2- а] пиридин-6-ил) -4Н-пиридо [1, 2- а] пиримидин-4-он	ND	403,7
16	828	7- [(3S) -3- (диметиламино) пирролидин-1- ил] -2- (2, 8-диметилимидазо [1, 2- а] пиридин-6-ил) -4Н-пиридо [1, 2- а] пиримидин-4-он	ND	403,7
27	829	7- [2- (диметиламино) этокси] -2- (4-этил- 6-метилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил) -9- метил-4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	ND	407,6
27	830	7- [2- (диметиламино) этокси] -2- (4-этил-	ND	393,6

		6-метилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2-ил) - 4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он		
27	831	2- (4-этил-6-метилпиразоло [1, 5- а] пиразин-2-ил) -7- (пиперидин-4- илметокси) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин- 4-он	ND	419, 5
27	832	2- (4-этил-6-метилпиразоло [1, 5- а] пиразин-2-ил) -7- [2- (пиперидин-1- ил) этокси] -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин- 4-он	ND	433, 6
27	833	2- (4-этил-6-метилпиразоло [1, 5- а] пиразин-2-ил) -7- [3- (морфолин-4- ил) пропокси] -4Н-пиридо [1, 2- а] пиримидин-4-он	ND	449, 6
27	834	7- [3- (диметиламино) пропокси] -2- (4- этил-6-метилпиразоло [1, 5-а] пиразин-2- ил) -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4-он	ND	407, 6
9	835	2- (4, 6-диметилпиразоло [1, 5-а] пиразин- 2-ил) -7- [(3aR, 6aS) -5- метилгексагидропирроло [3, 4-с] пиррол- 2 (1Н) -ил] -4Н-пиридо [1, 2-а] пиримидин-4- он	ND	416, 5

или его соль, изотополог, стереоизомер, рацемат, энантиомер, диастереоизомер или таутомер.

В табл. 2 представлены определенные выделенные соединения в солевой форме соединения формулы (I), которые могут быть получены в соответствии с методиками указанного примера путем замены соответствующих исходных веществ, реагентов и условий проведения реакции. Получение любого свободного основания, изотополога, стереоизомера, рацемата, энантиомера, диастереоизомера или таутомера из солевой формы соединения формулы (I) также предполагается и дополнительно включено в объем описания, представленного в настоящем документе. В случаях, когда форма свободного основания соединения не была выделена из солевой формы, предполагается, что средний специалист в данной области техники сможет провести необходимые реакции для получения и выделения формы свободного основания соединения.

Термин "Соед." представляет собой "номер соединения", термин "Прим." представляет собой "номер примера" (где * указывает на то, что соответствующий пример для соединения представлен выше), термин "т.пл." представляет собой "точку плавления (°C)", термин "MS" представляет собой "пик(и) масс-спектрометрии m/z $[M+H]^+$, $[M+2+H]^+$, $[M-H]^-$ или $[M+2-H]^+$ ", термин "D" представляет собой "разложение/разложившееся", термин "DR" представляет собой "интервал разложения", термин "S" представляет собой "размягчение", термин "ND" указывает на то, что значение "не было определено", и термин "NI" указывает на то, что соединение "не было выделено".

Таблица 2

Пр.	Соед.	Название	Т.пл.	МС
1	71	2- (3, 5-дифтор-4-гидроксифенил) -7- (пиперазин-1-ил) -4Н-пиридо [1, 2- а] пиримидин-4-она гидрохлорид	290 (D)	359, 2
33	203	7- [4- (диметиламино) пиперидин-1-ил] -2- (3-фтор-4-метоксифенил) -4Н-хинолизин- 4-она ацетат	188-192	396, 2
55*	380	2- (2-метил-1, 3-бензотиазол-6-ил) -7- (пиперидин-4-ил) -4Н-пиримидо [1, 2- b] пиридазин-4-она трифторацетат (1/1)	230-235	378, 2
57	413	2- (1, 3-диметилпирроло [1, 2-а] пиразин-7- ил) -7- (1, 2, 3, 6-тетрагидропиридин-4- ил) -4Н-пиразино [1, 2-а] пиримидин-4-она гидрохлорид (1/2)	>300	373, 3

или его свободное основание, изотополог, стереоизомер, рацемат, энантиомер, диастереоизомер или таутомер.

Биологические примеры

С целью более детального описания и содействия в понимании настоящего описания, последующие неограничивающие биологические примеры представлены для более полной иллюстрации объема настоящего описания и не должны истолковываться как особым образом ограничивающие его объем. Та-

кие варианты настоящего описания, которые могут быть известны в настоящее время или могут быть разработаны впоследствии, и которые могли бы находиться в компетенции специалиста в данной области техники, считаются подпадающими под объем настоящего описания и представленными ниже в формуле изобретения. Указанные примеры иллюстрируют тестирование определенных соединений, описанных в настоящем документе, *in vitro* и/или *in vivo* и демонстрируют применимость соединений для лечения SMA посредством усиления включения экзона 7 SMN2 в мРНК, транскрибируемую с гена SMN2. Соединения формулы (I) усиливают включение экзона 7 SMN2 в мРНК, транскрибируемую с гена SMN2, и увеличивают уровни белка Smn, продуцируемого геном SMN2, а потому могут использоваться при лечении SMA у нуждающегося в этом субъекта-человека.

Пример 1. Мини-генная конструкция SMN2

Приготовление мини-генных конструкций

ДНК, соответствующую участку гена SMN2, который начинается от 5'-конца экзона 6 (ATAATTCCCC) (SEQ ID NO. 14) и заканчивается нуклеотидным остатком 23 экзона 8 (CAGCAC) (SEQ ID NO. 15), амплифицируют методом ПЦР с использованием следующих праймеров:

Прямой праймер:

5' - CGCGGATCCATAATTCCCCACACCTC - 3' (SEQ ID NO. 16)

Обратный праймер:

5' - CGCGGATCCGTGCTGCTCTATGCCAGCA - 3' (SEQ ID NO. 17)

5'-конец каждого праймера разрабатывали с целью добавления сайта узнавания рестрикционной эндонуклеазы BamHI на 5'-конец экзона 6 (GGATCC) (SEQ ID NO. 18) и 3'-конец после 23-го нуклеотида экзона 8. С применением сайта узнавания рестрикционной эндонуклеазы BamHI, ПЦР фрагмент клонировали в производное оригинального вектора pcDNA 3.1/Hygro, который модифицировали, как раскрыто в патентной публикации США № US 2005/0048549.

В модифицированный вектор добавляли новые UTR с применением сайтов рестрикции HindIII и BamHI, содержащих 5'DEG UTR:

5' - TAGCTTCTTACCCGTACTCCACCGTTGGCAGCACGATCGCACGTCCACGTGAACCATTGGTA
AACCTG - 3' (SEQ ID NO. 19),

клонированный в модифицированный вектор pcDNA3.1/Hygro вместе со стартовым кодом выше сайта рестрикции BamHI; и 3'DEG UTR:

5' -
ATCGAAAGTACAGGACTAGCCTTCCTAGCAACCGCGGGCTGGGAGTCTGAGACATCACTCAAG
ATATATGCTCGGTAACGTATGCTCTAGCCATCTAACTATTCCTATGTCTTATAGGG - 3'
(SEQ ID NO. 20),

клонированный в модифицированный вектор pcDNA3.1/Hygro с применением сайта узнавания рестрикционной эндонуклеазы NotI и сайта узнавания рестрикционной эндонуклеазы XhoI вместе со стоп-кодом сразу ниже сайта рестрикции NotI. Кроме того, с применением сайтов рестрикции BamHI и NotI в вектор клонировали ген люциферазы светлячка без стартового кодона.

Полученный мини-ген содержал (в 5'-3' порядке): 5'-DEG UTR; стартовый кодон; шесть дополнительных нуклеозидов, формирующих сайт рестрикции BamHI; нуклеотидные остатки экзона 6; нуклеотидные остатки интрона 6 SMN2; нуклеотидные остатки экзона 7 SMN2; нуклеотидные остатки интрона 7 SMN2; первые 23 нуклеотидных остатка экзона 8 SMN2; шесть дополнительных нуклеозидов, формирующих сайт рестрикции BamHI; и ген люциферазы светлячка без стартового кодона.

Методом сайт-направленного мутагенеза вставляли один остаток аденозина после нуклеотидного остатка 48 экзона 7 SMN2. Эту мини-генная конструкция называют SMN2-A.

Полученные с мини-генов SMN2 транскрипты, содержащих экзоны 6-8 и находящиеся между интроны, повторяют сплайсинг их эндогенной пре-мРНК (Lorson et al, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 1999, 96(11), 6307). Была создана репортерная конструкция альтернативного сплайсинга SMN2, содержащая экзоны 6-8, находящиеся между интроны и следующий за ними репортерный ген люциферазы. Отличительной чертой этой конструкции является отсутствие стартового кодона в гене люциферазы, инактивация терминирующего кодона (в открытой рамке считывания, которая кодирует белок SMN) экзона 7 посредством вставки нуклеотида после нуклеотидного остатка 48 экзона 7 и добавление стартового кодона (ATG) непосредственно выше экзона 6. После нуклеотидного остатка 48 экзона 7 вставляли один остаток аденозина (SMN2-A).

Мини-ген SMN2 разрабатывали таким образом, чтобы люциферазный репортер находился в рамке со стартовым кодом ATG непосредственно выше экзона 6, если экзон 7 присутствует в мРНК, и чтобы люциферазный репортер находился вне рамки со стартовым кодом ATG непосредственно выше экзона 6, если экзон 7 SMN2 удаляется в процессе сплайсинга пре-мРНК. Кроме того, в отсутствие экзона 7 открытая рамка считывания, которая начинается со стартового кодона ATG непосредственно выше экзона 6, содержит стоп-кодон во фрагменте экзона 8 SMN. Таким образом, в присутствии соединений, которые усиливают включение экзона 7 SMN2 в мРНК, транскрибируемую с гена SMN2, продуцируется больше транскриптов, содержащих экзон 7 и более функциональный репортер. Схематическая иллюстрация этого описания может быть найдена на фиг. 1.

Последовательность ДНК мини-генной конструкции SMN2-A (SEQ ID NO. 21) представлена на фиг. 2a. Отображение подпоследовательностей мини-гена SMN2-A представлено на фиг. 2b.

Пример 2. RT-qPCR анализ сплайсинга мРНК мини-гена SMN2 в культивируемых клетках

Для количественной оценки уровня полноразмерной мРНК мини-гена SMN2, содержащей экзон 7 SMN2, в линии клеток HEK293H, стабильно трансфицированных указанным мини-геном и обработанных тестируемым соединением, используют метод анализа, основанный на методе количественной ПЦР с обратной транскрипцией (RT-qPCR).

Материалы

Материал	Источник
Клетки HEK293H	ATCC, кат. № CRL-1573
Лизирующий буфер Cells-To-Ct	Life Technologies, Inc. (ранее Applied Biosystems); кат. № 4399002
DMEM	Life Technologies, Inc. (ранее Invitrogen); кат. № 11960-044
96-луночные планшеты с плоским дном	Becton Dickinson; кат. № 353072
Смесь ферментов для RT-PCR	Life Technologies, Inc. (ранее Applied Biosystems); № изд. 4388520 (также включена в AgPath-ID Kit; кат. № 4387391)
Буфер для RT-PCR	Life Technologies, Inc. (ранее Applied Biosystems); № изд. 4388519 (также включена в набор AgPath-ID; кат. № 4387391)
Набор AgPath-ID для одностадийного проведения RT-PCR	Life Technologies, Inc. (ранее Applied Biosystems); кат. № 4387391
Термоциклер	Life Technologies, Inc. (ранее Applied Biosystems); 7900HT

Протокол

Клетки HEK293H, стабильно трансфицированные описанной выше мини-генной конструкцией SMN2-A (10000 клеток на лунку), высевает в 200 мкл культуральной среды (DMEM с добавлением 10% FBS и 200 мкг/мл гигромицина) в 96-луночные планшеты с плоским дном, и сразу перемешивают планшет вращением для обеспечения правильного распределения клеток, образующих ровный монослой клеток. Клетки оставляют прикрепляться, по меньшей мере, в течение 4-6 ч. Тестируемые соединения последовательно разбавляют 100% DMSO в 3,16 раза с получением концентрационной зависимости по 7 точкам. В каждую содержащую клетки лунку добавляют раствор тестируемого соединения (1 мкл, 200× в DMSO), и инкубируют планшет в течение 24 часов в клеточном инкубаторе (37°C, 5% CO₂, 100% относительная влажность). Для каждой концентрации тестируемого соединения готовят 2 повтора. Затем клетки подвергают лизису в лизирующем буфере Cells-To-Ct и хранят лизат при -80°C.

Полноразмерную мРНК мини-гена SMN2-A и мРНК GAPDH количественно оценивают с использованием следующих праймеров и зондов, представленных в табл. 3. Прямой SMN праймер A (SEQ ID NO: 1) гибридизуется до нуклеотидной последовательности в экзоне 7 (нуклеотиды 22-40), обратный SMN праймер A (SEQ ID NO: 2) гибридизуется до нуклеотидной последовательности в кодирующей последовательности люциферазы светлячка, SMN зонд A (SEQ ID NO: 3) гибридизуется до нуклеотидной последовательности в экзоне 7 (нуклеотиды 50-54) и экзоне 8 (нуклеотиды 1-21). Сочетание указанных трех олигонуклеотидов обнаруживает лишь мини-гены SMN1 или SMN2 (RT-qPCR) и не обнаруживает эндогенные гены SMN1 или SMN2.

Таблица 3

Праймеры/зонды	Последовательность	Источник
Прямой SMN праймер А	SEQ ID NO.1: GAAGGAAGGTGCTCACATT	PTC ¹
Обратный SMN праймер А	SEQ ID NO.2: TCTTTATGTTTTGGCGTCTTC	PTC ¹
Прямой SMN зонд А	SEQ ID NO.3: 6FAM- AAGGAGAAATGCTGGCATAGAGCAGC-TAMRA	PTC ¹
Прямой hGAPDH зонд	SEQ ID NO.4: VIC- CGCCTGGTCACCGGGCTGCT-TAMRA	LTI ²
Прямой hGAPDH праймер	SEQ ID NO.5: CAACGGATTTGGTCGTATTGG	LTI ²
Обратный hGAPDH праймер	SEQ ID NO.6: TGATGGCAACAATATCCACTTTACC	LTI ²

¹Праймеры и зонд разработаны PTC Therapeutics, Inc.; коммерчески доступны от Life Technologies, Inc. (ранее Invitrogen).

Прямой и обратный SMN праймеры используют в конечных концентрациях 0,4 мкМ. SMN зонд используют в конечной концентрации 0,15 мкМ. GAPDH праймеры используют в конечных концентрациях 0,2 мкМ, и зонд - в концентрации 0,15 мкМ.

Смесь мини-ген SMN2/GAPDH (общий объем 15 мкл) приготавливают путем смешивания 7,5 мкл 2× буфера для RT-PCR, 0,4 мкл 25× смеси ферментов для RT-PCR, 0,75 мкл 20× смеси GAPDH праймера/зонда, 4,0075 мкл воды, 2 мкл 10-кратно разбавленного лизата клеток, 0,06 мкл 100 мкМ прямого SMN праймера, 0,06 мкл 100 мкМ обратного SMN праймера и 0,225 мкл 100 мкМ SMN зонда.

ПЦР проводят при следующих температурах в указанное время:

Стадия 1: 48°C (15 мин);

Стадия 2: 95°C (10 мин);

Стадия 3: 95°C (15 с);

Стадия 4: 60°C (1 мин);

затем повтор стадий 3 и 4 всего в течение 40 циклов.

Каждая реакционная смесь содержала и мини-ген SMN2-A, и GAPDH праймеры/зонд (мультиплекс-дизайн), что позволяет одновременно измерять уровни двух транскриптов.

Два продукта сплайсинга SMN продуцируются мини-геном SMN2. Первый продукт сплайсинга, содержащий экзон 7 и соответствующий полноразмерной мРНК SMN2, в настоящем документе называют термином "мРНК мини-гена SMN2 FL". Второй продукт сплайсинга без экзона 7 в настоящем документе называют термином "мРНК мини-гена SMN2 Δ7".

Увеличение мРНК мини-гена SMN2 FL относительно таковой в клетках, обработанных контролем с растворителем, определяют исходя из данных ПЦР в режиме реального времени с использованием модифицированного метода $\Delta\Delta C_t$ (описанного в Livak and Schmittgen, Methods, 2001, 25:402-8). Эффективность амплификации (E) рассчитывают из наклона кривой амплификации, индивидуально для мРНК мини-гена SMN2 FL и мРНК GAPDH. Копийности для мРНК мини-гена SMN2 FL и мРНК GAPDH рассчитывают как $(1 + E)^{-C_t}$, где C_t представляет собой пороговое значение для каждого ампликона. Копийность мРНК мини-гена SMN2 FL нормируют к копииности мРНК GAPDH. Затем, нормированную копиюность мРНК мини-гена SMN2 FL в образцах, обработанных тестируемым соединением, делят на нормированную копиюность мРНК мини-гена SMN2 FL в клетках, обработанных растворителем, для определения уровня мРНК мини-гена SMN2 FL относительно контроля с растворителем.

Результаты

Как видно на фиг. 3, в клетках, обработанных соединением 6 (фиг. 3a) и соединением 170 (фиг. 3b), при малых концентрациях повышался уровень мРНК мини-гена SMN2 FL. Два тестируемых соединения полностью восстанавливали включение экзона 7 относительно необработанных клеток.

Для соединений формулы (I) или их формы, представленных в настоящем документе, в табл. 4 представлены значения $EC_{1.5x}$ продукции полноразмерной мРНК SMN2, которые рассчитаны из концентрации зависимости по 7 точкам, полученной для каждого тестируемого соединения в соответствии с методикой, описанной в биологическом примере 2. Термин " $EC_{1.5x}$ продукция полноразмерной мРНК SMN2" определен как концентрация тестируемого соединения, которая эффективно увеличивает количество полноразмерной мРНК SMN2 до уровня, в 1,5 раза большего по сравнению с таковым для клеток, обработанных растворителем. Значение $EC_{1.5x}$ продукции полноразмерной мРНК SMN2 между >3 мкМ и ≤ 30 мкМ обозначают одной звездочкой (*), значение $EC_{1.5x}$ между >1 мкМ и ≤ 3 мкМ обозначают двумя звездочками (**), значение $EC_{1.5x}$ между $>0,3$ мкМ и ≤ 1 мкМ обозначают тремя звездочками (***), значение $EC_{1.5x}$ между $>0,1$ мкМ и $\leq 0,3$ мкМ обозначают четырьмя звездочками (****), и значение $EC_{1.5x} \leq 0,1$ мкМ обозначают пятью звездочками (*****).

Соед. ЕС _{1.5x}		Таблица 4 Соед. ЕС _{1.5x}		Соед. ЕС _{1.5x}	
1	***	280	**	558	**
2	**	281	****	559	**
3	***	282	***	560	**
4	**	283	*****	561	*****
5	*	284	***	562	***
6	*****	285	*****	563	****
7	***	286	***	564	**
8	****	287	*****	565	*****
9	**	288	*****	566	*****
10	**	289	*****	567	****
11	***	290	*****	568	*****
12	***	291	*****	569	*****

037123

13	**	292	*****	570	***
14	**	293	*****	571	***
15	**	294	*****	572	***
16	**	295	*****	573	***
17	**	296	*****	574	***
18	***	297	*****	575	***
19	**	298	***	576	*****
20	**	299	*****	577	*****
21	*	300	*****	578	*****
22	***	301	**	579	****
23	*	302	*****	580	*****
24	**	303	*****	581	****
25	**	304	*****	582	*****
26	*	305	*****	583	*****
27	*	306	*****	584	*****
28	*	307	*****	585	*****
29	*	308	*****	586	****
30	*****	309	*****	587	*****
31	**	310	*****	588	*****
32	**	311	****	589	****
33	**	312	*****	590	***
34	**	313	**	591	***
35	*	314	*****	592	****
36	*	315	*****	593	*****
37	**	316	****	594	****
38	*	317	***	595	*****
39	*	318	*****	596	*****
40	*	319	*****	597	****
41	***	320	***	598	****

037123

42	**	321	**	599	*****
43	****	322	*****	600	****
44	**	323	****	601	*****
45	*	324	***	602	*****
46	**	325	***	603	****
47	**	326	**	604	***
48	*	327	*****	605	***
49	*	328	*****	606	*****
50	*	329	*****	607	*****
51	*	330	****	608	****
52	*	331	*****	609	*****
53	**	332	***	610	*****
54	**	333	****	611	***
55	**	334	*****	612	*****
56	**	335	*****	613	*****
57	*	336	****	614	*****
58	*	337	*****	615	*****
59	**	338	*****	616	*****
60	**	339	*****	617	*****
61	***	340	*****	618	*****
62	****	341	***	619	****
63	**	342	*****	620	***
64	*	343	*****	621	***
65	*	344	****	622	**
66	***	345	*****	623	*****
67	****	346	*****	624	*****
68	****	347	*****	625	**
69	***	348	****	626	***
70	**	349	*****	627	****

037123

71	**	350	*****	628	***
72	*****	351	*****	629	*****
73	*	352	*****	630	*****
74	*****	353	****	631	****
75	*****	354	*****	632	*****
76	***	355	*****	633	*****
77	***	356	*****	634	*****
78	**	357	****	635	*****
79	****	358	*****	636	*****
80	**	359	*****	637	*****
81	***	360	**	638	*****
82	**	361	****	639	*****
83	***	362	***	640	*****
84	**	363	***	641	*****
85	**	364	**	642	*****
86	****	365	****	643	****
87	****	366	*****	644	****
88	**	367	*****	645	*****
89	**	368	*****	646	***
90	**	369	*****	647	*****
91	**	370	****	648	*****
92	**	371	****	649	*****
93	**	372	*****	650	*****
94	**	373	*****	651	*****
95	**	374	*****	652	*****
96	***	375	*****	653	*****
97	**	376	*****	654	*****
98	**	377	***	655	*****
99	***	378	*****	656	*****

037123

100	***	379	****	657	*****
101	***	380	****	658	*****
102	***	381	****	659	*****
103	***	382	*****	660	*****
104	***	383	***	661	*****
105	****	384	*****	662	*****
106	***	385	*****	663	*****
107	***	386	***	664	***
108	****	387	***	665	****
109	*****	388	*****	666	****
110	****	389	**	667	*****
111	****	390	***	668	*****
112	***	391	**	669	*****
113	**	392	****	670	*****
114	**	393	*****	671	*****
115	*****	394	****	672	*****
116	****	395	***	673	*****
117	*****	396	*****	674	*****
118	****	397	*****	675	*****
119	****	398	***	676	*****
120	*****	399	***	677	*****
121	*****	400	****	678	*****
122	**	401	****	679	*****
123	**	402	*****	680	*****
124	***	403	*****	681	*****
125	***	404	***	682	***
126	****	405	****	683	*****
127	***	406	***	684	****
128	***	407	*****	685	****

037123

129	***	408	*****	686	***
130	**	409	*****	687	*****
131	*****	410	*****	688	**
132	*****	411	*****	689	****
133	*****	412	*****	690	*****
134	*****	413	*****	691	*****
135	*****	414	*****	692	****
136	*****	415	*****	693	**
137	****	416	*****	694	*****
138	****	417	****	695	*****
139	**	418	*****	696	*****
140	**	419	****	697	*****
141	*****	420	*****	698	*****
142	***	421	*****	699	*****
143	*****	422	*****	700	*****
144	*****	423	*****	701	*****
145	**	424	*****	702	*****
146	**	425	*****	703	*****
147	**	426	***	704	****
148	****	427	**	705	*****
149	***	428	***	706	*****
150	***	429	*****	707	*****
151	****	430	*****	708	*****
152	****	431	*****	709	*****
153	***	432	*****	710	*****
154	**	433	*****	711	*****
155	****	434	***	712	*****
156	***	435	****	713	*****
157	**	436	***	714	*****

037123

158	**	437	*****	715	*****
159	**	438	*****	716	*****
160	*****	439	*****	717	*****
161	***	440	*****	718	*****
162	***	441	*****	719	*****
163	**	442	*****	720	*****
164	***	443	*****	721	*****
165	**	444	***	722	*****
166	***	445	*****	723	*****
167	*****	446	*****	724	***
168	***	447	*****	725	*****
169	*****	448	*****	726	***
170	*****	449	*****	727	*****
171	*****	450	***	728	*****
172	*****	451	*****	729	*****
173	***	452	*****	730	*****
174	**	453	*****	731	*****
175	*****	454	*****	732	***
176	***	455	*****	733	*****
177	*****	456	*****	734	*****
178	***	457	*****	735	*****
179	***	458	*****	736	*****
180	**	459	*****	737	*****
181	**	460	*****	738	*****
182	***	461	***	739	*****
183	**	462	*****	740	***
184	**	463	*****	741	*****
185	*****	464	*****	742	*****
186	*****	465	***	743	*****

037123

187	**	466	*****	744	*****
188	*****	467	*****	745	*****
189	***	468	*****	746	*****
190	***	469	****	747	*****
191	**	470	*****	748	*****
192	**	471	*****	749	*****
193	*****	472	*****	750	*****
194	*****	473	*****	751	*****
195	*****	474	*****	752	*****
196	*****	475	***	753	*****
197	****	476	*****	754	*****
198	*****	477	*****	755	*****
199	***	478	*****	756	*****
200	**	479	*****	757	***
201	*****	480	*****	758	***
202	***	481	*****	759	****
203	**	482	*****	760	*****
204	*****	483	*****	761	*****
205	***	484	*****	762	*****
206	**	485	*****	763	*****
207	*****	486	*****	764	**
208	*****	487	****	765	**
209	*****	488	*****	766	*****
210	*****	489	****	767	*****
211	*****	490	*****	768	*****
212	****	491	***	769	****
213	****	492	***	770	*****
214	***	493	*****	771	*****
215	***	494	*****	772	*****

037123

216	***	495	*****	773	*****
217	***	496	*****	774	*****
218	****	497	*****	775	***
219	*****	498	*****	776	**
220	***	499	*****	777	**
221	*****	500	****	778	*****
222	***	501	****	779	*****
223	***	502	*****	780	*****
224	***	503	*****	781	*****
225	**	504	*****	782	*****
226	***	505	*****	783	*****
227	**	506	*****	784	****
228	**	507	****	785	*****
229	***	508	*****	786	****
230	***	509	*****	787	*****
231	***	510	*****	788	*****
232	**	511	*****	789	*****
233	***	512	*****	790	*****
234	*****	513	****	791	*****
235	***	514	****	792	*****
236	**	515	*****	793	*****
237	**	516	*****	794	*****
238	***	517	*****	795	*****
239	**	518	*****	796	*****
240	*****	519	*****	797	**
241	****	520	****	798	*****
242	*****	521	****	799	*****
243	*****	522	*****	800	*****
244	*****	523	*****	801	****

037123

245	***	524	****	802	**
246	**	525	****	803	*****
247	*****	526	***	804	*****
248	***	527	*****	805	****
249	***	528	*****	806	*****
250	*****	529	*****	807	*****
251	*****	530	*****	808	*****
252	****	531	****	809	*****
253	**	532	*****	810	*****
254	****	533	*****	811	***
255	***	534	*****	812	*****
256	***	535	*****	813	*****
257	*****	536	*****	814	*****
258	*****	537	*****	815	*****
259	*****	538	*****	816	*****
260	****	539	*****	817	*****
261	*****	540	*****	818	****
262	****	541	****	819	*****
263	***	542	*****	820	*****
264	*****	543	*****	821	*****
265	**	544	*****	822	****
266	**	545	****	823	*
267	*****	546	*****	824	***
268	*****	547	*****	825	***
269	*****	548	*****	826	****
270	*****	549	*****	827	*****
271	*****	550	*****	828	*****
272	*****	551	****	829	****
273	*****	552	***	830	*****
274	*****	553	****	831	****
275	*****	554	****	832	****
276	***	555	**	833	*****
277	**	556	***	834	*****
278	**	557	**	835	*****
279	****				

Пример 3. RT-qPCR анализ сплайсинга эндогенной мРНК SMN2 в культивируемых клетках

Для количественной оценки уровней полноразмерной мРНК SMN2 и мРНК SMN2 $\Delta 7$ в первичных клетках и линиях клеток, содержащих ген SMN2 и обработанных тестируемым соединением, используют метод анализа, основанный на метода количественной ПЦР с обратной транскрипцией (RT-qPCR).

Материалы

Материал	Источник
Клетки человека с SMA 1 типа	GM03813 (Coriell Institute)
Лизирующий буфер Cells-To-Ct	Life Technologies, Inc. (ранее Applied Biosystems); кат. № 4399002
DMEM	Life Technologies, Inc. (ранее Invitrogen); кат. № 11960-044
96-луночные планшеты с плоским дном	Becton Dickinson; кат. № 353072
Смесь ферментов для RT-PCR	Life Technologies, Inc. (ранее Applied Biosystems); № изд. 4388520 (также включено в AgPath-ID Kit; кат. № 4387391)
Буфер для RT-PCR	Life Technologies, Inc. (ранее Applied Biosystems); № изд. 4388519 (также включен в AgPath-ID Kit; кат. № 4387391)
Набор AgPath-ID для одностадийного проведения RT-PCR	Life Technologies, Inc. (ранее Applied Biosystems); кат. № 4387391
Термоциклер	Life Technologies, Inc. (ранее Applied Biosystems); 7900HT

Протокол

Клетки GM03813 от пациента с SMA (5000 клеток на лунку) высевает в 200 мкл культуральной среды (DMEM с добавлением 10% FBS) в 96-луночные планшеты с плоским дном, и сразу перемешивают планшет вращением для обеспечения правильного распределения клеток, образующих ровный монослой клеток. Клетки оставляют прикрепляться, по меньшей мере, в течение 4-6 часов. Тестируемые соединения последовательно разбавляют 100% DMSO в 3,16 раза с получением концентрационной зависимости по 7 точкам. В каждую тестируемую лунку добавляют раствор тестируемого соединения (1 мкл, 200× в DMSO), и в каждую контрольную лунку добавляют 1 мкл DMSO. Планшет инкубируют в течение 24 часов в клеточном инкубаторе (37°C, 5% CO₂, 100% относительная влажность). Затем, клетки подвергают лизису в лизирующем буфере Cells-To-Ct, и хранят лизат при -80°C.

мРНК SMN2-специфичных продуктов сплайсинга и мРНК GAPDH идентифицируют с использованием следующих праймеров и зондов, представленных в табл. 5. Прямой SMN FL праймер В (SEQ ID NO: 7) гибридизуется до нуклеотидной последовательности в экзоне 7 (нуклеотиды 32-54) и экзоне 8 (нуклеотиды 1-4), прямой SMN Δ7 праймер В (SEQ ID NO: 8) гибридизуется до нуклеотидной последовательности в экзоне 6 (нуклеотиды 87-111) и экзоне 8 (нуклеотиды 1-3), обратный SMN праймер В (SEQ ID NO: 9) гибридизуется до нуклеотидной последовательности в экзоне 8 (нуклеотиды 39-62), SMN зонд В (SEQ ID NO: 10) гибридизуется до нуклеотидной последовательности в экзоне 8 (нуклеотиды 7-36). Указанные праймеры и зонды гибридизуются до нуклеотидных последовательностей, общих для мРНК SMN1 и мРНК SMN2 человека. Поскольку клетки от пациента с SMA, использованные в примере 3, содержат только ген SMN2, методом RT-qPCR можно количественно оценить только полноразмерную мРНК SMN2 и мРНК SMN2 Δ7.

Таблица 5

Праймер/зонд	Последовательность	Источник
Прямой SMN FL праймер В	SEQ ID NO.7: GCTCACATTCCTTAAATTAAGGAGAAA	PTC ¹
Прямой SMN2 Δ7 праймер В	SEQ ID NO.8: TGGCTATCATACTGGCTATTATATGGAA	PTC ¹
Обратный SMN праймер В	SEQ ID NO.9: TCCAGATCTGTCTGATCGTTTCTT	PTC ¹
Прямой SMN зонд В	SEQ ID NO.10: 6FAM- CTGGCATAGAGCAGCACTAAATGACACCAC-TAMRA	PTC ¹
Прямой hGAPDH зонд	SEQ ID NO.4: VIC- CGCCTGGTCACCAGGGCTGCT-TAMRA	LTI ²
Прямой hGAPDH праймер	SEQ ID NO.5: CAACGGATTGGTCGTATTGG	LTI ²
Обратный hGAPDH праймер	SEQ ID NO.6: TGATGGCAACAATATCCACTTTACC	LTI ²

¹Праймеры и зонд разработаны PTC Therapeutics, Inc.; коммерчески доступны от Life Technologies, Inc. (панее Invitrogen).

Прямые и обратные SMN праймеры используют в конечных концентрациях 0,4 мкМ. SMN зонд используют в конечной концентрации 0,15 мкМ. GAPDH праймеры используют в конечных концентрациях 0,1 мкМ, и зонд - в концентрации 0,075 мкМ.

Смесь SMN-GAPDH (общий объем 10 мкл) приготавливают путем смешивания 5 мкл 2× буфера RT-PCR, 0,4 мкл 25× смеси ферментов для RT-PCR, 0,25 мкл 20× смеси GAPDH праймер-зонд, 1,755 мкл воды, 2,5 мкл лизата клеток, 0,04 мкл 100 мкМ прямого SMN FL или SMN Δ7 праймера, 0,04 мкл 100 мкМ обратного SMN праймера и 0,015 мкл 100 мкМ зонда.

ПЦР проводят при следующих температурах в указанное время:

Стадия 1: 48°C (15 мин);

Стадия 2: 95°C (10 мин);

Стадия 3: 95°C (15 с);

Стадия 4: 60°C (1 мин); затем повторение стадий 3 и 4 всего в течение 40 циклов.

Каждая реакционная смесь содержит праймеры/зонд либо SMN2 FL и GAPDH, либо SMN2 Δ7 и GAPDH (мультиплекс-дизайн), что позволяет одновременно измерять уровни двух транскриптов.

Эндогенный ген SMN2 дает начало двум альтернативно сплайсированным мРНК. Полноразмерную мРНК SMN2, которая содержит экзон 7, в настоящем документе называют термином "мРНК SMN2 FL". Усеченную мРНК без экзона 7 в настоящем документе называют термином "мРНК SMN2 Δ7".

Увеличение мРНК SMN2 FL и уменьшение мРНК SMN2 Δ7 относительно таковой в клетках, обработанных контролем с растворителем, определяют исходя из данных ПЦР в режиме реального времени с использованием модифицированного метода ΔΔCt (описанного в Livak and Schmittgen, Methods, 2001, 25:402-8). Эффективность амплификации (E) рассчитывают из наклона кривой амплификации, индивидуально для мРНК SMN2 FL, мРНК SMN2 Δ7 и мРНК GAPDH. Копийности для мРНК SMN2 FL, мРНК SMN2 Δ7 и мРНК GAPDH рассчитывают как $(1 + E)^{-Ct}$, где Ct представляет собой пороговое значение для каждого ампликона. Копийности мРНК SMN2 FL и мРНК SMN2 Δ7 нормируют к копииности мРНК GAPDH. Затем, нормированные копииности для мРНК SMN2 FL и мРНК SMN2 Δ7 в обработанных тестируемым соединением образцах делят на нормированные копииности мРНК SMN2 FL и мРНК SMN2 Δ7, соответственно, в клетках, обработанных растворителем, для определения уровня мРНК SMN2 FL и мРНК SMN2 Δ7 относительно контроля с растворителем.

Результаты

Как видно на фиг. 4, клетки, обработанные возрастающими концентрациями соединения 6 (фиг. 4a) и соединения 170 (фиг. 4b), содержат неуклонно больше мРНК SMN2 FL и меньше мРНК SMN2 Δ7, чем обработанные растворителем клетки, что указывает на коррекцию альтернативного сплайсинга SMN2.

Пример 4. Анализ сплайсинга эндогенной мРНК SMN2 в культивируемых клетках методом полуколичественной RT-PCR по конечной точке

Для визуализации и количественной оценки уровней полноразмерной мРНК и мРНК SMN2 Δ7 в первичных клетках и линиях клеток, содержащих ген SMN2 и обработанных тестируемым соединением, используют анализ сплайсинга методом ПЦР с обратной транскрипцией по конечной точке.

Материалы

Материал	Источник
Клетки человека с SMA 1 типа	GM03813 (Coriell Institute)
Лизирующий буфер Cells-To-Ct	Life Technologies, Inc. (ранее Applied Biosystems); кат. № 4399002
DMEM	Life Technologies, Inc. (ранее Invitrogen); кат. № 11960-044
96-луночные планшеты с плоским дном	Becton Dickinson; кат. № 353072
ДНК-полимеразная супер-смесь Platinum Taq HiFi	Life Technologies, Inc. (ранее Invitrogen); кат. № 11304-016
Набор iScript с обратной транскриптазой	BioRad; кат. № 170-8890
Гели с 2% агарозы Е и бромидом этидия, 48-луночный Double Comb	Life Technologies, Inc. (ранее Invitrogen); кат. № G8008-02
Система гель-документирования	Система визуализации UVP Gel Doc It 310

Протокол

Клетки GM03813 от пациентов с SMA (5000 клеток на лунку) высевают в 200 мкл культуральной среды (DMEM с добавлением 10% FBS) в 96-луночные планшеты с плоским дном, и сразу перемешивают планшет вращением для обеспечения правильного распределения клеток, образующих ровный монослой клеток. Клетки оставляют прикрепляться по меньшей мере в течение 4-6 ч. Тестируемые соединения последовательно разбавляют 100% DMSO в 3,16 раза с получением концентрационной зависимости по 7 точкам. В каждую тестируемую лунку добавляют раствор тестируемого соединения (1 мкл, 200× в DMSO), и в каждую контрольную лунку добавляют 1 мкл DMSO. Планшет инкубируют в течение 24 ч в клеточном инкубаторе (37°C, 5% CO₂, 100% относительная влажность). Затем клетки подвергают лизису в лизирующем буфере Cells-To-Ct, и хранят лизат при -80°C.

мРНК SMN FL и мРНК SMN Δ7 идентифицируют с использованием следующих праймеров, представленных в табл. 6. Указанные праймеры гибридизуются до нуклеотидных последовательностей в экзоне 6 (прямой SMN праймер C, SEQ ID NO: 11) (нуклеотиды 43-63) и экзоне 8 (обратный SMN праймер C, SEQ ID NO: 12) (нуклеотиды 51-73), общих для мРНК SMN1 и мРНК SMN2 человека. Поскольку клетки от пациента с SMA, использованные в примере 4, содержат только ген SMN2, методом RT-PCR можно визуализировать и количественно оценить только полноразмерную мРНК SMN2 и мРНК SMN2 Δ7.

Таблица 6

Праймер	Последовательность	Источник
Прямой SMN праймер C	SEQ ID NO.11: GATGCTGATGCTTTGGGAAGT	PTC ¹
Обратный SMN праймер C	SEQ ID NO.12: CGCTTCACATTCAGATCTGTC	PTC ¹

¹Праймеры разработаны PTC Therapeutics, Inc.

Для синтеза кДНК, 5 мкл лизата, 4 мкл 5× реакционной смеси iScript, 1 мкл обратной транскриптазы и 10 мкл воды объединяют и инкубируют в течение 5 мин при 25°C, затем в течение 30 мин при 42°C, а затем в течение 5 мин при 85°C. Раствор кДНК хранят при -20°C.

Для проведения ПЦР по конечной точке 5 мкл кДНК, 0,2 мкл 100 мкМ прямого праймера, 0,2 мкл 100 мкМ обратного праймера и 22,5 мкл полимеразной супер-смеси объединяют в 96-луночном наполовину окаймленном планшете для ПЦР. ПЦР проводят при следующих температурах в указанное время: Стадия 1: 94°C (2 мин), Стадия 2: 94°C (30 с), Стадия 3: 55°C (30 с), Стадия 4: 68°C (1 мин), затем повтор стадий 2-4 всего в течение 33 циклов, затем поддержание 4°C.

В течение 14 мин 10 мкл каждого ПЦР образца электрофоретически разделяют на геле с 2% агарозы Е, окрашивают красителями двуцепочечной ДНК (dsDNA) (например, бромид этидия) и визуализируют с использованием системы гель-документации.

Результаты

Как видно на фиг. 5, клетки, обработанные возрастающими концентрациями соединения 6 (фиг. 5a)

или соединения 170 (фиг. 5b), содержат неуклонно больше мРНК SMN2 FL и меньше мРНК SMN2 Δ7, чем обработанные растворителем клетки, что указывает на коррекцию альтернативного сплайсинга SMN2.

Пример 5. RT-qPCR анализ сплайсинга мРНК SMN2 в тканях животного

Для количественной оценки уровней полноразмерной мРНК и мРНК SMN2 Δ7 в тканях мышей, обработанных тестируемым соединением, используют метод анализа, основанный на методе количественной ПЦР с обратной транскрипцией (RT-qPCR).

Материалы

Материал	Источник
Ткани мышей с C/C-аллелью SMA	The Jackson Laboratory, линия № 008714 (B6.129-Smn1 ^{tm5 (Smn1/SMN2)Mph} /J)
Ткани мышей SMA Δ7	The Jackson Laboratory, линия № 005025 (FVB.Cg-Tg(SMN2*delta7)4299Ahmb Tg(SMN2)89Ahmb Smn1 ^{tm1Msd} /J)
Смесь ферментов для RT-PCR	Life Technologies, Inc. (панее Applied Biosystems) № изд. 4388520 (также включена в AgPath-ID Kit; кат. № 4387391)
Буфер для RT-PCR	Life Technologies, Inc. (панее Applied Biosystems) № изд. 4388519 (также включен в AgPath-ID Kit; кат. № 4387391)
Набор AgPath-ID для одностадийного проведения RT-PCR	Life Technologies, Inc. (панее Applied Biosystems); кат. № 4387391
Мышинные GAPDH праймеры и зонды	Life Technologies, Inc. (панее Applied Biosystems); кат. № 4352339E
Лизирующий реагент QIAzol	Qiagen; кат. № 79306
Мини-набор для жировой ткани RNeasy	Qiagen; кат. № 74804
5 мм сфера из нержавеющей стали	Qiagen; кат. № 69989
TissueLyzer II	Qiagen; кат. № 85300
Термоциклер	Life Technologies, Inc. (панее Applied Biosystems); 7900HT

Протокол

Мышам с C/C-аллелью SMA дважды в сутки (BID) в течение 10 суток принудительно перорально вводят тестируемые соединения, ресуспендированные в 0,5% HPMS и 0,1% Tween-80. Образцы тканей собирают и быстро замораживают для очистки РНК.

Образцы тканей (20-40 мг) гомогенизируют в лизирующем реагенте QIAzol в течение 2 мин при 20 Гц в TissueLyzer II с использованием одной сферы из нержавеющей стали. После добавления хлороформа гомогенат разделяют на водную и органическую фазы посредством центрифугирования. Экстрагируют РНК, которая распределялась в находящуюся сверху водную фазу, и добавляют этанол для создания соответствующих условий связывания. Затем, образец наносят на центрифужную колонку RNeasy из мини-набора RNeasy, где тотальная РНК связывается с мембраной. РНК элюируют в свободную от РНКазы воду, затем хранят при -20°C, и впоследствии анализируют с использованием TaqMan RT-qPCR на термоциклере 7900HT. Тотальную РНК разбавляют в 10 раз и 2,5 мкл разбавленного образца добавляют к смеси TaqMan RT-qPCR.

Продукты сплайсинга SMN2 идентифицируют с использованием следующих праймеров и зонда, представленных в табл. 7. Прямой SMN FL праймер В (SEQ ID NO: 7) гибридизуется до нуклеотидной последовательности в экзонах 7 и 8, прямой SMN Δ7 праймер В (SEQ ID NO: 8) гибридизуется до нуклеотидной последовательности в экзонах 6 и 8, обратный SMN праймер В (SEQ ID NO: 9) гибридизуется до нуклеотидной последовательности в экзоне 8, SMN зонд В (SEQ ID NO: 10) гибридизуется до нуклеотидной последовательности в экзоне 8. Указанные праймеры и зонд гибридизуются до нуклеотидных

последовательностей, общих для мРНК SMN1 и мРНК SMN2 человека. Поскольку клетки от пациента с SMA, использованные в примере 5, содержат только ген SMN2, методом RT-qPCR можно количественно оценить только полноразмерную мРНК SMN2 и мРНК SMN2 Δ7.

Таблица 7

Праймер/зонд	Последовательность	Источник
Прямой SMN FL праймер В	SEQ ID NO.7: GCTCACATTCCCTTAAATTAAGGAGAAA	PTC ¹
Прямой SMN Δ7 праймер В	SEQ ID NO.8: TGGCTATCATACCTGGCTATTATATGGAA	PTC ¹
Обратный SMN праймер В	SEQ ID NO.9: TCCAGATCTGTCTGATCGTTTCTT	PTC ¹
Прямой SMN зонд В	SEQ ID NO.10: 6FAM- CTGGCATAGAGCAGCACTAAATGACACCAC-TAMRA	PTC ¹

¹Праймеры и зонд разработаны PTC Therapeutics, Inc.

Прямые и обратные SMN праймеры используют в конечных концентрациях 0,4 мкМ. SMN зонд используют в конечной концентрации 0,15 мкМ. Смесь SMN-GAPDH (общий объем 10 мкл) получают путем объединения 5 мкл 2× буфера для RT-PCR, 0,4 мкл 25× смеси ферментов для RT-PCR, 0,5 мкл 20× смеси GAPDH праймер-зонд, 1,505 мкл воды, 2,5 мкл раствора РНК, 0,04 мкл 100 мкМ прямого праймера, 0,04 мкл 100 мкМ обратного праймера и 0,015 мкл 100 мкМ SMN зонда.

Каждый цикл ПЦР проводят при следующих температурах в указанное время: Стадия 1: 48°C (15 мин); Стадия 2: 95°C (10 мин); Стадия 3: 95°C (15 с); Стадия 4: 60°C (1 мин); затем повторение стадий 3 и 4, всего в течение 40 циклов.

Каждая реакционная смесь содержит праймеры-зонд либо SMN2 FL и mGAPDH, либо SMN2 Δ7 и mGAPDH (мультиплекс-дизайн), что позволяет одновременно измерять уровни двух транскриптов.

Увеличение мРНК SMN2 FL и уменьшение мРНК SMN2 Δ7 относительно таковой в клетках животных, обработанных контролем с растворителем, определяют исходя из данных ПЦР в режиме реального времени с использованием модифицированного метода ΔΔCt (описанного в Livak and Schmittgen, Methods, 2001, 25: 402-8). Эффективность амплификации (E) рассчитывают из наклона кривой амплификации, индивидуально для мРНК SMN2 FL, мРНК SMN2 Δ7 и мРНК GAPDH. Копийности для мРНК SMN2 FL, мРНК SMN2 Δ7 и мРНК GAPDH затем рассчитывают как $(1 + E)^{-Ct}$, где Ct представляет собой пороговое значение для каждого ампликона. Копийности мРНК SMN2 FL и мРНК SMN2 Δ7 нормируют к копииности мРНК GAPDH. Затем, нормированные копииности для мРНК SMN2 FL и мРНК SMN2 Δ7 в образцах, обработанных тестируемым соединением, делят на нормированные копииности мРНК SMN2 FL и мРНК SMN2 Δ7, соответственно, в клетках, обработанных растворителем, для определения уровня мРНК SMN2 FL и мРНК SMN2 Δ7 относительно контроля с растворителем.

Результаты

Как видно на фиг. 6, ткани животных, обработанных соединением 6 (фиг. 6a) и соединением 170 (фиг. 6b), содержат существенно больше мРНК SMN2 FL и меньше мРНК SMN2 Δ7 по сравнению с животными, обработанными растворителем, что указывает на коррекцию альтернативного сплайсинга SMN2.

Пример 6. Анализ сплайсинга эндогенной мРНК SMN2 в тканях животных методом полуколичественной RT-PCR по конечной точке

Для количественной оценки уровней полноразмерной мРНК и мРНК SMN2 Δ7 в тканях мышечной, обработанных тестируемым соединением, используют анализ сплайсинга методом ПЦР с обратной транскрипцией (RT-PCR) по конечной точке.

Материалы

Материал	Источник
Ткани мышечной с C/C-аллелью SMA	The Jackson Laboratory, линия № 008714 (B6.129-Smn1 ^{tm5 (Smn1/SMN2)Mph/J})
Ткани мышечной SMA Δ7	The Jackson Laboratory, линия № 005025 (FVB.Cg-Tg (SMN2*delta7) 4299Ahmb Tg (SMN2) 89Ahmb Smn1 ^{tm1Msd/J})

Набор для жировой ткани Qiagen RNeasy	Qiagen; кат. № 74804
ДНК-полимеразная супер- смесь Platinum Taq HiFi	Life Technologies, Inc. (ранее Invitrogen); кат. № 11304-016
Набор для RT iScript	BioRad; кат. № 170-8890
96-луночный наполовину окаймленный планшет для ПЦР Twin.tec	Eppendorf; кат. № 951020389
Гели с 2% агарозы Е и бромидом этидия, 48- луночный Double Comb	Life Technologies, Inc. (ранее Invitrogen); кат. № G8008-02
Система гель- документирования	Система визуализации UVP Gel Doc It 310

Протокол

Мышам с С/С-аллелью SMA в течение 10 суток BID принудительно перорально вводят тестируемые соединения, ресуспендированные в 0,5% HPMS и 0,1% Tween-80. Образцы тканей собирают и быстро замораживают для очистки РНК.

Образцы тканей (20-40 мг) гомогенизируют в лизирующем реагенте QIAzol в течение 2 мин при 20 Гц в TissueLyser II с использованием одной сферы из нержавеющей стали. После добавления хлороформа гомогенат разделяют на водную и органическую фазы посредством центрифугирования. Экстрагируют РНК, которая распределялась в находящуюся сверху водную фазу, и добавляют этанол для создания соответствующих условий связывания. Затем, образец наносят на центрифужную колонку RNeasy из мини-набора RNeasy, где тотальная РНК связывается с мембраной. РНК элюируют в свободную от РНКазы воду, а затем хранят при -20°C.

Продукты сплайсинга SMN2 идентифицируют с использованием следующих амплификационных праймеров, представленных в табл. 8. Указанные праймеры гибридизуются до нуклеотидной последовательности в экзоне 6 (прямой SMN праймер D, SEQ ID NO: 13) (нуклеотиды 22-46) и экзоне 8 (обратный SMN праймер C, SEQ ID NO: 12), общие для мРНК SMN1 и мРНК SMN2.

Таблица 8

Праймер	Последовательность	Источник
Прямой SMN праймер D	SEQ ID NO.13: ATATGTCCAGATTCTCTTGATGATG	PTC ¹
Обратный SMN праймер C	SEQ ID NO.12: CGCTTCACATTCCAGATCTGTC	PTC ¹

¹ Праймеры разработаны PTC Therapeutics, Inc.

Для синтеза кДНК, 1 мкл раствора РНК (25-50 нг), 4 мкл 5× реакционной смеси iScript, 1 мкл обратной транскриптазы и 10 мкл воды объединяют и инкубируют при 25°C в течение 5 мин, затем при 42°C в течение 30 мин, а затем при 85°C в течение 5 мин. Раствор кДНК хранят при -20°C.

Для проведения ПЦР по конечной точке 5 мкл кДНК, 0,2 мкл 100 мкМ прямого праймера, 0,2 мкл 100 мкМ обратного праймера и 22,5 мкл полимеразной супер-смеси объединяют в 96-луночном наполовину окаймленном планшете для ПЦР. ПЦР проводят при следующих температурах в указанное время: Стадия 1: 94°C (2 мин), Стадия 2: 94°C (30 с), Стадия 3: 55°C (30 с), Стадия 4: 68°C (1 мин), затем повторение стадий 2-4 всего в течение 33 циклов, затем поддержание при 4°C.

В течение 14 мин 10 мкл каждого ПЦР образца электрофоретически разделяют на геле с 2% агарозы Е, окрашивают красителями dsDNA (например, бромид этидия) и визуализируют с использованием системы гель-документирования.

Результаты

Как видно на фиг. 7, ткани мышей, обработанных увеличивающимися концентрациями соединения 6 (фиг. 7a) и соединения 170 (фиг. 7b), содержат неуклонно больше мРНК SMN2 FL и меньше мРНК SMN2 Δ7, что указывает на коррекцию альтернативного сплайсинга SMN2.

Пример 7. Анализ белка Smn в культивируемых клетках

Для количественной оценки уровня белка Smn в фибробластах пациента с SMA, обработанных тестируемыми соединениями, используют анализ SMN методом HTRF (гомогенная флуоресценция с временным разрешением). Результаты анализа представлены в табл. 9.

Материалы

Материал	Источник
Клетки человека с SMA 1 типа	GM03813 (Coriell Institute)
Коктейль из ингибиторов протеаз	Roche Applied Science; кат. № 11836145001
анти-SMN d2	Blue cap Cisbio; кат. № 63IDC002-SMN
анти-SMN криптит	Red cap Cisbio; кат. № 63IDC002-SMN
Восстанавливающий буфер SMN	Cisbio; кат. № 63IDC002-SMN-Buffer
DMEM	Life Technologies, Inc. (ранее Invitrogen); кат. № 11960-044
Лизирующий буфер RIPA	20 mM Tris-HCl pH 7,5, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 1% NP-40, 1% дезоксихолат натрия
Буфер-разбавитель	20 mM Tris-HCl pH 7,5, 150 mM NaCl
Планшетный ридер Envision	Perkin Elmer; модель № 2103

Протокол

Клетки размораживают и культивируют в DMEM-10% FBS в течение 72 ч. Клетки обрабатывают трипсином, подсчитывают и ресуспендируют в DMEM-10% FBS до концентрации 2 5000 клеток/мл. Суспензию клеток помещают в 96-луночный планшет в количестве 5000 клеток на лунку и инкубируют в течение 3-5 ч. С целью получения контрольного сигнала в три (3) лунки в 96-луночном планшете клетки не добавляют, а потому они служат в качестве холостой пробы. Тестируемые соединения последовательно разбавляют 100% DMSO в 3,16 раза с получением концентрационной зависимости по 7 точкам кривой. В содержащие клетки лунки переносят 1 мкл раствора тестируемого соединения, и инкубируют клетки в течение 48 ч в клеточном инкубаторе (37°C, 5% CO₂, 100% относительная влажность). Для каждой концентрации тестируемого соединения приготавливают три повторных образца.

Спустя 48 ч, надсадочную жидкость удаляют из лунок, к клеткам добавляют 25 мкл лизирующего буфера RIPA, содержащего ингибиторы протеаз, и инкубируют со встряхиванием при комнатной температуре в течение 1 ч. Добавляют 25 мкл разбавителя, затем в 384-луночный планшет переносят 35 мкл полученного лизата, где в каждой лунке содержится 5 мкл раствора антитела (анти-SMN d2 и анти-SMN криптит в разбавлении 1/100 восстанавливающим буфером SMN). Планшет центрифугируют в течение 1 мин с получением на дне лунок раствора, который инкубируют в течение ночи при комнатной температуре. Флуоресценцию при 665 нм и 620 нм измеряют в каждой лунке планшета на планшетном ридере Envision (Perkin-Elmer).

Для каждой лунки с образцом, холостым контролем и контролем с растворителем рассчитывают нормированный сигнал флуоресценции путем деления значения сигнала при 665 нм на значение сигнала при 620 нм. Нормирование сигнала учитывает возможное тушение флуоресценции вследствие эффекта матрикса на лизат. Значение AF (величина процентного содержания белка Smn) для каждой лунки с образцом рассчитывают путем вычитания нормированной средней флуоресценции в лунках с холостым контролем из нормированной флуоресценции для каждой лунки с образцом, с последующим делением разницы на нормированную среднюю флуоресценцию в лунках с холостым контролем и умножением полученного значения на 100. Значение AF для каждого образца представляет собой содержание белка Smn в образцах, обработанных тестируемым соединением. Для расчета кратности увеличения содержания белка Smn относительно контроля с растворителем значение AF для каждого образца делят на значение AF для лунок контроля с растворителем.

Результаты

Как видно на фиг. 8, фибробласты пациента с SMA 1 типа, обработанные соединением 6 (фиг. 8a) и соединением 170 (фиг. 8b), демонстрируют дозозависимое усиление экспрессии белка Smn, измеренной методом HTRF анализа SMN.

Для соединений формулы (I) или их формы, раскрытых в настоящем документе, в табл. 9 представлены значения EC_{1.5x} экспрессии белка Smn, которые рассчитаны исходя из данных концентрационной зависимости по 7 точкам кривой, полученной для каждого тестируемого соединения в соответствии с методикой, описанной в биологическом примере 7. Термин "EC_{1.5x} экспрессии белка Smn" определен как концентрация тестируемого соединения, которая эффективно увеличивает продукцию белка Smn в фибробластах пациента с SMA до количества, в 1,5 раза большего по сравнению с таковым для клеток, обработанных растворителем (DMSO). Значение EC_{1.5x} экспрессии белка Smn между >3 мкМ и ≤10 мкМ обозначают одной звездочкой (*), значение EC_{1.5x} между >1 мкМ и ≤3 мкМ обозначают двумя звездочками (**), значение EC_{1.5x} между >0,3 мкМ и ≤1 мкМ обозначают тремя звездочками (***) и значение EC_{1.5x} ≤0,3 мкМ обозначают четырьмя звездочками (****).

Соед. ЕС _{1.5x}		Таблица 9 Соед. ЕС _{1.5x}		Соед. ЕС _{1.5x}	
3	**	380	***	626	**
6	***	381	*	627	**
8	**	382	***	628	*
18	**	384	****	629	****
20	**	385	***	630	****
22	**	393	***	631	***
24	*	396	***	632	****
30	**	397	****	633	****
43	**	398	**	634	****
61	***	399	***	635	****
62	***	400	***	636	****
66	*	401	***	637	****
67	***	402	**	638	****
69	***	403	**	639	****
71	*	404	**	640	****
72	***	405	***	641	****

037123

74	***	406	*	642	****
75	****	409	****	643	***
79	***	410	****	644	***
82	**	412	****	645	****
84	**	413	****	646	**
85	*	414	***	647	****
86	****	416	**	648	****
87	***	417	**	649	****
90	*	420	****	650	****
95	**	422	**	651	****
96	***	423	***	652	****
99	***	424	****	653	****
100	***	425	****	654	****
102	***	426	***	655	****
105	***	427	*	656	****
106	**	428	**	657	****
109	****	429	****	658	****
115	****	430	****	659	****
116	*	431	****	660	****
117	****	432	****	661	****
118	***	437	***	662	****
119	***	438	****	663	****
120	****	439	**	664	***
121	****	440	****	665	****
127	*	441	****	666	***
129	*	442	****	667	****
130	*	443	****	668	****
131	**	444	**	669	****
132	****	445	***	670	****

037123

133	****	446	**	671	****
134	****	448	****	672	****
135	****	449	****	673	****
136	****	451	***	674	****
137	***	452	****	675	****
138	***	453	****	676	***
141	****	454	****	677	***
143	****	457	****	678	****
144	****	458	***	679	****
148	**	460	***	680	****
150	**	461	**	681	****
152	****	462	****	682	**
160	***	463	***	683	***
161	**	464	**	684	***
162	**	466	***	685	**
164	**	467	****	686	**
167	**	468	***	687	****
169	****	469	***	688	**
170	****	470	****	689	***
171	****	471	****	690	***
172	****	472	****	691	****
175	***	473	****	692	***
176	*	474	****	693	**
179	***	475	**	694	****
180	**	476	****	695	****
182	***	477	****	696	****
186	***	478	****	697	****
188	***	480	****	698	****
189	***	481	****	699	****

037123

190	**	482	*	700	****
191	**	484	****	701	****
192	**	485	****	702	****
193	****	486	****	703	****
194	****	487	****	704	****
195	***	488	****	705	****
196	****	489	**	706	****
197	****	490	***	707	****
198	****	491	**	708	****
199	**	492	**	709	****
201	***	493	***	710	****
204	****	494	****	711	****
208	***	495	****	712	****
209	****	496	****	713	****
210	****	497	***	714	****
211	****	498	****	715	****
212	****	499	****	716	***
213	****	500	***	717	***
214	**	501	***	718	***
218	**	502	****	719	****
219	****	503	****	720	****
221	****	504	****	721	****
224	***	505	****	722	****
229	*	506	****	723	****
230	**	507	***	724	***
231	**	508	***	725	***
234	****	509	***	726	**
235	**	510	****	727	****
236	*	511	**	728	****

037123

240	****	512	****	729	***
241	****	513	****	730	****
242	****	514	**	731	****
243	****	515	****	732	***
244	****	516	****	733	****
247	****	517	****	734	****
248	***	518	****	735	****
250	****	519	****	736	****
251	****	520	****	737	****
252	***	521	****	738	****
254	**	522	***	739	****
256	**	523	****	740	***
257	**	524	***	741	****
258	***	525	***	742	***
259	***	526	**	743	****
260	**	527	****	744	***
261	****	528	****	745	****
262	***	529	***	746	****
263	***	530	****	747	****
264	****	531	***	748	****
267	****	532	****	749	****
268	****	533	***	750	****
269	****	534	****	751	****
270	****	535	***	752	****
271	****	536	****	753	****
272	****	537	****	754	****
273	****	538	***	755	****
274	****	539	****	756	****
275	****	541	***	757	***

037123

283	****	542	***	759	***
284	***	543	****	760	****
285	****	544	***	761	****
286	***	545	****	762	****
287	****	546	****	763	****
288	****	547	****	764	*
289	****	548	****	765	**
290	****	549	****	766	****
291	****	550	****	767	****
292	****	551	****	768	****
293	****	552	***	769	***
294	*	553	****	770	***
295	****	554	****	771	****
296	****	555	**	772	****
297	****	556	**	773	****
299	****	561	****	774	****
300	****	563	****	777	**
302	****	565	***	778	***
303	****	566	****	779	****
304	****	567	***	780	****
305	****	568	****	781	****
306	****	569	****	782	****
307	****	570	**	783	****
308	****	571	**	784	***
309	****	572	**	785	****
310	***	573	**	786	***
312	****	576	****	787	****
314	***	577	****	788	****
316	**	578	****	789	****

037123

317	**	579	***	790	****
318	****	580	***	791	****
319	****	581	***	792	***
320	**	582	****	793	****
322	***	583	****	794	****
323	**	584	****	795	****
326	**	585	****	796	****
327	****	586	****	797	*
329	**	587	****	798	****
331	****	588	****	799	****
333	**	589	***	800	****
334	****	590	**	801	***
335	****	591	**	802	*
336	****	592	***	803	****
337	****	593	****	804	****
338	****	594	***	805	***
339	****	595	****	806	****
340	****	596	****	807	****
341	***	597	***	808	****
342	****	598	***	809	****
343	****	599	****	810	****
344	***	600	**	811	***
346	****	601	***	812	****
349	**	602	****	813	****
350	****	603	***	814	****
351	****	604	****	815	****
352	****	605	***	816	****
354	***	606	**	817	****
355	***	607	****	818	***

356	***	608	**	819	****
357	***	609	****	820	****
358	**	610	****	821	****
359	**	612	****	822	***
366	****	613	****	824	*
367	*	614	****	825	**
368	***	615	****	826	**
369	**	616	****	827	***
370	***	617	****	828	****
371	***	618	****	829	**
372	****	619	***	830	***
373	****	620	**	831	**
374	****	621	****	832	***
375	****	622	**	833	**
376	***	623	****	834	****
377	**	624	****	835	****
378	**				

Для соединений формулы (I) или их формы, раскрытых в настоящем документе, в табл. 10 представлены значения максимальной кратности ("Кратность") увеличения количества белка Smn, которые были получены исходя из данных концентрационной зависимости по 7 точкам кривой, полученной для каждого тестируемого соединения в соответствии с методикой, описанной в биологическом примере 7. Максимальную кратность увеличения $\leq 1,2$ обозначают одной звездочкой (*), кратность увеличения между $>1,2$ и $\leq 1,35$ обозначают двумя звездочками (**), кратность увеличения между $>1,35$ и $\leq 1,5$ обозначают тремя звездочками (***), кратность увеличения между $>1,5$ и $\leq 1,65$ обозначают четырьмя звездочками (****), и кратность увеличения $>1,65$ обозначают пятью звездочками (*****).

Таблица 10

Соед.	Кратность	Соед.	Кратность	Соед.	Кратность
1	**	280	*	558	**
2	**	281	**	559	*
3	***	282	**	560	*
4	*	283	****	561	****
5	*	284	****	562	**
6	****	285	*****	563	*****
7	***	286	****	564	*
8	****	287	*****	565	****
9	***	288	*****	566	*****
10	**	289	****	567	****
11	***	290	*****	568	*****
12	***	291	*****	569	*****
13	**	292	****	570	****
14	***	293	*****	571	****
15	***	294	***	572	****
16	*	295	****	573	****
17	*	296	*****	574	**
18	****	297	*****	575	***
19	**	298	***	576	*****
20	****	299	*****	577	*****
21	*	300	*****	578	*****
22	***	301	*	579	*****
23	***	302	*****	580	*****
24	***	303	****	581	*****
25	*	304	*****	582	*****
26	**	305	*****	583	*****
27	*	306	*****	584	*****

037123

28	**	307	****	585	*****
29	***	308	*****	586	*****
30	****	309	****	587	****
31	*	310	***	588	*****
32	*	311	**	589	****
33	*	312	****	590	****
34	**	313	*	591	****
35	*	314	****	592	*****
36	*	315	***	593	*****
37	*	316	*****	594	****
38	*	317	****	595	****
39	*	318	*****	596	****
40	*	319	****	597	****
41	***	320	****	598	*****
42	*	321	***	599	*****
43	***	322	****	600	****
44	*	323	***	601	****
45	**	324	***	602	****
46	***	325	***	603	*****
47	***	326	***	604	*****
48	*	327	****	605	*****
49	*	328	***	606	****
50	**	329	****	607	*****
51	**	330	**	608	****
52	*	331	*****	609	*****
53	*	332	*	610	*****
54	*	333	****	611	***
55	*	334	*****	612	*****
56	*	335	*****	613	*****

037123

57	*	336	*****	614	*****
58	*	337	*****	615	*****
59	*	338	*****	616	*****
60	*	339	*****	617	*****
61	****	340	*****	618	*****
62	*****	341	*****	619	*****
63	**	342	*****	620	***
64	**	343	*****	621	*****
65	**	344	*****	622	*****
66	***	345	***	623	*****
67	***	346	****	624	*****
68	**	347	***	625	**
69	****	348	**	626	*****
70	*	349	***	627	*****
71	****	350	*****	628	*****
72	***	351	*****	629	*****
73	**	352	****	630	*****
74	*****	353	**	631	*****
75	*****	354	****	632	*****
76	**	355	****	633	*****
77	**	356	****	634	*****
78	*	357	****	635	*****
79	****	358	***	636	*****
80	*	359	***	637	*****
81	**	360	*	638	*****
82	*****	361	***	639	*****
83	*	362	***	640	*****
84	*****	363	**	641	*****
85	***	364	*	642	*****

86	****	365	***	643	*****
87	****	366	****	644	*****
88	**	367	***	645	*****
89	***	368	****	646	*****
90	***	369	***	647	*****
91	**	370	*****	648	*****
92	**	371	****	649	*****
93	**	372	*****	650	*****
94	***	373	****	651	*****
95	****	374	*****	652	*****
96	****	375	****	653	*****
97	**	376	***	654	*****
98	***	377	****	655	****
99	****	378	****	656	****
100	*****	379	***	657	*****
101	***	380	****	658	*****
102	*****	381	***	659	*****
103	***	382	****	660	****
104	***	383	**	661	*****
105	****	384	*****	662	*****
106	****	385	*****	663	*****
107	**	386	*	664	*****
108	***	387	**	665	*****
109	****	388	***	666	*****
110	***	389	**	667	*****
111	***	390	*	668	*****
112	***	391	*	669	*****
113	***	392	***	670	*****
114	***	393	***	671	*****

037123

115	****	394	**	672	*****
116	***	395	**	673	*****
117	****	396	****	674	*****
118	*****	397	*****	675	*****
119	*****	398	*****	676	*****
120	*****	399	****	677	*****
121	*****	400	****	678	*****
122	***	401	*****	679	*****
123	*	402	****	680	*****
124	**	403	****	681	*****
125	***	404	****	682	*****
126	**	405	****	683	*****
127	***	406	***	684	*****
128	***	407	***	685	****
129	***	408	**	686	*****
130	***	409	*****	687	****
131	***	410	*****	688	***
132	*****	411	***	689	****
133	****	412	*****	690	****
134	*****	413	****	691	*****
135	****	414	*****	692	*****
136	*****	415	***	693	****
137	*****	416	***	694	*****
138	*****	417	****	695	*****
139	***	418	***	696	*****
140	***	419	**	697	*****
141	*****	420	****	698	*****
142	***	421	***	699	*****
143	*****	422	***	700	*****

037123

144	****	423	****	701	*****
145	*	424	*****	702	*****
146	*	425	*****	703	*****
147	*	426	*****	704	*****
148	***	427	***	705	*****
149	**	428	***	706	*****
150	****	429	****	707	*****
151	***	430	****	708	*****
152	*****	431	*****	709	*****
153	**	432	*****	710	*****
154	*	433	***	711	*****
155	**	434	**	712	*****
156	***	435	***	713	*****
157	**	436	**	714	*****
158	*	437	****	715	*****
159	***	438	*****	716	*****
160	***	439	***	717	*****
161	***	440	****	718	*****
162	****	441	*****	719	*****
163	***	442	*****	720	*****
164	****	443	*****	721	*****
165	**	444	***	722	*****
166	**	445	***	723	*****
167	***	446	***	724	*****
168	*	447	*	725	*****
169	****	448	*****	726	*****
170	*****	449	****	727	*****
171	*****	450	**	728	*****
172	*****	451	*****	729	*****

037123

173	**	452	*****	730	*****
174	**	453	*****	731	*****
175	****	454	*****	732	****
176	***	455	**	733	*****
177	***	456	***	734	*****
178	**	457	*****	735	****
179	*****	458	****	736	*****
180	****	459	***	737	*****
181	*	460	****	738	*****
182	****	461	****	739	*****
183	**	462	*****	740	*****
184	**	463	*****	741	*****
185	***	464	****	742	*****
186	****	465	***	743	*****
187	**	466	*****	744	***
188	*****	467	*****	745	*****
189	****	468	****	746	*****
190	****	469	*****	747	*****
191	****	470	****	748	*****
192	*****	471	*****	749	*****
193	*****	472	*****	750	*****
194	*****	473	*****	751	*****
195	****	474	****	752	*****
196	****	475	***	753	*****
197	*****	476	*****	754	*****
198	****	477	****	755	*****
199	****	478	*****	756	*****
200	*	479	**	757	****
201	***	480	*****	758	***

037123

202	**	481	****	759	*****
203	*	482	***	760	*****
204	****	483	**	761	*****
205	**	484	*****	762	*****
206	**	485	*****	763	*****
207	***	486	****	764	***
208	***	487	****	765	****
209	****	488	****	766	*****
210	****	489	****	767	*****
211	****	490	*****	768	*****
212	****	491	****	769	*****
213	***	492	****	770	****
214	****	493	****	771	*****
215	***	494	****	772	*****
216	***	495	*****	773	*****
217	***	496	*****	774	*****
218	***	497	****	775	***
219	****	498	*****	776	**
220	**	499	*****	777	***
221	*****	500	*****	778	*****
222	***	501	*****	779	*****
223	***	502	*****	780	*****
224	****	503	*****	781	*****
225	*	504	*****	782	*****
226	*	505	****	783	*****
227	***	506	****	784	****
228	**	507	****	785	*****
229	***	508	****	786	****
230	****	509	****	787	*****

037123

231	****	510	*****	788	*****
232	*	511	****	789	*****
233	*	512	*****	790	*****
234	*****	513	*****	791	*****
235	****	514	*****	792	*****
236	***	515	*****	793	*****
237	***	516	****	794	*****
238	**	517	*****	795	*****
239	*	518	****	796	*****
240	****	519	*****	797	***
241	*****	520	****	798	*****
242	****	521	*****	799	*****
243	****	522	*****	800	*****
244	****	523	*****	801	*****
245	**	524	*****	802	*****
246	*	525	*****	803	*****
247	*****	526	*****	804	*****
248	****	527	*****	805	*****
249	*	528	****	806	*****
250	*****	529	*****	807	*****
251	*****	530	*****	808	*****
252	****	531	*****	809	*****
253	*	532	*****	810	*****
254	***	533	*****	811	*****
255	**	534	*****	812	*****
256	****	535	*****	813	*****
257	****	536	****	814	*****
258	****	537	****	815	*****
259	****	538	****	816	****

260	***	539	****	817	*****
261	****	540	***	818	*****
262	*****	541	*****	819	*****
263	****	542	*****	820	*****
264	*****	543	*****	821	*****
265	***	544	****	822	****
266	**	545	*****	823	**
267	*****	546	*****	824	****
268	*****	547	*****	825	*****
269	*****	548	*****	826	*****
270	****	549	*****	827	*****
271	*****	550	*****	828	*****
272	*****	551	*****	829	*****
273	*****	552	****	830	*****
274	*****	553	*****	831	****
275	*****	554	*****	832	*****
276	*	555	***	833	*****
277	***	556	***	834	*****
278	**	557	*	835	*****
279	**				

Пример 8. Метод подсчета "жемчужин" (подсчет Smn-зависимых ядерных спеклов)

Уровень белка Smn напрямую коррелирует с количеством ядерных фокусов, также известных как "жемчужины", образующихся при окрашивании клетки флуоресцентно-мечеными анти-Smn-антителами (Liu and Dreyfuss, EMBO J., 1996, 15:3555). "Жемчужины" представляют собой мультибелковые комплексы, которые формируются вокруг белка Smn, и метод подсчета "жемчужин" используют для оценки уровня белка Smn в клетке. Описанный выше метод подсчета "жемчужин" используют для количественной оценки уровня белка Smn в фибробластах пациента с SMA, обработанных тестируемым соединением.

Материалы

Материал	Источник
Клетки человека с SMA 1 типа	GM03813 (Coriell Institute)
Первичное антитело - мышинный анти-SMN клон 2B1	Sigma; кат. № S2944
Вторичное антитело - антимышинные Alexa Fluor 555	Life Technologies, Inc. (панее Invitrogen); кат. № A21422
Бычий сывороточный альбумин (BSA)	Sigma; кат. № A3294
4% параформальдегид	Electron Microscopy Sciences; кат. № 15710
Бортезомиб	LC Labs,; кат. № B-1408
0,05% Тритон X-100	Sigma; кат. № 93443-100mL
Заливочная среда - реагент ProLong Gold Antifade с DAPI	Life Technologies, Inc. (панее Invitrogen) кат №№ P7481 и P36935
Стерильные покровные стекла 22×22 #1	Fisher; кат. № 12-548-B
DMEM	Life Technologies, Inc. (панее Invitrogen); кат. № 11960-044
PBS	Life Technologies, Inc. (панее Invitrogen); кат. № 10010-031
Прозрачный лак для ногтей	Revlon brand; кат. № 1271-76
Флуоресцентный микроскоп Zeiss Axiovert 135	Zeiss

Протокол

Клетки размораживают и инкубируют в DMEM-10% FBS в течение 72 ч, затем обрабатывают трипсином, подсчитывают и ресуспендируют в DMEM-10% FBS до 100000 клеток/мл. Суспензию клеток (2 мл) помещают в 6-луночный культуральный планшет со стерильным покровным стеклом и инкубируют в течение 3-5 ч. Тестируемые соединения последовательно разбавляют 100% DMSO в 3,16 раза с получением кривой разведения по 7 точкам. В каждую лунку, содержащую клетки, добавляют 10 мкл раствора тестируемого соединения, и инкубируют в течение 48 ч в клеточном инкубаторе (37°C, 5% CO₂, 100% относительная влажность). Для каждой концентрации тестируемого соединения приготавливают 2 повтора. В качестве контроля используют клетки, содержащие DMSO в конечной концентрации 0,5%.

Культуральную среду удаляют путем аспирации из лунок с покровными стеклами и осторожно трижды промывают холодным PBS. Клетки фиксируют путем инкубации в параформальдегиде в течение 20 минут при комнатной температуре. Затем, клетки дважды промывают холодным PBS, а затем инкубируют в течение 5 мин при комнатной температуре с 0,05% Тритоном X-100 в PBS для пермеабиллизации клеток. После трехкратного промывания фиксированных клеток холодным PBS, клетки блокируют 10% FBS в течение 1 ч. Добавляют 60 мкл первичного антитела, разбавленного 1/1000 блокирующим буфером, и инкубируют смесь в течение 1 ч при комнатной температуре. Клетки трижды промывают PBS, добавляют 60 мкл вторичного антитела, разбавленного 1/5000 блокирующим буфером, а затем инкубируют смесь в течение 1 ч при комнатной температуре. Покровные стекла закрепляют на слайдах при помощи заливочной среды и оставляют сушиться в течение ночи. Со стороны покровного стекла наносят лак для ногтей, и хранят слайды, оберегая от света. Для иммунофлуоресцентной детекции и подсчета используют микроскоп Zeiss Axiovert 135 с 63× объективом Plan-Apochromat, NA=1.4. Число "жемчужин" подсчитывают для ≥150 ядер и рассчитывают активацию (%), используя в качестве контролей DMSO и 10 нМ бортезомиб. Для каждого тестируемого соединения, исследования на клетках проводят при всех длинах волн для идентификации тестируемых соединений со специфической флуоресценцией.

Результаты

Как видно на фиг. 9, клетки пациента с SMA 1 типа, обработанные соединением 6 (фиг. 9a) и соединением 170 (фиг. 9b), содержат неуклонно больше "жемчужин" относительно клеток, обработанных DMSO.

Пример 9. Анализ белка Smn в двигательных нейронах человека

Для количественной оценки уровня белка Smn в двигательных нейронах человека, обработанных

тестируемыми соединениями, используют Smn иммунофлуоресцентную конфокальную микроскопию.

Протокол

Двигательные нейроны человека получают из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток с SMA (Ebert et al., Nature, 2009, 457:2770; и Rubin et al., BCM Biology, 2011, 9:42) и обрабатывают разными концентрациями тестируемого соединения в течение 72 ч. Уровень белка Smn в клеточном ядре количественно оценивают с использованием иммуноокрашивания Smn и конфокальной флуоресцентной микроскопии, по существу как описано в Makhortova et al., Nature Chemical Biology, 2011, 7:544. Уровень белка Smn в образцах, обработанных соединением, нормируют к уровню, полученному в образцах, обработанных растворителем, и графически отображают как функцию концентрации соединения.

Результаты

Как видно на фиг. 10, двигательные нейроны человека, обработанные в течение 72 ч возрастающими концентрациями соединения 6, содержат в ядре неуклонно больше белка Smn.

Пример 10. Анализ белка Smn в тканях животного

При данном анализе белка Smn, для определения увеличения уровней белка Smn, продуцируемого геном SMN2, ткани мышей, обработанных тестируемым соединением, сравнивают с тканями мышей, обработанных растворителем (DMSO).

Материалы

Материал	Источник
Ткани мышей с C/C-аллелью SMA	The Jackson Laboratory, strain No.: 008714 (B6.129-Smn1 ^{tm5 (Smn1/SMN2)} Mrph/J)
Ткани мышей SMA Δ7	The Jackson Laboratory, линия № 005025 (FVB.Cg-Tg(SMN2*delta7)4299Ahmb Tg(SMN2)89Ahmb Smn1 ^{tm1Ms4} /J)
Коктейль из ингибиторов протеаз	Roche Applied Science; кат. № 11836145001
анти-SMN d2	Blue cap Cisbio; кат. № 63IDC002-SMN
анти-SMN криптит	Red cap Cisbio; кат. № 63IDC002-SMN
восстанавливающий буфер SMN	Cisbio; кат. № 63IDC002-SMN-Buffer
Лизирующий буфер RIPA	20 mM Трис-HCl pH 7,5, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 1% NP-40, 1% дезоксихолат натрия
Буфер-разбавитель	20 mM Трис-HCl pH 7,5, 150 mM NaCl
Набор для ВСА анализа белка	Pierce; кат. № 23225
384-луночный белый планшет	Nunc; кат. № 351190
Полипропиленовый планшет с V-образным дном	Falcon; кат. № 165195
Прозрачный 96-луночный планшет из полистирола	Nunc; кат. № 442404
5 мм сферы из нержавеющей стали	Qiagen; кат. № 69989
2,0 мл пробирки с замком	Eppendorf; кат. № 022363352
96-луночный наполовину окаймленный планшет для ПЦР Twin.tec	Eppendorf; кат. № 951020389
TissueLyzer II	Qiagen; кат. № 85300
Планшетный ридер Envision	Perkin Elmer; модель 2103

Протокол

Образцы тканей взвешивают в пробирках с замком, и добавляют объем буфера RIPA, содержащий коктейль из ингибиторов протеаз, основываясь на соотношениях массы и объема для каждого типа ткани: головной мозг (50 мг/мл), мышцы (50 мг/мл) и спинной мозг (25 мг/мл).

Ткани гомогенизируют с использованием TissueLyzer путем перемалывания со сферами. В образец добавляют 5 мм сферы из нержавеющей стали и энергично встряхивают на TissueLyzer в течение 5 мин при 30 Гц. Затем, образцы центрифугируют в течение 20 мин при 14000d в микроцентрифуге и переносят гомогенат в планшеты для ПЦР. Гомогенаты разбавляют буфером RIPA приблизительно до 1 мг/мл для проведения HTRF и приблизительно до 0,5 мг/мл для измерения общего содержания белка с использованием ВСА анализа белка. Для проведения HTRF анализа SMN, 35 мкл гомогената ткани переносят в 384-луночный планшет, содержащий 5 мкл раствора антитела (анти-SMN d2 и анти-SMN криптит в разбавлении 1/100 восстанавливающим буфером SMN). Для получения контрольного сигнала, три (3) лунки в планшете содержат только лизирующий буфер RIPA, а потому служат в качестве холостой пробы. Планшет центрифугируют в течение 1 мин с получением на дне лунок раствора, который инкубируют в течение ночи при комнатной температуре. Флуоресценцию при 665 и 620 нм измеряют в каждой лунке планшета на планшетном ридере Envision (Perkin-Elmer). Общее содержание белка в гомогенате ткани измеряют с использованием ВСА анализа в соответствии с протоколом производителя.

Для каждой лунки с образцом, холостым контролем и контролем с растворителем рассчитывают нормированный сигнал флуоресценции путем деления значения сигнала при 665 нм на значение сигнала при 620 нм. Нормирование сигнала учитывает возможное тушение флуоресценции вследствие эффекта матрикса на лизат. Значение AF (величина процентного содержания белка Smn) для каждой лунки с образцом рассчитывают путем вычитания нормированной средней флуоресценции в лунках с холостым контролем из нормированной флуоресценции для каждой лунки с образцом, с последующим делением разницы на нормированную среднюю флуоресценцию в лунках с холостым контролем и умножением полученного значения на 100. Значение AF для каждого образца ткани делят на общее количество белка (определенное с использованием ВСА анализа) для данного образца ткани.

Изменение копийности белка Smn для каждого образца ткани относительно контроля с растворителем рассчитывают как выраженную в процентах разницу значения AF в образце ткани в присутствии тестируемого соединения и усредненного значения AF в контроле с растворителем, деленную на усредненное значение AF в контроле с растворителем.

Пример 11. Анализ белка Smn в тканях мышей с C/C-аллелью SMA

Ткани для использования при анализе белка Smn у взрослых мышей с C/C-аллелью SMA, готовят, как описано в примере 10. В анализе проводится оценка того, увеличивает ли обработка мышей с C/C-аллелью SMA тестируемым соединением в течение 10 суток уровни белка Smn, продуцируемого геном SMN2.

Материалы

Материал	Источник
Ткани мышей с C/C-аллелью SMA	The Jackson Laboratory, линия № 008714 (B6.129-Smn1 ^{tm5 (Smn1/SMN2)Mrph/J})

Протокол

Мышам с C/C-аллелью SMA дозированно BID перорально вводят тестируемое соединение (в 0,5% гидроксипропилметилцеллюлозе (HPMC) с 0,1% Твин-80) или растворитель в количестве 10 мг/кг в 10 суток. Для использования в качестве контроля гетерозиготным мышам соответствующей возрастной группы дозированно вводят растворитель. Ткани для анализа уровней белка собирают в соответствии с примером 10.

Результаты

Как видно на фиг. 11, уровень Smn, нормированный к уровню общего содержания белка, был увеличен в тканях головного мозга, спинного мозга и мышц у взрослых мышей с C/C-аллелью SMA, обработанных соединением 6 в дозе 100 мг/кг BID в течение 10 суток (фиг. 11a) или обработанных соединением 170 в дозе 100 мг/кг BID в течение 10 суток (фиг. 11b), относительно группы с введением растворителя.

Пример 12. Белок Smn в тканях новорожденных мышей SMA Δ7

Для определения того, увеличивает ли обработка тестируемым соединением уровни белка Smn, продуцируемого геном SMN2, используют анализ белка Smn в тканях новорожденных мышей с SMA.

Материалы

Материал	Источник
Ткани мышей SMA Δ7	The Jackson Laboratory, линия № 005025 (FVB.Cg- Tg (SMN2*delta7) 4299Ahmb Tg (SMN2) 89Ahmb Smn1 ^{tm1Msd/J})

Протокол

Гомозиготным нокаутным мышам SMA Δ7 дозированно один раз в сутки (QD) интраперитонеально (IP) вводят тестируемое соединение или растворитель (100% DMSO) начиная с 3-х суток посленатального периода (PND 3) до PND 9. Ткани собирают для анализа уровней белка в соответствии с примером 10.

Результаты

Как видно на фиг. 12, уровень Smn, нормированный к уровню общего содержания белка, был дозозависимо увеличен в тканях головного мозга, спинного мозга, мышц и кожи новорожденных гомозиготных нокаутных мышей SMA Δ7, обработанных соединением 6 (фиг. 12a, 12b, 12c и 12d, соответственно), и в тканях головного мозга, спинного мозга и мышц новорожденных гомозиготных нокаутных мышей SMA Δ7, обработанных соединением 170 (фиг. 12e, 12f и 12g соответственно).

Пример 13. Масса тела новорожденных мышей SMA Δ7

Для определения того, улучшает ли обработка тестируемым соединением массу тела, используют анализ изменения массы тела новорожденных мышей с SMA.

Материалы

Материал	Источник
Ткани мышей SMA Δ7	The Jackson Laboratory, линия № 005025 (FVB.Cg- Tg (SMN2*delta7) 4299Ahmb Tg (SMN2) 89Ahmb Smn1 ^{tm1Msd/J})

Протокол

Гомозиготным нокаутным мышам SMA Δ7 QD интраперитонеально (IP) вводят тестируемое соединение или растворитель (100% DMSO) начиная с PND 3 и до момента переключения на пероральное введение BID в 0,5% гидроксипропилметилцеллюлозе (HPMC) с 0,1% Твин-80 в дозе, превышающей в 3,16 раза дозу, использованную для IP введения. Значения массы тела мышей SMA Δ7, обработанных тестируемым соединением или растворителем, и гетерозиготных мышей соответствующей возрастной группы регистрируют каждые сутки.

Результаты

Как видно на фиг. 13, масса тела новорожденных гомозиготных нокаутных мышей SMA Δ7, обработанных соединением 6 IP QD начиная с PND 3 и до PND 30, а затем перорально BID начиная с PND 31 и до окончания исследования (фиг. 13a), и соединением 170 IP QD начиная с PND 3 и до PND 23, а затем перорально BID начиная с PND 24 и до окончания исследования (фиг. 13b), улучшалась по сравнению с мышами, обработанными растворителем.

Пример 14. Рефлекс переворачивания у новорожденных мышей SMA Δ7

Для определения того, улучшает ли тестируемое соединение рефлекс переворачивания, используют функциональные изменения рефлекса переворачивания у новорожденных мышей с SMA.

Материалы

Материал	Источник
Ткани мышей SMA Δ7	The Jackson Laboratory, линия № 005025 (FVB.Cg- Tg (SMN2*delta7) 4299Ahmb Tg (SMN2) 89Ahmb Smn1 ^{tm1Msd/J})

Протокол

Гомозиготным нокаутным мышам SMA Δ7 QD интраперитонеально (IP) вводят тестируемое соединение или растворитель (100% DMSO) начиная с PND 3 и до момента переключения на пероральное введение BID в 0,5% гидроксипропилметилцеллюлозе (HPMC) с 0,1% Твин-80 в дозе, превышающей в 3,16 раза дозу, использованную для IP введения. Рефлекс переворачивания определяют как время, затрачиваемое мышью для переворачивания с вставанием на лапы, после того как она лежала на спине. Рефлекс переворачивания измеряют пять раз для каждой мыши (определив для каждой попытки максимальное допустимое время 30 с) с 5 мин между каждым измерением. Время рефлекса переворачивания у гомозиготных нокаутных мышей SMA Δ7, обработанных тестируемым соединением или растворителем, и гетерозиготных мышей соответствующей возрастной группы измеряют на PND 10, 14 и 18 и графически отображают.

Результаты

Как видно на фиг. 14, рефлекс переворачивания у новорожденных гомозиготных нокаутных мышей

SMA Δ7, обработанных соединением 6 (фиг. 14a) и соединением 170 (фиг. 14b), вводимых IP QD начиная с PND 3, улучшался по сравнению с мышами, обработанными растворителем. Время переворачивания у новорожденных гомозиготных нокаутных мышей SMA Δ7, обработанных соединением, было сходно с таковым для гетерозиготных мышей соответствующей возрастной группы на PND 18.

Пример 15. Выживаемость новорожденных мышей SMA Δ7

Для определения того, улучшает ли выживаемость обработка тестируемым соединением, используют анализ изменения числа выживших с течением времени мышей.

Материалы

Материал	Источник
Ткани мышей	The Jackson Laboratory, линия № 005025 (FVB.Cg-
SMA Δ7	Tg (SMN2*delta7) 4299Ahmb Tg (SMN2) 89Ahmb Smn1 ^{tm1Mscl/J})

Протокол

Гомозиготным нокаутным мышам SMA Δ7 QD интраперитонеально (IP) вводят тестируемое соединение или растворитель (100% DMSO) в промежутке от PND 3 до момента переключения на пероральное введение BID в 0,5% гидроксипропилметилцеллюлозе (HPMC) с 0,1% Твин-80 в дозе, превышающей в 3,16 раза дозу, использованную для IP введения, с переключением позже на пероральное введение QD в 0,5% гидроксипропилметилцеллюлозе (HPMC) с 0,1% Твин-80 в дозе, превышающей в 6,32 раза дозу, использованную для IP введения. Число выживших мышей регистрируют каждые сутки и графически отображают в виде процента от общего числа мышей. Ткани мышей SMA Δ7 и гетерозиготных мышей соответствующей возрастной группы собирают для измерения уровней белка Smn и подвергают обработке, как подробно описано в примере 10. Измеренные в тканях уровни белка Smn, нормированные к уровням общего содержания белка, графически отображают в виде процента от уровней белка в тканях гетерозиготных мышей соответствующей возрастной группы, где уровень белка Smn у гетерозиготных мышей принимают за 100%. Уровень белка Smn в тканях мышей, обработанных тестируемым соединением, относительно такового в тканях гетерозиготных мышей указывают в % над каждым столбцом чертежа.

Результаты

Как видно на фиг. 15, выживаемость новорожденных гомозиготных нокаутных мышей SMA Δ7, обработанных соединением 6 (фиг. 15a), вводимым IP QD начиная с PND 3 и до PND 30, а затем перорально BID начиная с PND 31 и до конца исследования, и соединением 170 (фиг. 15b), вводимым IP QD начиная с PND 3 и до PND 23, а затем перорально BID начиная с PND 24 и до конца исследования, улучшалась по сравнению с мышами, обработанными растворителем. Как видно на фиг. 16, уровни белка Smn в тканях головного мозга, спинного мозга и мышц гомозиготных нокаутных мышей SMA Δ7 после обработки соединением 6, вводимым IP 10 мг/кг QD начиная с PND 3 и до PND 30, а затем перорально 30 мг/кг BID начиная с PND 31 и до PND 156 (фиг. 16a), и соединением 170, вводимым IP 3 мг/кг QD начиная с PND 3 и до PND 23, а затем перорально 10 мг/кг BID начиная с PND 24 и до PND 88, и перорально 20 мг/кг QD начиная с PND 89 и до PND 185 (фиг. 16b), были измерены и графически отображены относительно мышей, обработанных растворителем, и гетерозиготных мышей соответствующей возрастной группы.

Пример 16. Полуколичественный RT-PCR анализ сплайсинга мРНК мини-гена SMN1 человека по конечной точке в культивируемых клетках

Для визуализации и количественной оценки уровней полноразмерной мРНК мини-гена SMN1 и мРНК Δ7 человека в первичных клетках и линиях клеток, экспрессирующих мини-генную конструкцию SMN1 человека, обработанных тестируемым соединением, используют RT-PCR анализ.

Материалы

Материал	Источник
Клетки HEK293H	ATCC; кат. № CRL-1573
Лизирующий буфер Cells-To-Ct	Life Technologies, Inc. (ранее Applied Biosystems); кат. № 4399002
Реагент для липидной трансфекции FuGENE-6	Roche Applied Science; кат. № 11 814 443 001
DMEM	Life Technologies, Inc. (ранее Invitrogen); кат. № 11960-044
96-луночные планшеты с плоским дном	Becton Dickinson; кат. № 353072
ДНК-полимеразная супер-смесь Platinum Taq HiFi	Life Technologies, Inc. (ранее Invitrogen); кат. № 11304-016
Набор с RT iScript	BioRad; кат. № 170-8890
Гели с 2% агарозой E и бромидом этидия; 48-луночный Double Comb	Life Technologies, Inc. (ранее Invitrogen); кат. № G8008-02
Система гель-документации	Система визуализации UVP Gel Doc It 310

Мини-генная конструкция SMN1**Получение мини-генных конструкций**

С использованием методики получения мини-генной конструкции SMN2, описанной в биологическом примере 1, SMN1 версию мини-гена получают путем замены шестого нуклеотида экзона 7 (остаток тимина) в мини-генной конструкции SMN2-A на цитозин с применением метода сайт-направленного мутагенеза. Так, мини-генная конструкция SMN1, сходная с мини-генной конструкцией SMN2-A, содержит остаток аденина, вставленный после нуклеотидного остатка 48 экзона 7. Мини-генную конструкцию SMN1 называют SMN1-A.

Протокол

В 96-луночной планшете клетки HEK293H (10000 клеток на лунку/199 мкл) трансфицируют 15 нг/лунку SMN1-A мини-генной репортерной плазмиды с использованием реагента FuGENE-6. Клетки инкубируют в течение 24 ч после трансфекции. Тестируемые соединения последовательно разбавляют 100% DMSO в 3,16 раза с получением концентрационной зависимости по 7 точкам. В каждую тестируемую лунку добавляют раствор тестируемого соединения (1 мкл, 200* в DMSO). В каждую контрольную лунку добавляют 1 мкл DMSO. Планшет инкубируют в течение 7 часов в клеточном инкубаторе (37°C, 5% CO₂, 100% относительная влажность). Затем клетки лизируют в лизирующем буфере Cells-To-Ct, и хранят лизаты при -80°C.

С мини-гена SMN1 получают сплайсированные мРНК SMN. Термин "мини-ген SMN1 FL" относится к первому продукту сплайсинга, содержащему экзон 7 и соответствующему полноразмерной мРНК SMN1. Термин "мини-ген SMN1 Δ7" относится ко второму продукту без экзона 7.

мРНК мини-гена SMN FL и мРНК мини-гена SMN Δ7 амплифицируют с использованием праймеров, представленных в таблице 11. Прямой SMN праймер C (SEQ ID NO. 11) гибридизуется до нуклеотидной последовательности в экзоне 6 (нуклеотиды 43-63), обратный SMN праймер A (SEQ ID NO. 2) гибридизуется до нуклеотидной последовательности в кодирующей последовательности люциферазы светляка. Сочетание указанных двух олигонуклеотидов обнаруживает только мини-гены SMN1 или SMN2 (RT-PCR) и не обнаруживает эндогенные гены SMN1 или SMN2. Поскольку клетки HEK293H, использованные в примере 16, были трансфицированы только мини-геном SMN1 человека, методом RT-PCR можно визуализировать и количественно оценить только полноразмерную мРНК мини-гена SMN1 и мРНК мини-гена SMN1 Δ7.

Таблица 11

Праймер	Последовательность	Источник
Прямой SMN праймер С	SEQ ID NO.11: GATGCTGATGCTTTGGGAAGT	PTC ¹
Обратный SMN праймер А	SEQ ID NO.2: CGCTTCACATTCCAGATCTGTC	PTC ¹

¹Праймеры разработаны PTC Therapeutics, Inc.

Для синтеза кДНК, 5 мкл лизата, 4 мкл 5× реакционной смеси iScript, 1 мкл обратной транскриптазы и 10 мкл воды объединяют и инкубируют в течение 5 мин при 25°C, затем в течение 30 мин при 42°C, а затем в течение 5 мин при 85°C. Раствор кДНК хранят при -20°C.

Для постановки ПЦР по конечной точке, 5 мкл кДНК, 0,2 мкл 100 мкМ прямого праймера, 0,2 мкл 100 мкМ обратного праймера и 22,5 мкл полимеразной супер-смеси объединяют в 96-луночном наполовину окаймленном планшете для ПЦР. ПЦР проводят при следующих температурах в указанное время:

Стадия 1: 94°C (2 мин),

Стадия 2: 94°C (30 с),

Стадия 3: 55°C (30 с),

Стадия 4: 68°C (1 мин),

затем повтор стадий 2-4 всего в течение 33 циклов, а затем поддержание при 4°C.

В течение 14 мин 10 мкл каждого ПЦР образца электрофоретически разделяют на геле с 2% агарозы Е, окрашивают красителями dsDNA (например, бромид этидия) и визуализируют с использованием системы гель-документирования.

Результаты

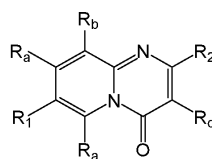
Как видно на фиг. 17, клетки, обработанные возрастающими концентрациями соединения 6 (фиг. 17a) и соединения 170 (фиг. 17b), содержат неуклонно больше мРНК мини-гена SMN1 FL и меньше мРНК мини-гена SMN1 Δ7, что указывает на коррекцию альтернативного сплайсинга SMN1.

Вне зависимости от того, был ли документ, процитированный в настоящем документе, особым образом и отдельно указан как включаемый посредством ссылки, все документы, процитированные в настоящем документе, включены посредством ссылки в настоящее описание для всех без исключения целей в той же мере, как если бы каждая отдельная ссылка была полностью изложена в настоящем документе.

Хотя выше были подробно описаны определенные варианты осуществления, средним специалистам в данной области техники следует со всей ясностью понимать, что в вариантах осуществления возможны многие модификации, не выходящие за рамки идеи изобретения. Все модификации подлежат включению в объем формулы изобретения, описанной в настоящем документе.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы (IIa1)



(IIa1)

или его свободная кислота, свободное основание, фармацевтически приемлемая соль и стереоизомер, где

R₁ представляет собой гетероцикл, выбранный из оксиранила, оксетанила, азетидинила, тетрагидрофуранила, пирролидинила, имидазолидинила, изоксазолидинила, изотиазолидинила, оксазолидинила, тиазолидинила, триазилидинила, оксадиазолидинила, тиадиазолидинила, тетразолидинила, пиридина, дигидро-2Н-пиридина, тиопиридина, 1,3-диоксанила, 1,2,5,6-тетрагидропиридинила, 1,2,3,6-тетрагидропиридинила, пиперидинила, пиперазинила, морфолинила, тиоморфолинила, 1,4-дiazепанила, бензо[d][1,3]диоксолила, 1,4-бензодиоксанила, 2,3-дигидробензо[b][1,4]диоксинила, гексагидропирроло[3,4-b]пиррол-(1H)-ила, (3aS,6aS)-гексагидропирроло[3,4-b]пиррол-(1H)-ила, (3aR,6aR)-гексагидропирроло[3,4-b]пиррол-(1H)-ила, гексагидропирроло[3,4-b]пиррол-(2H)-ила, (3aS,6aS)-гексагидропирроло[3,4-b]пиррол-(2H)-ила, (3aR,6aR)-гексагидропирроло[3,4-b]пиррол-(2H)-ила, гексагидропирроло[3,4-c]пиррол-(1H)-ила, (3aR,6aS)-гексагидропирроло[3,4-c]пиррол-(1H)-ила, (3aR,6aR)-гексагидропирроло[3,4-c]пиррол-(1H)-ила, октагидро-5Н-пирроло[3,2-c]пиридинила, октагидро-6Н-пирроло[3,4-b]пиридинила, (4aR,7aR)-октагидро-6Н-пирроло[3,4-b]пиридинила, (4aS,7aS)-октагидро-6Н-пирроло[3,4-b]пиридинила, гексагидропирроло[1,2-a]пиазин-(1H)-ила, (7R,8aS)-гексагидропирроло[1,2-a]пиазин-(1H)-ила, (8aS)-гексагидропирроло[1,2-a]пиазин-(1H)-ила, (8aR)-гексагидропирроло[1,2-a]пиазин-(1H)-

ила, (8aS)-октагидропирроло[1,2-а]пиазин-(1H)-ила, (8aR)-октагидропирроло[1,2-а]пиазин-(1H)-ила, гексагидропирроло[1,2-а]пиазин-(2H)-она, октагидро-2H-пиридо[1,2-а]пиазинила, 3-азабицикло[3.1.0]гексила, (1R,5S)-3-азабицикло[3.1.0]гексила, 8-азабицикло[3.2.1]октила, (1R,5S)-8-азабицикло[3.2.1]октила, 8-азабицикло[3.2.1]окт-2-енила, (1R,5S)-8-азабицикло[3.2.1]окт-2-енила, 9-азабицикло[3.3.1]нонила, (1R,5S)-9-азабицикло[3.3.1]нонила, 2,5-диазабицикло[2.2.1]гептила, (1S,4S)-2,5-диазабицикло[2.2.1]гептила, 2,5-диазабицикло[2.2.2]октила, 3,8-диазабицикло[3.2.1]октила, (1R,5S)-3,8-диазабицикло[3.2.1]октила, 1,4-диазабицикло[3.2.2]нонила, азаспиро[3.3]гептила, 2,6-диазаспиро[3.3]гептила, 2,7-диазаспиро[3.5]нонила, 5,8-диазаспиро[3.5]нонила, 2,7-диазаспиро[4.4]нонила или 6,9-диазаспиро[4.5]децила;

где R₁ необязательно замещен одним, двумя или тремя заместителями R₃ и необязательно одним дополнительным заместителем R₄ или

где R₁ необязательно замещен одним, двумя, тремя или четырьмя заместителями R₃;

R₂ представляет собой фенил;

где R₂ необязательно замещен одним, двумя или тремя заместителями R₆ и необязательно одним дополнительным заместителем R₇;

каждый R_a независимо выбирают из водорода, галогена или C₁₋₈алкила;

R_b представляет собой водород, галоген, C₁₋₈алкил или C₁₋₈алкокси;

R_c представляет собой водород, галоген или C₁₋₈алкил;

каждый R₃ независимо выбирают из циано, галогена, гидрокси, оксо, C₁₋₈алкила, галоген-C₁₋₈алкила, C₁₋₈алкилкарбонила, C₁₋₈алкокси, галоген-C₁₋₈алкокси, C₁₋₈алкокси-C₁₋₈алкила, C₁₋₈алкоксикарбонила, amino, C₁₋₈алкиламино, (C₁₋₈алкил)₂-амино, amino-C₁₋₈алкила, C₁₋₈алкиламино-C₁₋₈алкила, (C₁₋₈алкил)₂-амино-C₁₋₈алкила, amino-C₁₋₈алкиламино, C₁₋₈алкиламино-C₁₋₈алкиламино, (C₁₋₈алкиламино-C₁₋₈алкил)₂-амино, (C₁₋₈алкил)₂-амино-C₁₋₈алкиламино, [(C₁₋₈алкил)₂-амино-C₁₋₈алкил]₂-амино, (C₁₋₈алкиламино-C₁₋₈алкил)(C₁₋₈алкил)амино, [(C₁₋₈алкил)₂-амино-C₁₋₈алкил](C₁₋₈алкил)амино, C₁₋₈алкокси-C₁₋₈алкиламино, (C₁₋₈алкокси-C₁₋₈алкил)₂-амино, (C₁₋₈алкокси-C₁₋₈алкил)(C₁₋₈алкил)амино, C₁₋₈алкилкарбониламино, C₁₋₈алкоксикарбониламино, гидрокси-C₁₋₈алкила, гидрокси-C₁₋₈алкокси-C₁₋₈алкила, гидрокси-C₁₋₈алкиламино, (гидрокси-C₁₋₈алкил)₂-амино или (гидрокси-C₁₋₈алкил)(C₁₋₈алкил)амино;

R₄ представляет собой C₃₋₁₄циклоалкил, C₃₋₁₄циклоалкил-C₁₋₈алкил, C₃₋₁₄циклоалкиламино, арил-C₁₋₈алкил, арил-C₁₋₈алкоксикарбонил, арилсульфонилокси-C₁₋₈алкил, гетероциклил или гетероциклил-C₁₋₈алкил; где каждый C₃₋₁₄циклоалкил, арил и гетероциклил необязательно замещен одним, двумя или тремя заместителями R₅;

каждый R₅ независимо выбирают из галогена, гидрокси, циано, нитро, C₁₋₈алкила, галоген-C₁₋₈алкила, C₁₋₈алкокси, галоген-C₁₋₈алкокси, amino, C₁₋₈алкиламино, (C₁₋₈алкил)₂-амино или C₁₋₈алкилтио;

каждый R₆ независимо выбирают из галогена, гидрокси, циано, нитро, C₁₋₈алкила, C₂₋₈алкенила, галоген-C₁₋₈алкила, гидрокси-C₁₋₈алкила, C₁₋₈алкокси, галоген-C₁₋₈алкокси, C₁₋₈алкокси-C₁₋₈алкила, amino, C₁₋₈алкиламино, (C₁₋₈алкил)₂-амино или C₁₋₈алкилтио и

R₇ представляет собой C₃₋₁₄циклоалкил, C₃₋₁₄циклоалкилокси, арил, гетероциклил или гетероарил, где

арил представляет собой моноциклический, бициклический или полициклический 6-14-членный ароматический радикал карбоциклической структуры;

гетероарил представляет собой моноциклический, бициклический или полициклический ароматический радикал карбоциклической структуры, в котором один или несколько кольцевых атомов углерода заменены одним или несколькими гетероатомами, выбранными из атома O, S или N;

гетероциклил представляет собой насыщенный или частично ненасыщенный моноциклический, бициклический или полициклический ароматический радикал карбоциклической структуры, в котором один или несколько кольцевых атомов углерода заменены гетероатомом, выбранными из атома O, S или N.

2. Соединение по п.1, где R₁ представляет собой гетероциклил, выбранный из азетидинила, тетрагидрофуранила, пирролидинила, пиперидинила, пиперазинила, 1,4-дiazепанила, 1,2,5,6-тетрагидропиридинила, 1,2,3,6-тетрагидропиридинила, гексагидропирроло[3,4-b]пиррол-(1H)-ила, (3aS,6aS)-гексагидропирроло[3,4-b]пиррол-(1H)-ила, (3aR,6aR)-гексагидропирроло[3,4-b]пиррол-(1H)-ила, гексагидропирроло[3,4-b]пиррол-(2H)-ила, (3aS,6aS)-гексагидропирроло[3,4-b]пиррол-(2H)-ила, гексагидропирроло[3,4-c]пиррол-(1H)-ила, (3aR,6aS)-гексагидропирроло[3,4-c]пиррол-(1H)-ила, октагидро-5H-пирроло[3,2-c]пиридинила, октагидро-6H-пирроло[3,4-b]пиридинила, (4aR,7aR)-октагидро-6H-пирроло[3,4-b]пиридинила, (4aS,7aS)-октагидро-6H-пирроло[3,4-b]пиридинила, гексагидропирроло[1,2-а]пиазин-(2H)-она, гексагидропирроло[1,2-а]пиазин-(1H)-ила, (7R,8aS)-гексагидропирроло[1,2-а]пиазин-(1H)-ила, (8aS)-гексагидропирроло[1,2-а]пиазин-(1H)-ила, (8aR)-гексагидропирроло[1,2-а]пиазин-(1H)-ила, (8aS)-октагидропирроло[1,2-а]пиазин-(1H)-ила, (8aR)-октагидропирроло[1,2-а]пиазин-(1H)-ила, октагидро-2H-пиридо[1,2-а]пиазинила, 3-азабицикло[3.1.0]гексила, (1R,5S)-3-азабицикло[3.1.0]гексила, 8-азабицикло[3.2.1]октила, (1R,5S)-8-азабицикло[3.2.1]октила, 8-азабицикло[3.2.1]окт-2-енила, (1R,5S)-8-азабицикло[3.2.1]окт-2-енила, 9-азабицикло[3.3.1]нонила, (1R,5S)-9-азабицикло[3.3.1]нонила, 2,5-диазабицикло[2.2.1]гептила, (1S,4S)-2,5-диазабицикло[2.2.1]гептила, 2,5-диазабицикло[2.2.2]октила, 3,8-диазабицикло[3.2.1]октила, (1R,5S)-3,8-диазабицикло[3.2.1]октила, 1,4-

диазабицикло[3.2.2]нонила, азаспиро[3.3]гептила, 2,6-диазаспиро[3.3]гептила, 2,7-диазаспиро[3.5]нонила, 5,8-диазаспиро[3.5]нонила, 2,7-диазаспиро[4.4]нонила или 6,9-диазаспиро[4.5]децила; где каждый гетероцикл необязательно замещен одним, двумя или тремя заместителями R₃ и необязательно одним дополнительным заместителем R₄.

3. Соединение по п.1, где фармацевтически приемлемая соль представляет собой хлорид, гидробромид, гидрохлорид, дигидрохлорид, ацетат, трифторацетат или соль трифторуксусной кислоты.

4. Способ усиления включения экзона 7 SMN2 в мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2, включающий контактирование клетки человека с соединением по п.1.

5. Способ по п.4, где клетка представляет собой клетку от пациента с спинальной мышечной атрофией.

6. Способ увеличения количества белка Smpn, включающий контактирование клетки человека с соединением по п.1.

7. Способ по п.6, где клетка представляет собой клетку от пациента с спинальной мышечной атрофией.

8. Соединение, где соединение выбирают из группы, состоящей из:

- 2-(4-метоксифенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(4-метоксифенил)-7-(4-метилпиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(4-метоксифенил)-7-[(3R)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 7-[(3R,5S)-3,5-диметилпиперазин-1-ил]-2-(4-метоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 7-(1,4-дiazепан-1-ил)-2-(4-метоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(3,4-диметоксифенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(3,4-диметоксифенил)-7-(3,3-диметилпиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(3,4-диметоксифенил)-7-[(3R)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(3,4-диметоксифенил)-7-(4-этилпиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 7-(1,4-дiazепан-1-ил)-2-(3,4-диметоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(3,4-диметоксифенил)-7-(4-метил-1,4-дiazепан-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(4-метоксифенил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(3,4-диметоксифенил)-7-(4-метилпиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(3,4-диметоксифенил)-7-[(3R,5S)-3,5-диметилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(3,4-диметоксифенил)-7-(4-пропилпиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(4-метоксифенил)-7-(4-метил-1,4-дiazепан-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 7-(3,3-диметилпиперазин-1-ил)-2-(4-метоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(3-метоксифенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(3-метоксифенил)-7-(4-метилпиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(3-метоксифенил)-7-[(3R)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 7-[(3R,5S)-3,5-диметилпиперазин-1-ил]-2-(3-метоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 7-(4-этилпиперазин-1-ил)-2-(3-метоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 7-(1,4-дiazепан-1-ил)-2-(3-метоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(3-метоксифенил)-7-(4-метил-1,4-дiazепан-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(3,4-диметоксифенил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-фенил-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-2-фенил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(3,4-диметоксифенил)-9-фтор-7-(4-метилпиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(3-хлорфенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(4-хлорфенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 7-(пиперазин-1-ил)-2-[3-(трифторметил)фенил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 7-(пиперазин-1-ил)-2-[4-(трифторметил)фенил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(3-метилфенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(4-фторфенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(4-нитрофенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-[4-(диметиламино)фенил]-9-фтор-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-[4-(диметиламино)фенил]-9-фтор-7-[(3R)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(2-фторфенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-[4-(диметиламино)фенил]-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-[4-(диметиламино)фенил]-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(3,4-диметилфенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(3,4-диметилфенил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-[3-(диметиламино)фенил]-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-[3-(диметиламино)фенил]-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-[4-(дифторметокси)фенил]-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-[4-(дифторметокси)фенил]-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(3-фторфенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,

[illegible]

2-(3,4-диметоксифенил)-7-(1-метилпиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-7-[(3S)-3-(пропан-2-иламино)пирролидин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-(4-метил-1,4-дiazепан-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(4-метокси-3-нитрофенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-[3-фтор-4-(метилсульфанил)фенил]-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,5-дифтор-4-метоксифенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,5-дифтор-4-метоксифенил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 7-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-(3-фтор-4-метоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-(1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-7-(1-метил-1, 2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3-хлор-5-фторфенил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3-хлор-5-фторфенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-(1-метил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 7-[(3S)-3-(диметиламино)пирролидин-1-ил]-2-(3-фтор-4-метоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 7-[(3R,4R)-3-(диметиламино)-4-гидроксипирролидин-1-ил]-2-(3-фтор-4-метоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 7-(4-аминопиперидин-1-ил)-2-(3-фтор-4-метоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-[4-(метиламино)пиперидин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-[(3aR,6aS)-гексагидропирроло[3,4-с]пиррол-2(1H)-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-[(3aR,6aS)-5-метилгексагидропирроло[3,4-с]пиррол-2(1H)-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-7-[1-(2-гидроксиэтил)пиперидин-4-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(4-фтор-3-метоксифенил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(4-фтор-3-метоксифенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-дифтор-5-метоксифенил)-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-дифтор-5-метоксифенил)-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-[(3S)-3-(метиламино)пирролидин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-{4-[(метиламино)метил]пиперидин-1-ил}-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 7-[(3S)-3-аминопирролидин-1-ил]-2-(3-фтор-4-метоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 7-{4-[(диметиламино)метил]пиперидин-1-ил}-2-(3-фтор-4-метоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 3-фтор-5-{7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4-оксо-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-2-ил}бензонитрил,
 3-фтор-5-[4-оксо-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-2-ил]бензонитрил,
 2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-[(3'S,4'S)-4'-гидрокси-1,3'-бипирролидин-1'-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 7-(1,4-дiazепан-1-ил)-2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-[(3aR,6aR)-1-метилгексагидропирроло[3,4-b]пиррол-5(1H)-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-7-(1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-7-[1-(2-гидроксиэтил)-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-7-(пиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-7-(1-метил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-7-(1-метилпиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-7-[(3aR,6aS)-гексагидропирроло[3,4-с]пиррол-2(1H)-ил]-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-7-[(3aR,6aS)-5-метилгексагидропирроло[3,4-с]пиррол-2(1H)-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-7-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 7-[(1R,5S)-8-азабицикло[3.2.1]окт-2-ен-3-ил]-2-(3,4-диметоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-7-(1,2,5,6-тетрагидропиридин-3-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-[(3aR,6aS)-5-(2-гидроксиэтил)гексагидропирроло[3,4-с]пиррол-2(1H)-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-[(3aS,6aS)-1-метилгексагидропирроло[3,4-b]пиррол-5(1H)-ил]-4Н-

пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-[(3aR,6aS)-5-(пропан-2-ил)гексагидропирроло[3,4-с]пиррол-2(1H)-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 7-[(3R)-3-(диметиламино)пирролидин-1-ил]-2-(3-фтор-4-метоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-[(4aR,7aR)-октагидро-6Н-пирроло[3,4-b]пиридин-6-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 7-[(3aR,6aS)-5-этилгексагидропирроло[3,4-с]пиррол-2(1H)-ил]-2-(3-фтор-4-метоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3-фтор-4-метоксифенил)-9-метил-7-(1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-[(4aR,7aR)-1-метилоктагидро-6Н-пирроло[3,4-b]пиридин-6-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-7-[(3R)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3-фтор-4-метоксифенил)-9-метил-7-(1-метил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-7-[(1R,5S)-8-метил-8-азабицикло[3.2.1]окт-3-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-7-[(2R)-2-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3-фтор-4-метоксифенил)-9-метил-7-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 7-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-(3-фтор-4-метоксифенил)-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3-фтор-4-метоксифенил)-9-метил-7-(1-метилпиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 7-[4-(циклопропиламино)пиперидин-1-ил]-2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-7-[(3R,5S)-3,5-диметилпиперазин-1-ил]-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-7-[(3R)-3,4-диметилпиперазин-1-ил]-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-7-(4-метилпиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-7-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-9-этил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-7-[1-(2-гидроксиэтил)-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил]-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-7-(1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиримидо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-7-[4-(метиламино)пиперидин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-7-[4-(этиламино)пиперидин-1-ил]-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-8-метил-7-(пиперазин-1-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-7-[4-(пропан-2-иламино)пиперидин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 7-(1-циклобутил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-2-(3,4-диметоксифенил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-7-[1-(пропан-2-ил)-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-7-[1-(оксетан-3-ил)-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-7-(1-пропил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-7-(1-этил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-7-(1-пропил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 7-(1-циклобутил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-7-[1-(оксетан-3-ил)-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-7-[1-(пропан-2-ил)-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-7-(1-этил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-8-метил-7-(1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 7-(1-циклопропил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
 2-(3,4-диметоксифенил)-8-метил-7-(1-метил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пи-

римидин-4-он,

- 2-(3,4-диметоксифенил)-7-(1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиримидо[1,2-б]пиридазин-4-он,
- 2-(3,4-диметоксифенил)-7-(1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиразино[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(3-фтор-4-метоксифенил)-7-(пиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(3,4-диметоксифенил)-7-(1-этилпиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(3,4-диметоксифенил)-7-[цис-4-(метиламино)циклогексил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(3,4-диметоксифенил)-7-(пиперидин-3-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-7-[4-(пропиламино)пиперидин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(3,4-диметоксифенил)-9-этил-7-(1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(3,4-диметоксифенил)-7-[(8aR)-гексагидропирроло[1,2-а]пиразин-2(1H)-ил]-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(3,4-диметоксифенил)-9-этил-7-(1-метил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-7-[4-(пропан-2-иламино)пиперидин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(3,4-диметоксифенил)-7-[(8aS)-гексагидропирроло[1,2-а]пиразин-2(1H)-ил]-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(3,4-диметоксифенил)-9-этил-7-(1-этил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-7-[4-(морфолин-4-ил)пиперидин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(3,4-диметоксифенил)-7-{4-[(2-гидроксиэтил)амино]пиперидин-1-ил}-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(3,4-диметоксифенил)-9-этил-7-(1-метилпиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 7-[4-(диэтиламино)пиперидин-1-ил]-2-(3,4-диметоксифенил)-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(3,4-диметоксифенил)-9-этил-7-(1-этилпиперидин-4-ил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(3,4-диметоксифенил)-7-{4-[(2-гидроксиэтил)(метил)амино]пиперидин-1-ил}-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(3,4-диметоксифенил)-9-этил-7-[(3R)-3-метилпиперазин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(3,4-диметоксифенил)-9-этил-7-[(8aR)-гексагидропирроло[1,2-а]пиразин-2(1H)-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(3,4-диметоксифенил)-7-{4-[(2-метоксиэтил)амино]пиперидин-1-ил}-9-метил-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(3,4-диметоксифенил)-7-{4-[(диметиламино)метил]пиперидин-1-ил}-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он,
- 2-(3,4-диметоксифенил)-7-[4-(пирролидин-1-илметил)пиперидин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он и
- 2-(3,4-диметоксифенил)-7-[4-(пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-ил]-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он, или

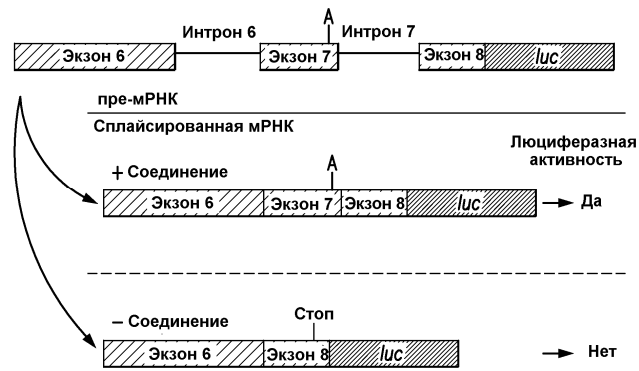
его фармацевтически приемлемая соль.

9. Способ усиления включения экзона 7 SMN2 в мРНК, которая транскрибируется с гена SMN2, включающий контактирование клетки человека с соединением по п.8.

10. Способ по п.9, где клетка представляет собой клетку от пациента со спинальной мышечной атрофией.

11. Способ увеличения количества белка Smn, включающий контактирование клетки человека с соединением по п.8.

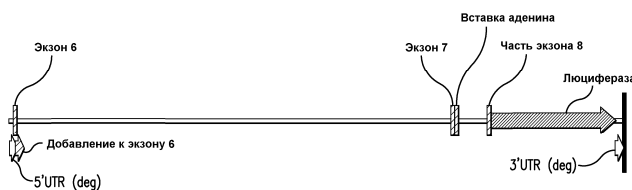
12. Способ по п.11, где клетка представляет собой клетку от пациента со спинальной мышечной атрофией.

[illegible]

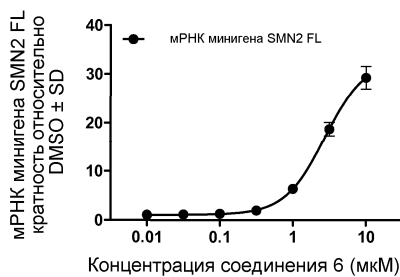
[illegible]

SEQ ID NO. 21

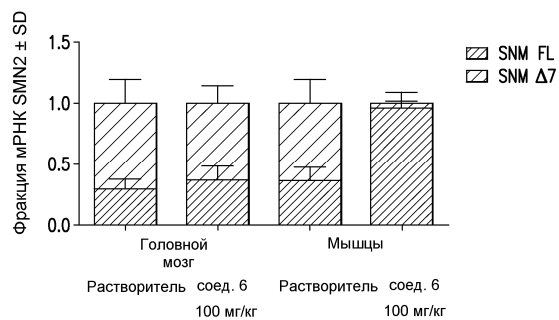
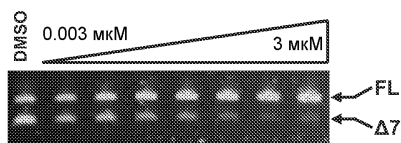
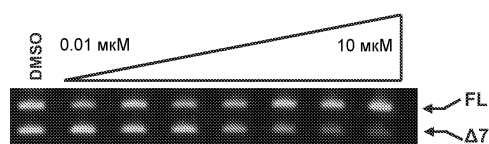
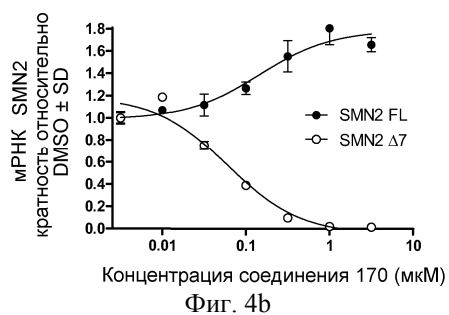
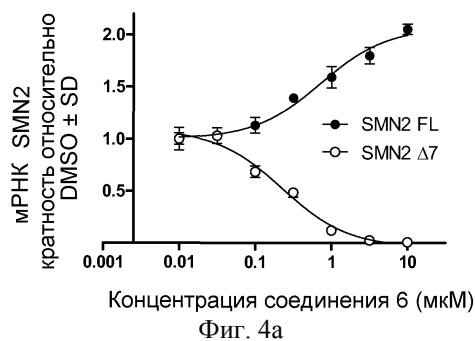
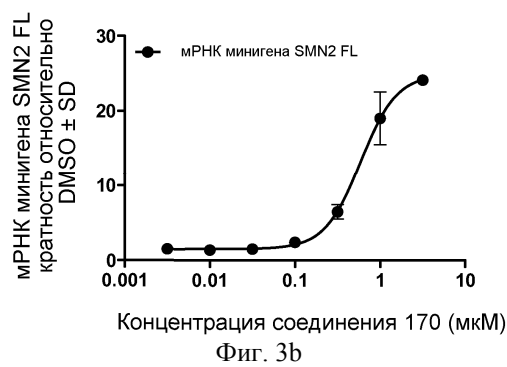
Фиг. 2а

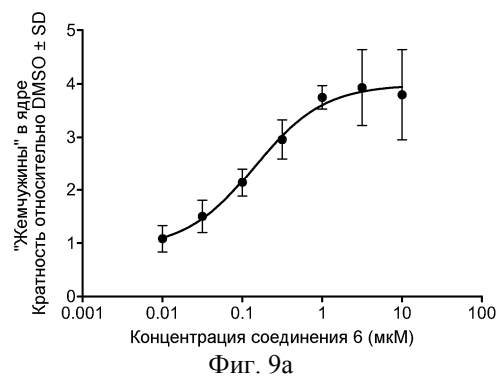
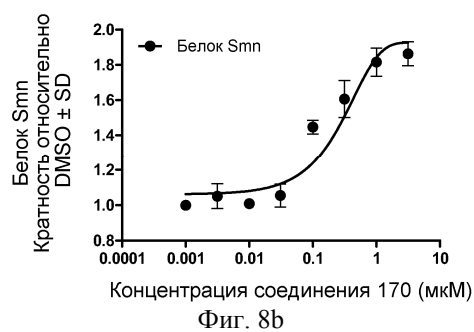
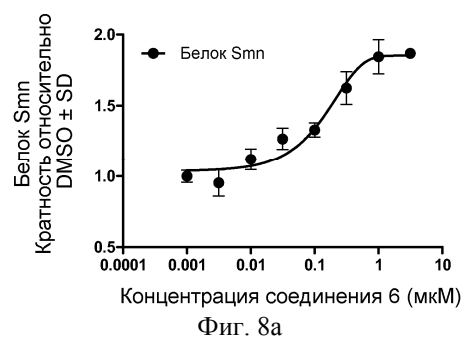
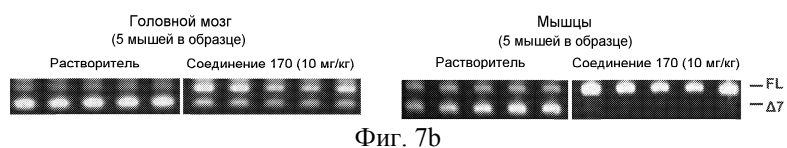
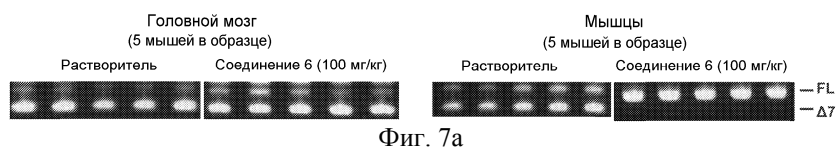
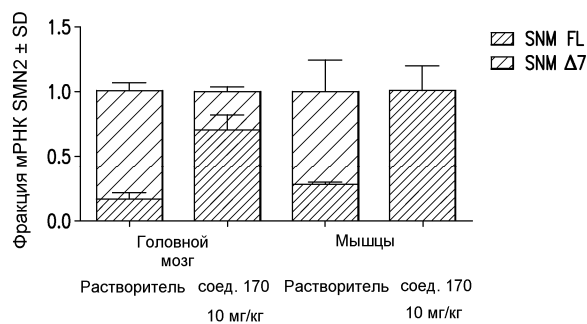


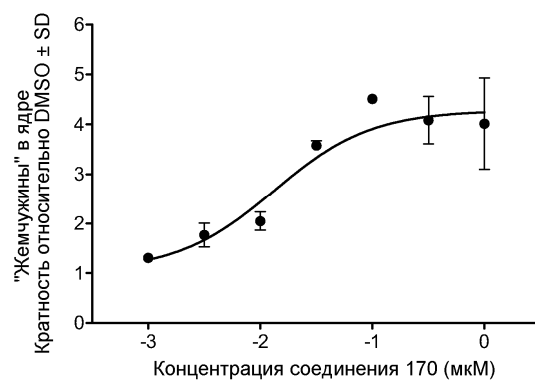
Фиг. 2b



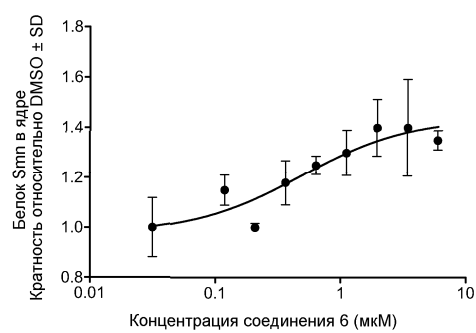
ФИГ. 3а



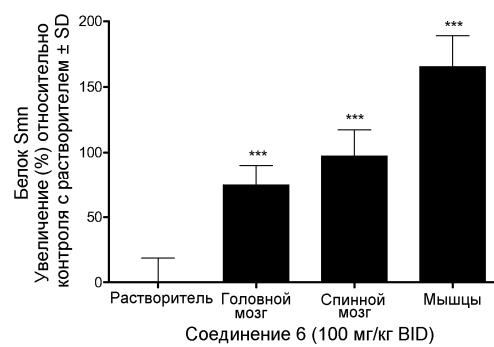




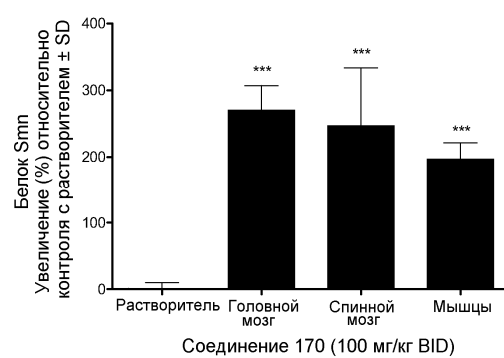
Фиг. 9b



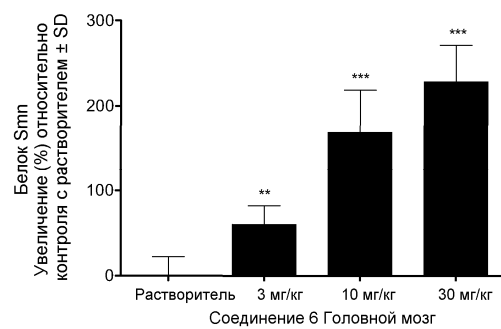
Фиг. 10



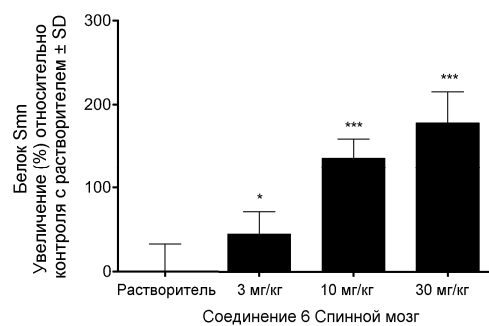
Фиг. 11a



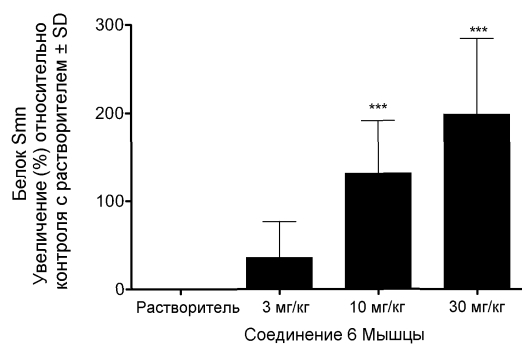
Фиг. 11b



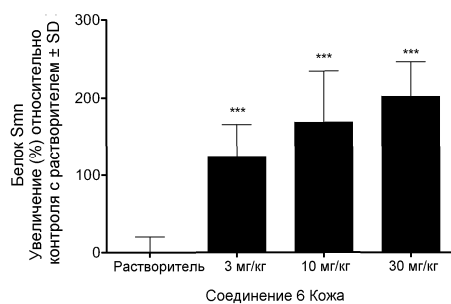
Фиг. 12a



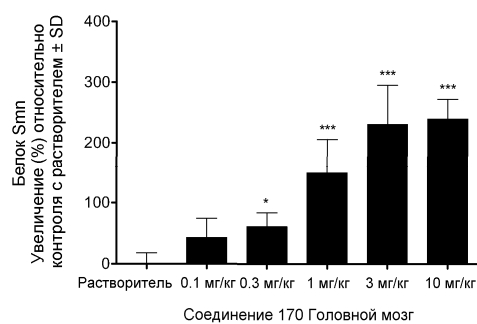
Фиг. 12b



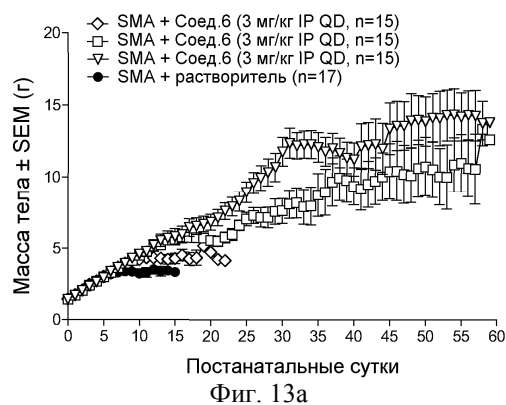
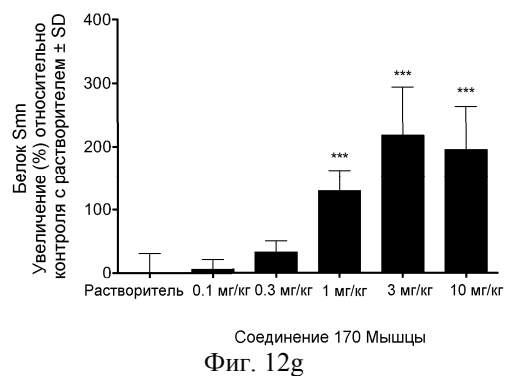
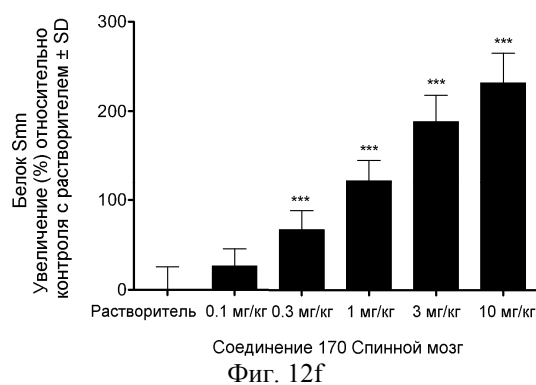
Фиг. 12c

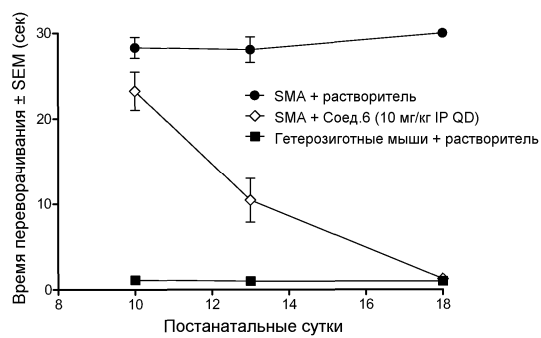


Фиг. 12d

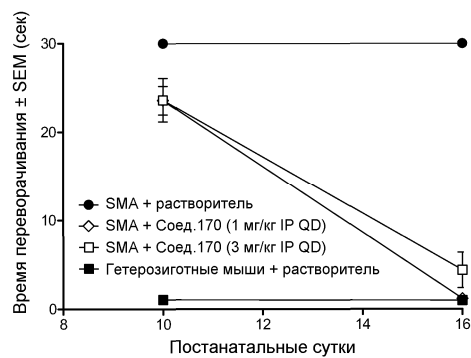


Фиг. 12e

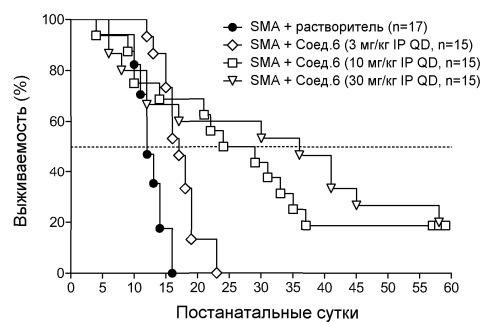




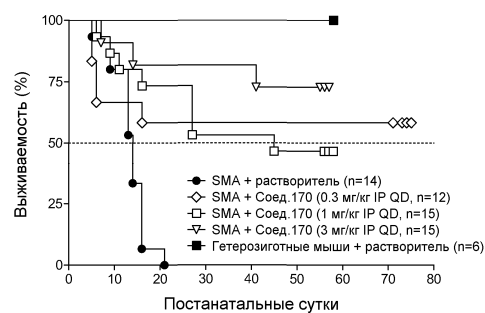
Фиг. 14a



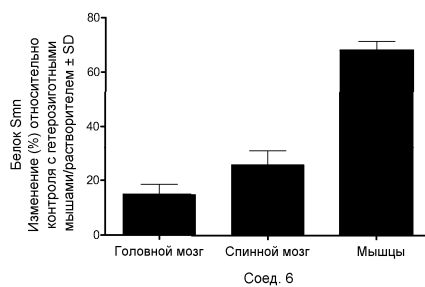
Фиг. 14b



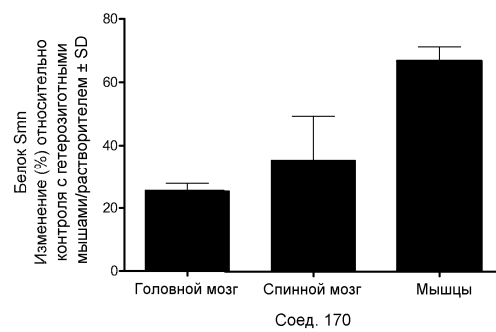
Фиг. 15a



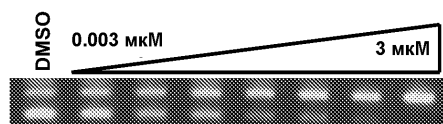
Фиг. 15b



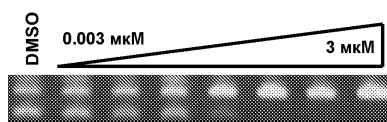
Фиг. 16a



Фиг. 16b



Фиг. 17a



Фиг. 17b

