

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **038890**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.11.03

(21) Номер заявки
201891087

(22) Дата подачи заявки
2016.11.01

(51) Int. Cl. **C07D 401/14** (2006.01)
C07D 403/14 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/53 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)
A61K 31/4439 (2006.01)

(54) **ИНГИБИТОРЫ RET**

(31) **62/249,784; 62/367,960**

(32) **2015.11.02; 2016.07.28**

(33) **US**

(43) **2018.12.28**

(86) **PCT/US2016/059879**

(87) **WO 2017/079140 2017.05.11**

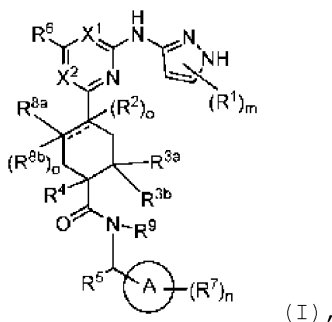
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**БЛЮПРИНТ МЕДСИНС
КОРПОРЕЙШН (US)**

(72) Изобретатель:
**Брубэйкер Джейсон Д., Ким
Джозеф Л., Уилсон Кевин Дж., Уилсон
Дуглас, Дипьетро Лусиан В. (US)**

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

(56) **WO-A1-2004009087
WO-A1-2009003136**

(57) Изобретение относится к соединениям общей формулы (I), которые представляют собой ингибиторы RET дикого типа и его устойчивых мутантов, фармацевтическим композициям, содержащим указанные соединения, и способам применения указанных соединений и композиций

**B1****038890****038890****B1**

Изобретение относится к ингибиторам RET, которые обладают активностью в отношении RET дикого типа и его устойчивых мутантов.

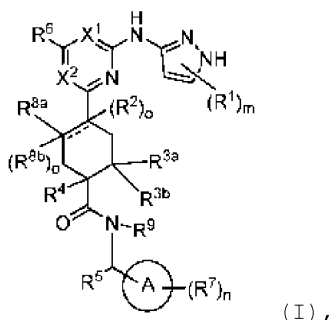
Уровень техники

RET (перестроенный в процессе трансфекции рецептор) представляет собой рецепторную тирозинкиназу, которая активирует множество нижележащих путей, задействованных в пролиферации и выживании клеток. Гибридные формы RET задействованы при нескольких раковых заболеваниях, включая папиллярную карциному щитовидной железы и немелкоклеточный рак легкого. Геномный анализ ландшафта гибридных киназ позволил выделить гибридные формы RET в образцах, полученных у пациентов с раком груди и толстой кишки, этим объясняется целесообразность терапевтического применения ингибиторов RET у многих подпопуляций пациентов.

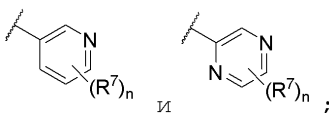
Выявление гибридных форм RET в качестве посредников при некоторых раковых заболеваниях сделало возможным применение одобренных мультикиназных ингибиторов, имеющих активность в отношении ингибирования RET, для лечения пациентов, в опухолях которых экспрессируется гибридный белок RET. Тем не менее, указанные лекарственные средства не всегда можно вводить в количестве, требуемом для достаточного ингибирования RET, вследствие токсичности, вызванной ингибированием мишеней, отличных от RET. Кроме того, одной из самых сложных проблем при лечении рака является способность опухолевых клеток приобретать устойчивость к терапии. Реактивация киназы в результате мутации является распространенным механизмом приобретения устойчивости. При возникновении устойчивости количество вариантов лечения пациента значительно сокращается, и в большинстве случаев рак прогрессирует бесконтрольно. Таким образом, существует необходимость в соединениях, которые ингибируют RET, а также его устойчивые мутанты.

Краткое описание

Изобретение относится к соединению, имеющему формулу (I)



или его фармацевтически приемлемой соли, где кольцо A выбрано из



каждый из X^1 и X^2 независимо выбран из N и C(R^6);

R^1 расположен в положении 5 и представляет собой C_1 - C_4 алкил, замещенный 0-3 R^a ;

R^7 представляет собой пиразол-1-ил, замещенный 0-3 R^a ;

R^2 выбран из водорода, гидроксила, галогена и C_1 - C_4 алкокси;

каждый из R^{3a} , R^{3b} , R^{8a} и R^{8b} независимо выбран из водорода и C_1 - C_4 алкила, замещенного 0-3 R^a ;

R^4 выбран из водорода, C_1 - C_4 алкила и C_1 - C_4 алкокси, где каждый алкильный фрагмент в R^4 замещен 0-3 R^a .

R^5 представляет собой водород или C_1 - C_4 алкил, замещенный 0-3 R^a ;

R^9 представляет собой водород;

каждый R^6 независимо выбран из водорода, галогена и C_1 - C_4 алкила, замещенного 0-3 R^a ;

каждый R^a независимо выбран из C_1 - C_6 алкила, галогена, гидроксила, C_1 - C_6 алкокси и циано;

== представляет собой простую или двойную связь;

m равен 1;

n равен 1; и

каждый o равен 0, если == представляет собой двойную связь; и

каждый o равен 1, если == представляет собой простую связь.

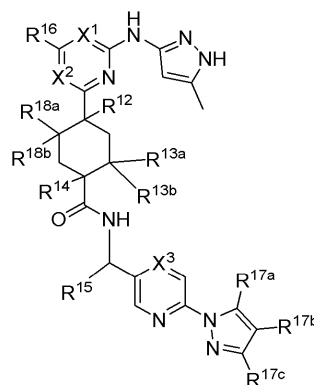
В предпочтительном варианте предложенного изобретения R^5 представляет собой водород или $-CH_3$.

В другом предпочтительном варианте предложенного изобретения R^4 выбирают из группы, состоящей из водорода, $-CH_3$, $-CH_2CH_3$, $-OCH_3$, и $-OCH_2CH_3$.

В другом предпочтительном варианте предложенного изобретения R^6 выбирают из группы, состоящей из водорода, хлора и $-CH_3$.

В другом предпочтительном варианте предложенного изобретения по меньшей мере одна пара R^{3a} и R^{3b} или R^{8a} и R^{8b} одновременно представляет собой водород.

Ещё одним объектом настоящего изобретения является соединение, имеющее формулу (II)



(II),

или его фармацевтически приемлемая соль, где

X^1 выбран из N, CH и C (галоген);

X^2 выбран из N и CH;

X^3 выбран из N и CH;

R^{12} выбран из водорода, гидроксила, галогена и O- C_1 - C_4 алкила; каждый из R^{13a} , R^{13b} , R^{18a} и R^{18b} независимо выбран из водорода и C_1 - C_4 алкила;

R^{14} выбран из водорода, $-C_1$ - C_4 алкила и $-O$ - C_1 - C_4 алкила; R^{15} выбран из водорода и $-C_1$ - C_4 алкила; R^{16} выбран из водорода и $-C_1$ - C_4 алкила; R^{17b} выбран из водорода и галогена; и каждый из R^{17a} и R^{17c} независимо выбран из водорода и C_1 - C_4 алкила.

В предпочтительном варианте предложенного изобретения X^1 выбран из N, CH и C(галоген).

В другом предпочтительном варианте предложенного изобретения R^{12} выбран из группы, состоящей из водорода, гидроксила, фтора и $-OCH_3$.

В другом предпочтительном варианте предложенного изобретения каждый из R^{13a} , R^{13b} , R^{18a} и R^{18b} независимо выбирают из группы, состоящей из водорода, метила и этила, где по меньшей мере одна пара R^{13a} и R^{13b} или R^{18a} и R^{18b} одновременно представляет собой водород.

В другом предпочтительном варианте предложенного изобретения R^{14} выбирают из группы, состоящей из водорода, $-CH_3$, $-CH_2CH_3$, $-OCH_3$ и $-OCH_2CH_3$.

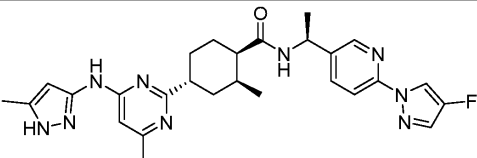
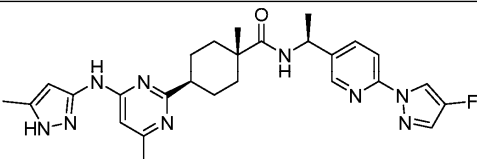
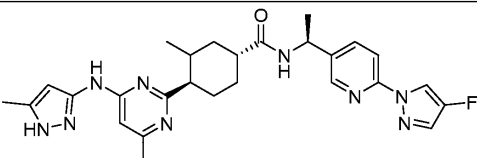
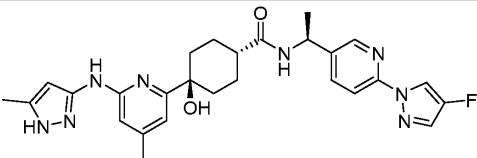
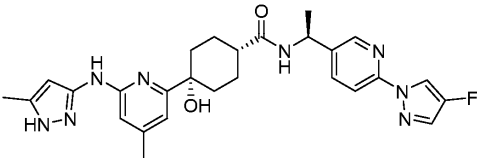
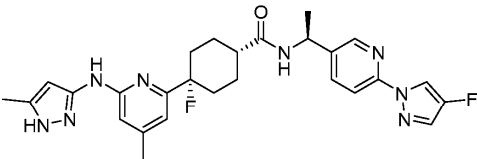
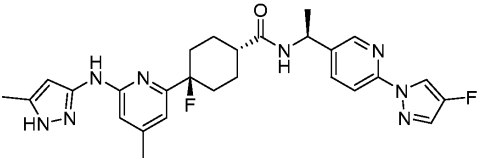
В другом предпочтительном варианте предложенного изобретения R^{15} выбирают из водорода и $-CH_3$.

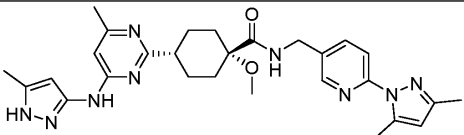
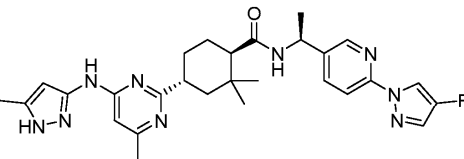
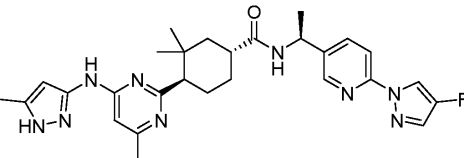
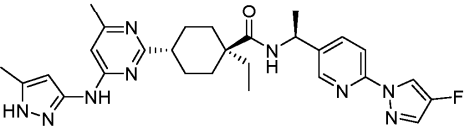
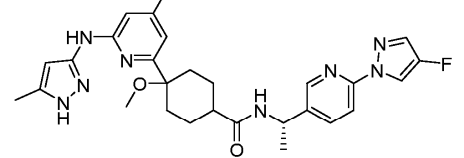
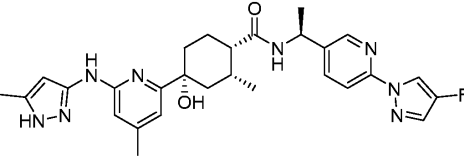
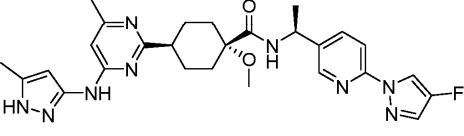
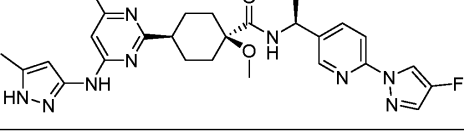
В другом предпочтительном варианте предложенного изобретения R^{16} выбирают из водорода и $-CH_3$.

Ещё одним объектом настоящего изобретения является соединение, выбранное из

Соединение	Структура
100	
101	

109	
110	
111	
112	
113	
114	
115	

116	
117	
118	
119	
120	
121	
122	

123	
124	
125	
126	
127	
128	
129	
130	

131	
132	
133	
134	
135	
136	
137	
138	
139	

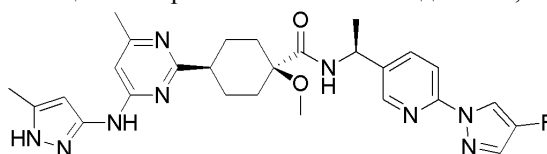
140	
141	
142	
143	
144	
145	
146	
147	
148	
149	
150	
151	

или его фармацевтически приемлемая соль.

Ещё одним объектом настоящего изобретения является фармацевтическая композиция, содержащая любое из указанных выше соединений настоящего изобретения или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель.

Ещё одним объектом настоящего изобретения является способ лечения субъекта, страдающего от заболевания, выбранного из немелкоклеточного рака легкого, папиллярной карциномы щитовидной железы, медуллярной карциномы щитовидной железы, колоректального рака и множественной эндокринной неоплазии, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества любого из указанных выше соединений настоящего изобретения или его фармацевтически приемлемой соли или указанной выше фармацевтической композиции.

Ещё одним объектом настоящего изобретения является соединение, выбранное из

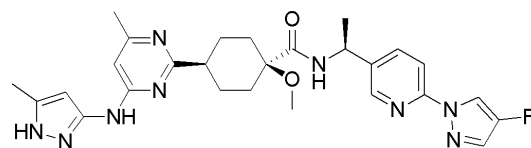


и его фармацевтически приемлемой соли.

Ещё одним объектом настоящего изобретения является фармацевтическая композиция, содержащая указанное выше соединение или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель.

Ещё одним объектом изобретения является лечение субъекта, страдающего от заболевания, выбранного из немелкоклеточного рака легкого, папиллярной карциномы щитовидной железы, медуллярной карциномы щитовидной железы, колоректального рака и множественной эндокринной неоплазии, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества указанного выше соединения или его фармацевтически приемлемой соли, или указанной выше фармацевтической композиции.

Ещё одним объектом настоящего изобретения является соединение



Ещё одним объектом настоящего изобретения является способ лечения рака, опосредованного RET гибридизацией или RET мутацией у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества указанного выше соединения или его фармацевтически приемлемой соли, или указанной выше фармацевтической композиции.

Варианты реализации изобретения

Определения.

При использовании в настоящем описании термины "пациент", "субъект", "индивидуум" и "хозяин" относятся к человеку или животному, отличному от человека, страдающему или предположительно страдающему от заболевания или нарушения, связанного с нарушением экспрессии или биологической активности RET (т.е. с увеличением активности RET, вызванным передачей сигнала посредством RET).

"Лечить" и "лечение" указанного заболевания или нарушения относятся к облегчению по меньшей мере одного симптома заболевания или нарушения. Указанные термины, если их используют в отношении состояния, такого как рак, относятся к одному или более из: сдерживания роста ракового образования, уменьшения массы или объема ракового образования, увеличения ожидаемого срока выживания пациента, подавления роста опухоли, уменьшения опухолевой массы, уменьшения размера или количества метастатических очагов, подавления развития новых метастатических очагов, продления выживаемости, продления выживаемости без прогрессирования, продления периода до прогрессирования и/или улучшения качества жизни.

Термин "терапевтический эффект" относится к благоприятному местному или системному эффекту у животных, в частности у млекопитающих и более конкретно у человека, вызванному введением соединения или композиции согласно настоящему изобретению. Фраза "терапевтически эффективное количество" обозначает такое количество соединения или композиции согласно настоящему изобретению, которое является эффективным для лечения заболевания или состояния, вызванного избыточной экспрессией RET или нарушением биологической активности RET, при приемлемом отношении польза/риск. Терапевтически эффективное количество данного вещества может быть различным в зависимости от субъекта и болезненного состояния, подвергающегося лечению, массы тела и возраста субъекта, тяжести болезненного состояния, способа введения и т.д. и может быть легко определено специалистом в данной области техники.

При использовании в настоящем описании "развитие устойчивости" означает, что при первона-

чалном введении лекарственного средства у пациента происходит улучшение симптомов, которое может быть измерено по уменьшению объема опухоли, уменьшению количества новых очагов или некоторыми другими средствами, по которым лечащий врач может судить о прогрессировании заболевания; тем не менее, улучшение указанных симптомов прекращается в некоторый момент времени, или они даже начинают ухудшаться. Можно сказать, что в этот момент времени у пациента развилась устойчивость к лекарственному средству.

"Алифатическая группа" обозначает линейную, разветвленную или циклическую углеводородную группу и включает насыщенные и ненасыщенные группы, такие как алкильная группа, алкенильная группа и алкинильная группа.

"Алкилен" относится к двухвалентному радикалу алкильной группы, например -CH₂-, -CH₂CH₂- и -CH₂CH₂CH₂-.

"Алкенил" обозначает алифатическую группу, содержащую по меньшей мере одну двойную связь.

"Алкоксил" или "алкокси" обозначает алкильную группу, содержащую присоединенный к ней радикал кислорода. Типовые алкоксильные группы включают метокси, этокси, пропилокси, трет-бутокси и т.д. Термин "галогеналкокси" относится к алкокси, в котором один или более атомов водорода заменены на галоген, и включает алкоксифрагменты, в которых все атомы водорода заменены на галоген (например, перфторалкокси).

"Алкил" относится к одновалентному радикалу насыщенного линейного или разветвленного углеводорода, такому как линейная или разветвленная группа, содержащая 1-12, 1-10 или 1-6 атомов углерода, называемому в настоящем описании C₁-C₁₂ алкилом, C₁-C₁₀ алкилом и C₁-C₆ алкилом соответственно. Типовые алкильные группы включают, но не ограничиваются ими, метил, этил, пропил, изопропил, 2-метил-1-пропил, 2-метил-2-пропил, 2-метил-1-бутил, 3-метил-1-бутил, 2-метил-3-бутил, 2,2-диметил-1-пропил, 2-метил-1-пентил, 3-метил-1-пентил, 4-метил-1-пентил, 2-метил-2-пентил, 3-метил-2-пентил, 4-метил-2-пентил, 2,2-диметил-1-бутил, 3,3-диметил-1-бутил, 2-этил-1-бутил, бутил, изобутил, трет-бутил, пентил, изопентил, неопентил, гексил, гептил, октил и т.д.

"Алкенилен" относится к алкенильной группе, имеющей две точки присоединения. Например, "этинилен" представляет собой группу -CH=CH-. Алкениленовые группы также могут существовать в незамещенной форме или форме, замещенной одним или более заместителями.

"Алкинил" относится к линейной или разветвленной углеводородной цепи, содержащей 2-12 атомов углерода и характеризующейся наличием одной или более тройных связей. Примеры алкинильных групп включают, но не ограничиваются ими, этинил, пропаргил и 3-гексирил. Один из атомов углерода при тройной связи может необязательно представлять собой точку присоединения алкинильного заместителя.

"Алкинилен" относится к алкинилу, имеющему две точки присоединения. Например, "этинилен" представляет собой группу -C≡C-. Алкиниленовые группы также могут существовать в незамещенной форме или форме, замещенной одним или более заместителями.

"Ароматическая система колец" является общеизвестным в данной области техники термином и относится к моноциклической, бициклической или полициклической системе углеводородных колец, где по меньшей мере одно кольцо является ароматическим.

"Арил" относится к одновалентному радикалу ароматической системы колец. Типовые арильные группы включают полностью ароматические системы колец, такие как фенил, нафтил и антраценил, и системы колец, где ароматическое углеродное кольцо конденсировано с одним или более неароматическими углеродными кольцами, такие как инданил, фталимидил, нафтимидил или тетрагидронафтил и т.д.

"Арилалкил" или "аралкил" относится к алкильному фрагменту, в котором атом водорода в алкиле заменен на арильную группу. Арилалкил включает группы, в которых более чем один атом водорода заменен на арильную группу. Примеры "арилалкила" или "аралкила" включают бензильную, 2-фенилэтильную, 3-фенилпропильную, 9-флуоренильную, бензгидрильную и тритильную группы.

"Арилокси" относится к -O-(арилу), где гетероарильный фрагмент такой, как определено в настоящем описании.

"Галоген" относится к радикалу любого галогена, например -F, -Cl, -Br или -I.

"Гетероалкил" относится к необязательно замещенному алкилу, в котором один или более основных атомов в цепи выбраны из атома, отличного от углерода, например кислорода, азота, серы, фосфора или их комбинаций. Может быть указан числовой диапазон, например C₁-C₆гетероалкил, который описывает количество атомов углерода в цепи, которая в указанном примере включает от 1 до 6 атомов углерода. Например, радикал -CH₂OCH₂CH₃ может быть описан как "C₃" гетероалкил. Присоединение к остатку молекулы может происходить по гетероатому или атому углерода гетероалкильной цепи. "Гетероалкилен" относится к двухвалентному необязательно замещенному алкилу, в котором один или более основных атомов в цепи выбраны из атома, отличного от углерода, например кислорода, азота, серы, фосфора или их комбинаций.

"Карбоциклическая система колец" относится к моноциклической, бициклической или полициклической системе углеводородных колец, где каждое кольцо может быть полностью насыщенным или содержит один или более ненасыщенных участков, но ни одно из колец не является ароматическим.

"Карбоциклил" относится к одновалентному радикалу карбоциклической системы колец. Типовые карбоцикличные группы включают циклоалкильные группы (например, циклопропил, циклобутил, цикlopентил, циклогексил и т.д.) и циклоалкенильные группы (например, цикlopентенил, циклогексенил, цикlopентадиенил и т.д.).

"Циклоалкил" относится к циклическим, бициклическим, трициклическим или полициклическим неароматическим углеводородным группам, содержащим от 3 до 12 атомов углерода. Любой атом в кольце, который может содержать заместители, может быть замещен (например, одним или более заместителями). Циклоалкильные группы могут содержать конденсированные или спиро-кольца.

Конденсированные кольца представляют собой кольца, которые содержат общий атом углерода. Примеры циклоалкильных фрагментов включают, но не ограничиваются ими, циклопропил, циклогексил, метилциклогексил, адамантил и норборнил.

"Циклоалкилалкил" относится к радикалу -(циклоалкил)алкил, где циклоалкил и алкил такие, как описано в настоящем документе. "Циклоалкилалкил" связан со структурой исходной молекулы через цикло алкильную группу.

"Гетероароматическая система колец" является общеизвестным в данной области техники термином и относится к моноциклической, бициклической или полициклической системе колец, где по меньшей мере одно кольцо является ароматическим и содержит по меньшей мере один гетероатом (например, N, O или S); и ни одно из других колец не представляет собой гетероциклил (такой как определено ниже). В определенных случаях кольцо, которое является ароматическим и содержит гетероатом, содержит 1, 2, 3 или 4 гетероатома в кольце.

"Гетероарил" относится к одновалентному радикалу гетероароматической системы колец. Типовые гетероарильные группы включают системы колец, где (i) каждое кольцо содержит гетероатом и является ароматическим, например имидазолил, оксазолил, тиазолил, триазолил, пирролил, фуранил, тиофенил, пиразолил, пиридинил, пиазинил, пиридазинил, пиримидинил, индолизинил, пуринил, нафтиридинил и птеридинил; (ii) каждое кольцо является ароматическим или карбоциклическим, по меньшей мере одно ароматическое кольцо содержит гетероатом, и по меньшей мере одно другое кольцо представляет собой углеводородное кольцо, например индолил, изоиндолил, бензотиенил, бензофуранил, дибензофуранил, индазолил, бензимидазолил, бензотиазолил, хинолил, изохинолил, циннолинил, фталазинил, хиназолинил, хиноксалинил, карбазолил, акридинил, феназинил, фенотиазинил, феноксазинил, пиридо[2,3-b]-1,4-оксазин-3-(4H)-он, 5,6,7,8-тетрагидрохинолинил и 5,6,7,8-тетрагидроизохинолинил; и (iii) каждое кольцо является ароматическим или карбоциклическим, и по меньшей мере одно ароматическое кольцо имеет общий мостиковый гетероатом с другим ароматическим кольцом, например 4H-хинолизинил.

"Гетероциклическая система колец" относится к моноциклической, бициклической или полициклической системе колец, где по меньшей мере одно кольцо является насыщенным или частично ненасыщенным (но не ароматическим) и содержит по меньшей мере один гетероатом. Гетероциклическая система колец может быть присоединена к соседней группе через любой гетероатом или атом углерода с образованием стабильной структуры, и любой из атомов в кольце может быть необязательно замещен.

"Гетероциклил" относится к одновалентному радикалу гетероциклической системы колец. Типовые гетероциклилы включают системы колец, в которых: (i) каждое кольцо является неароматическим, и по меньшей мере одно кольцо содержит гетероатом, например тетрагидрофуранил, тетрагидропиранил, тетрагидротиенил, пирролидинил, пирролидонил, пиперидинил, пирролинил, декагидрохинолинил, оксазолидинил, пиперазинил, диоксанил, диоксоланил, диазепинил, оксазепинил, тиазепинил, морфолинил и хинуклидинил; (ii) по меньшей мере одно кольцо является неароматическим и содержит гетероатом, и по меньшей мере одно другое кольцо представляет собой ароматическое углеродное кольцо, например 1,2,3,4-тетрагидрохинолинил, 1,2,3,4-тетрагидроизохинолинил; и (iii) по меньшей мере одно кольцо является неароматическим и содержит гетероатом, и по меньшей мере одно другое кольцо является ароматическим и содержит гетероатом, например 3,4-дигидро-1H-пирано[4,3-c]пиридин и 1,2,3,4-тетрагидро-2,6-нафтиридин.

"Гетероциклилалкил" относится к алкильной группе, замещенной гетероциклической группой.

"Циано" относится к радикалу -CN.

"Нитро" относится к -NO₂.

"Гидроксид" или "гидроксил" относится к -OH.

Предполагается, что при использовании в настоящем описании определение каждого выражения, например алкила, m, n и т.д., если оно встречается более одного раза в какой-либо структуре, не зависит от определения того же выражения, приведенного для любой другой части той же структуры.

Соединение можно применять в виде свободного основания или соли. Типовые соли включают гидробромидные, гидрохлоридные, сульфатные, бисульфатные, фосфатные, нитратные, ацетатные, валератные, олеатные, пальмитатные, стеаратные, лауратные, бензоатные, лактатные, фосфатные, тозилатные, цитратные, малеатные, фумаратные, сукцинатные, тартратные, нафтиллатные, мезилатные, глюконо-гептонатные, лактобионатные и лаурилсульфонатные соли и т.д. (См., например, Berge et al. (1977) "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci. 66:1-19.)

Согласно настоящему описанию соединения согласно настоящему изобретению могут содержать

"необязательно замещенные" фрагменты.

В целом, термин "замещенный", который может использоваться совместно с предшествующим термином "необязательно" или без него, означает, что один или более атомов водорода в указанном фрагменте заменены на подходящий заместитель. Если не указано иное, "необязательно замещенная" группа может содержать подходящий заместитель при каждом положении группы, которое может содержать заместитель, и если более одного положения в любой данной структуре могут быть замещены более чем одним заместителем, выбранным из конкретной группы, то заместители могут быть одинаковыми или различными при каждом положении. Комбинации заместителей, предусмотренных настоящим изобретением, предпочтительно являются таковыми, которые приводят к образованию стабильных или химически возможных соединений. Термин "стабильный" при использовании в настоящем описании относится к соединениям, которые существенно не изменяются при обработке в условиях их получения, обнаружения и в определенных вариантах реализации из выделения, очистки и применения для одной или более задач, описанных в настоящем документе.

Подходящие заместители необязательно замещенной алкильной, алкиленовой, гетероалкильной, гетероалкиленовой, карбоциклической, гетероциклической, арильной группы и гетероарильной группы включают галоген, =O, -CN, -OR^c, -NR^dR^e, -S(O)_kR^c, -NR^cS(O)₂R^c, -S(O)₂NR^dR^e, -C(=O)OR^c, -OC(=O)OR^c, -OC(=O)R^c, -OC(=S)OR^c, -C(=S)OR^c, -O(C=S)R^c, -C(=O)NR^dR^e, -NR^cC(=O)R^c, -C(=S)NR^dR^e, -NR^cC(=S)R^c, -NR^c(C=O)OR^c, -O(C=O)NR^dR^e, -NR^c(C=S)OR^c, -O(C=S)NR^dR^e, -NR^c(C=O)NR^dR^e, NR^c(C=S)NR^dR^e, -C(=S)R^c, -C(=O)R^c, C₁-C₆алкил, C₁-C₆галогеналкил, C₁-C₆гетероалкил, карбоцикл, (C₁-C₆-алкилен)карбоцикл, (C₁-C₆-гетероалкилен)карбоцикл, гетероцикл, (C₁-C₆-алкилен)гетероцикл, (C₁-C₆-гетероалкилен)гетероцикл, арил, (C₁-C₆-алкилен)арил, (C₁-C₆-гетероалкилен)арил, гетероарил, (C₁-C₆-алкилен)гетероарил или (C₁-C₆-гетероалкилен)гетероарил, где каждый из указанного алкила, алкилена, гетероалкила, гетероалкилена, карбоцикла, гетероцикла, арила и гетероарила необязательно замещен одним или более атомами галогенов, OR^c, -NO₂, -CN, NR^cC(=O)R^c, -NR^dR^e, -S(O)_kR^c, -C(=O)OR^c, -C(=O)NR^dR^e, -C(=O)R^c, C₁-C₆алкилами, C₁-C₆галогеналкилами или C₁-C₆гетероалкилами, и R^c представляет собой водород, гидроксиль, C₁-C₆алкил, C₁-C₆гетероалкил, карбоцикл, (C₁-C₆-алкилен)карбоцикл, (C₁-C₆-гетероалкилен)карбоцикл, гетероцикл, (C₁-C₆-алкилен)гетероцикл, (C₁-C₆-гетероалкилен)гетероцикл, арил, (C₁-C₆-алкилен)арил, (C₁-C₆-гетероалкилен)арил, гетероарил, (C₁-C₆-алкилен)гетероарил или (C₁-C₆-гетероалкилен)гетероарил, каждый из которых необязательно замещен одним или более атомами галогенов, гидроксиль, C₁-C₆алкилами, C₁-C₆галогеналкилами, C₁-C₆гетероалкилами, карбоциклами, гетероциклами, арилами или гетероарилами; каждый R^d и R^e независимо выбран из водорода, C₁-C₆алкила или C₁-C₆гетероалкила; и k равен 0, 1 или 2. Изобретение не ограничено каким-либо образом приведенным выше списком типовых заместителей.

Таблица 1. Типовые соединения согласно изобретению

Соединение	Структура
100	
101	
102	
103	

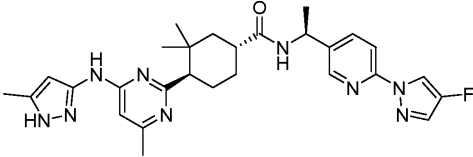
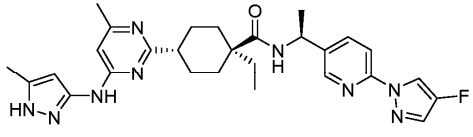
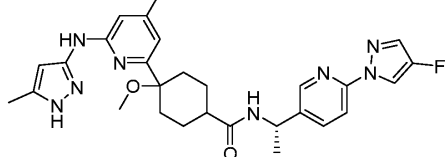
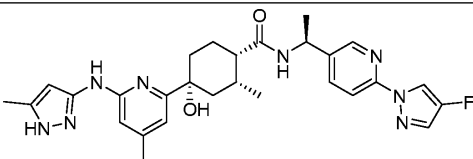
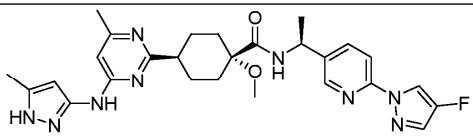
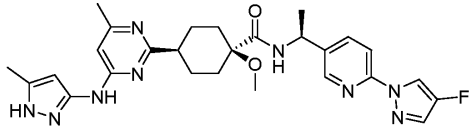
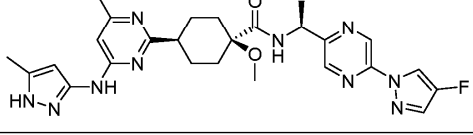
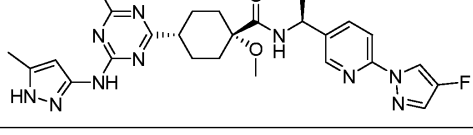
038890

104	
105	
106	
107	
108	
109	
110	

038890

111	
112	
113	
114	
115	
116	
117	

118	
119	
120	
121	
122	
123	
124	

125	
126	
127	
128	
129	
130	
131	
132	

133	
134	
135	
136	
137	
138	
139	
140	
141	

142	
143	
144	
145	
146	
147	
148	
149	
150	
151	

Применение фармацевтически приемлемых солей указанных соединений также включено в настоящее описание.

"Фармацевтически приемлемая соль" относится к любой соли соединения согласно настоящему изобретению, которая сохраняет его биологические свойства и не является токсичной или нежелательной для фармацевтического применения по иным причинам. Фармацевтически приемлемые соли могут быть получены из различных органических и неорганических противоионов, хорошо известных в данной области техники. Указанные соли включают: (1) соли присоединения кислоты, полученные из неорганических или органических кислот, таких как хлороводородная, бромоводородная, серная, азотная, фосфорная, сульфаминовая, уксусная, трифторуксусная, трихлоруксусная, пропановая, гексановая, циклопентилпропановая, гликолевая, глутаровая, виноградная, молочная, малоновая, янтарная, сорбиновая, аскор-

биновая, яблочная, малеиновая, фумаровая, винная, лимонная, бензойная, 3-(4-гидроксibenзо-ил)бензойная, пикриновая, коричная, миндальная, фталевая, лауриновая, метансульфокислота, этансульфокислота, 1,2-этандисульфокислота, 2-гидроксиэтансульфокислота, бензолсульфокислота, 4-хлорбензолсульфокислота, 2-нафталинсульфокислота, 4-толуолсульфокислота, камфорная, камфорсульфокислота, 4-метилбицикло[2.2.2]окт-2-ен-1-карбоновая, глюкогептоновая, 3-фенилпропановая, триметилуксусная, трет-бутилуксусная, лаурилсерная, глюконовая, бензойная, глутаминовая, гидроксинафтойная, салициловая, стеариновая, циклогексилсульфаминовая, хинная, муконовая кислота и схожие кислоты; или (2) соли, полученные, если протон, содержащийся в исходном соединении, (а) заменен на ион металла, например ион щелочного металла, ион щелочно-земельного металла или ион алюминия или гидроксид щелочного металла или щелочно-земельного металла, такой как гидроксид натрия, калия, кальция, магния, алюминия, лития, цинка или аммония, или (b) образует координационный комплекс с органическим основанием, таким как алифатические, алициклические или ароматические органические амины, такие как гидроксид аммония, метиламин, диметиламин, диэтиламин, пиколин, этаноламин, диэтанолламин, триэтанолламин, этилендиамин, лизин, аргинин, орнитин, холин, N,N'-дибензилэтилендиамин, хлорпрокаин, диэтанолламин, прокаин, N-бензилфенэтиламин, N-метилглюкамин, пиперазин, трис(гидроксиметил)аминометан, гидроксид тетраметиламмония и т.д. Фармацевтически приемлемые соли дополнительно включают исключительно в качестве примера натрий, калий, кальций, магний, аммоний, тетраалкиламмоний и т.д.; и если соединение содержит основную функциональную группу, они включают соли нетоксичных органических или неорганических кислот, такие как гидрохлорид, гидробромид, тартрат, мезилат, бензилат, ацетат, малеат, оксалат и т.д.

Фармацевтические композиции.

Фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению содержат одно или более соединений согласно настоящему изобретению и один или более физиологически или фармацевтически приемлемых носителей. Термин "фармацевтически приемлемый носитель" относится к фармацевтически приемлемому материалу, композиции или наполнителю, такому как жидкий или твердый наполнитель, разбавитель, вспомогательное вещество, растворитель или инкапсулирующий материал, задействованный при доставке или транспорте какой-либо данной композиции или ее компонента. Каждый носитель должен быть "приемлемым" в смысле совместимости с данной композицией и ее компонентами и безвредности для пациента. Некоторые примеры материалов, которые можно применять в качестве фармацевтически приемлемых носителей, включают: (1) сахара, такие как лактоза, глюкоза и сахароза; (2) крахмалы, такие как кукурузный крахмал и картофельный крахмал; (3) целлюлозу и ее производные, такие как карбоксиметилцеллюлоза натрия, этилцеллюлоза и ацетат целлюлозы; (4) порошковый трагакант; (5) солод; (6) желатин; (7) тальк; (8) вспомогательные вещества, такие как масло какао и воски для суппозитория; (9) масла, такие как арахисовое масло, хлопковое масло, сафлоровое масло, кунжутное масло, оливковое масло, кукурузное масло и соевое масло; (10) гликоли, такие как пропиленгликоль; (11) полиолы, такие как глицерин, сорбит, маннит и полиэтиленгликоль; (12) сложные эфиры, такие как этилолеат и этиллаурат; (13) агар; (14) буферные агенты, такие как гидроксид магния и гидроксид алюминия; (15) альгиновую кислоту; (16) апиогенную воду; (17) изотонический солевой раствор; (18) раствор Рингера; (19) этиловый спирт; (20) фосфатные буферные растворы; и (21) другие нетоксичные совместимые вещества, применяемые в фармацевтических препаратах.

Композиции согласно настоящему изобретению можно вводить перорально, парентерально, путем ингаляции распылением, местно, ректально, интраназально, трансбуккально, внутривагинально или при помощи имплантируемого резервуара. Термин "парентеральный" при использовании в настоящем описании включает техники подкожной, внутривенной, внутримышечной, внутрисуставной, интрасиновиальной, внутригрудной, интратекальной, внутрипеченочной, внутриочаговой и интракраниальной инъекции или инфузии. В некоторых вариантах реализации композиции согласно настоящему изобретению вводят перорально, интраперитонеально или внутривенно. Стерильные инъекционные формы композиций согласно настоящему изобретению могут представлять собой водную или масляную суспензию. Указанные суспензии можно получать согласно способам, известным в данной области техники, с использованием подходящих диспергирующих агентов или увлажнителей и суспендирующих агентов. Стерильный инъекционный препарат также может представлять собой стерильный инъекционный раствор или суспензию в нетоксичном парентерально приемлемом разбавителе или растворителе, например раствор в 1,3-бутандиоле. В число приемлемых наполнителей и растворителей, которые можно применять, входят вода, раствор Рингера и изотонический раствор хлорида натрия. Кроме того, обычно в качестве растворителя или суспензионной среды применяют стерильные нелетучие масла.

Для этого можно применять любые мягкие нелетучие масла, включая синтетические моно- или диглицериды. Жирные кислоты, такие как олеиновая кислота и ее глицеридные производные, подходят для получения инъекционных препаратов, как и природные фармацевтически приемлемые масла, такие как оливковое масло или касторовое масло, особенно в полиоксиэтилированных формах. Указанные масляные растворы или суспензии также могут содержать длинноцепочечный спирт в качестве разбавителя или диспергирующего агента, такой как карбоксиметилцеллюлоза, или схожие диспергирующие агенты, которые традиционно применяют для получения фармацевтически приемлемых лекарственных

форм, включая эмульсии и суспензии. Другие часто применяемые поверхностно-активные вещества, такие как Tween, Span и другие эмульгаторы или усилители биодоступности, которые обычно используют для получения фармацевтически приемлемых твердых, жидких или других лекарственных форм, также можно применять для получения состава.

Фармацевтически приемлемые композиции согласно настоящему изобретению можно вводить перорально в любой перорально приемлемой лекарственной форме, включая, но не ограничиваясь ими, капсулы, таблетки, водные суспензии или растворы. В случае таблеток для перорального применения традиционно используемые носители включают лактозу и кукурузный крахмал. Также, как правило, добавляют смазывающие агенты, такие как стеарат магния. Для перорального введения в виде капсул подходящие разбавители включают лактозу и высушенный кукурузный крахмал. Если требуется пероральное применение водных суспензий, то активный ингредиент объединяют с эмульгатором и суспендирующим агентом. При желании также можно добавлять определенные подсластители, вкусоароматические добавки или красители.

В качестве альтернативы фармацевтически приемлемые композиции согласно настоящему изобретению можно вводить в виде суппозитория для ректального введения. Их можно получать путем смешения агента с подходящим нераздражающим вспомогательным веществом, которое является твердым при комнатной температуре, но жидким при температуре в прямой кишке, и, таким образом, плавится в прямой кишке, высвобождая лекарственное средство. Указанные материалы включают масло какао, пчелиный воск и полиэтиленгликоли.

Фармацевтически приемлемые композиции согласно изобретению также можно вводить местно, в частности если мишень при лечении включает участки или органы, легко доступные при местном нанесении, включая заболевания глаз, кожи или нижних отделов кишечника. Подходящие местные составы можно легко получать для каждого из указанных участков или органов. Местное введение в нижние отделы кишечника можно проводить с применением состава в виде ректального суппозитория (см. выше) или подходящего состава в виде клизмы. Также можно применять местные чрескожные пластыри.

В случае местного применения фармацевтически приемлемые композиции можно получать в виде подходящей мази, содержащей активный компонент, суспендированный или растворенный в одном или более носителях. Носители для местного введения соединений согласно настоящему изобретению включают, но не ограничиваются ими, минеральное масло, жидкий вазелин, белый вазелин, пропиленгликоль, полиоксиэтилен, полиоксипропиленовое соединение, эмульгирующий воск и воду. В качестве альтернативы фармацевтически приемлемые композиции могут быть получены в виде подходящего лосьона или крема, содержащего активные компоненты, суспендированные или растворенные в одном или более фармацевтически приемлемых носителях. Подходящие носители включают, но не ограничиваются ими, минеральное масло, сорбитана моностеарат, полисорбат 60, сложноэфирный цетиловый воск, цетеариловый спирт, 2-октилдодеканол, бензиловый спирт и воду.

Фармацевтически приемлемые композиции согласно настоящему изобретению также можно вводить в виде интраназального аэрозоля или ингалируемого препарата. Указанные композиции получают согласно способам, хорошо известным в области получения фармацевтических составов, в виде растворов в солевом растворе, с применением бензилового спирта или других подходящих консервантов, ускорителей всасывания для увеличения биодоступности, фторуглеродов и/или других традиционных агентов, увеличивающих растворимость, или диспергирующих агентов.

Количество соединений согласно настоящему изобретению, которые можно объединять с материалами-носителями для получения лекарственной формы с однократной дозировкой композиции, может быть различным в зависимости от хозяина, которого лечат, конкретного способа введения.

Дозировки.

Токсичность и терапевтическая эффективность соединений согласно настоящему изобретению, включая их фармацевтически приемлемые соли и дейтерированные формы, могут быть определены стандартными фармацевтическими способами в клеточных культурах или на экспериментальных животных. LD₅₀ представляет собой дозу, вызывающую гибель 50% популяции. ED₅₀ представляет собой дозу, которая является терапевтически эффективной для 50% популяции. Отношение доз, вызывающих токсические и терапевтические эффекты (LD₅₀/ED₅₀), представляет собой терапевтический индекс. Соединения, имеющие высокие значения терапевтического индекса, являются предпочтительными. Можно применять соединения, которые имеют токсические побочные эффекты, тем не менее, необходимо тщательно подходить к разработке системы доставки, которая направляет указанные соединения к участку в пораженной ткани, для минимизации возможного повреждения неинфицированных клеток и, таким образом, уменьшения побочных эффектов.

Данные, полученные при анализе клеточных культур или исследованиях на животных, можно использовать при определении диапазона доз для применения у человека. Дозировка указанных соединений может находиться в пределах концентрации в кровотоке, включая ED₅₀ с пониженной токсичностью или без нее. Дозировка может меняться в этом диапазоне в зависимости от используемой лекарственной формы и применяемого способа введения. Для любого соединения начальную оценку терапевтически эффективной дозы можно проводить в исследовании клеточных культур. В животных моделях можно

получать дозу, которая обеспечивает диапазон концентраций в плазме, включающий значение IC_{50} (т.е. концентрацию исследуемого соединения, которая обеспечивает полумаксимальное подавление симптомов), определенное на клеточной культуре. Эту информацию можно применять для более точного определения подходящих доз для человека. Концентрацию в плазме можно измерять, например, путем высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Также следует понимать, что конкретная дозировка и режим лечения конкретного пациента могут зависеть от ряда факторов, включая активность конкретного применяемого соединения, возраст, массу тела, общее состояние здоровья, пол, рацион, время введения, скорость выведения, комбинацию лекарственных средств и выбор лечащего врача и тяжесть конкретного заболевания, подвергающегося лечению. Количество соединения согласно настоящему изобретению в композиции также может зависеть от конкретного соединения, применяемого в композиции.

Способ лечения.

Гибридные формы RET задействованы при нескольких типах раковых заболеваний. В общем случае указанные гибридные формы RET имеют киназный домен RET, который является таким же, что и в RET дикого типа; таким образом, при использовании в настоящем описании любой белок RET, имеющий такой же киназный домен, что и RET дикого типа, называют "RET дикого типа". В киназном домене RET могут возникать мутации, что приводит к появлению устойчивых мутантов RET.

Активность типовых соединений, которые одобрены для применения в отношении состояний, связанных с RET, или находятся на стадии разработки, показана ниже. Как показано, соединения обладают активностью в отношении RET дикого типа, но являются значительно менее активными в отношении мутировавших форм

Соединение	RET WT Биохимия IC_{50} (нМ)	RET V804L Биохимия IC_{50} (нМ)
Кабозантиниб	11	45
Вандетаниб	4	3597
Сорафениб	7,9	95,2
Регорафениб	12	53

В изобретении предложены соединения, которые ингибируют RET дикого типа и мутанты RET, например мутанты RET, устойчивые к существующим стандартам лечения ("устойчивые мутанты RET"). Кроме того, соединения согласно настоящему изобретению могут быть селективными в отношении RET дикого типа по сравнению с другими киназами, что, таким образом, обеспечивает уменьшение токсичности, связанной с ингибированием других киназ.

Мутации можно предсказывать при помощи структурных биологических и вычислительных анализов, а также путем изучения последовательностей кодона, где изменение последовательности приводит к появлению кодона для другой аминокислоты. При помощи указанных способов было предсказано, что устойчивые мутанты RET имеют точечные мутации в остатке-привратнике 804 в белке RET и/или в остатках, расположенных при остатке-привратнике или рядом с ним. В некоторых вариантах реализации мутация может находиться в одном или более из остатков 804, 806, 810, 865, 870, 891 и 918. Конкретные примеры устойчивых мутантов RET включают: мутанты V804L, V804M, V804E, Y806C, Y806S, Y806H, Y806N, G810R, G810S, L865V, L870F, S891A и M918T.

Мутации, возникающие при введении конкретного ингибитора (например, известного ингибитора RET дикого типа), могут быть определены экспериментально путем воздействия на клетки агентом, стимулирующим мутации, таким как ENU. Клетки промывают, затем помещают в планшеты с увеличивающимися концентрациями (2-100X IC_{50} в отношении пролиферации) выбранного соединения. Затем через 3-4 недели собирают содержимое лунок, в которых происходит рост клеток. Затем секвенируют киназный домен RET для идентификации устойчивых мутаций (т.е. измененных форм белка RET, которые сохранили ферментную активность). Устойчивость может быть подтверждена путем воздействия на указанные клетки выбранным соединением. Устойчивые мутанты, которые были выявлены экспериментально, включают мутанты V804L, V804E, V804M и Y806H.

Благодаря активности в отношении RET дикого типа и мутантного RET, соединения, описанные в настоящем документе, можно применять для лечения пациента, имеющего состояние, связанное с нарушением активности RET. Их также можно применять для лечения различных раковых заболеваний. В некоторых вариантах реализации рак выбран из папиллярной карциномы щитовидной железы (ПТС), медуллярной карциномы щитовидной железы (МТС), феохромоцитомы (ФС), протоковой аденокарциномы поджелудочной железы, множественной эндокринной неоплазии (MEN2A и MEN2B), метастатического рака молочной железы, рака яичек, мелкоклеточного рака легкого, немелкоклеточного рака легкого, хронического миеломоноцитарного лейкоза, колоректального рака, рака яичников и раковых заболеваний слюнных желез.

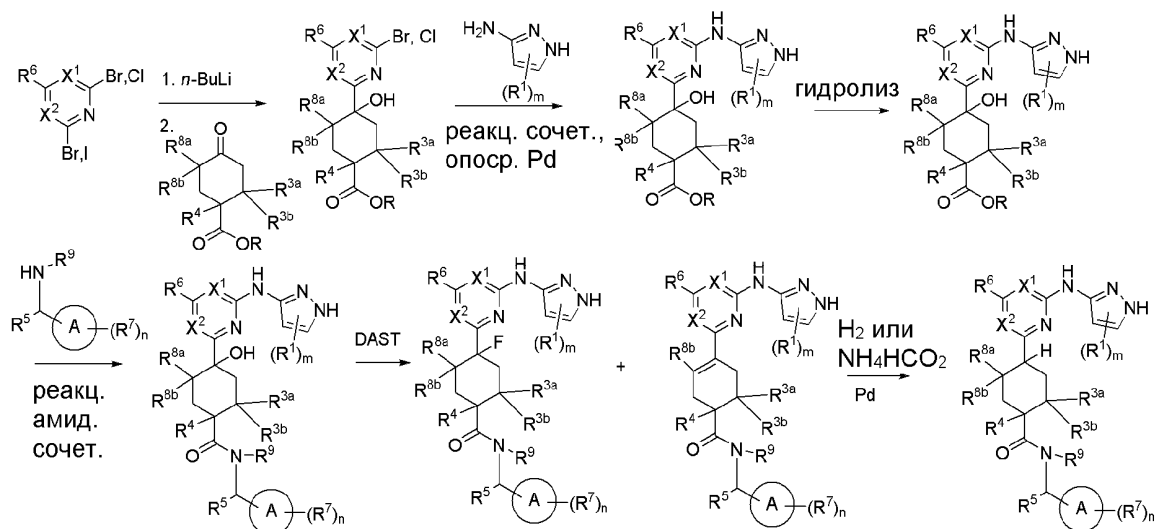
Соединения также можно применять для лечения пациента, у которого развилась устойчивость к ингибитору RET дикого типа, или пациента, имеющего конкретный мутант RET. Способ включает стадию введения соединения или композиции согласно настоящему изобретению, которое(ая) является активным(ой) в отношении одного или более устойчивых мутантов RET. В определенных вариантах реализации устойчивый мутант RET выбран из V804L, V804M, V804E, Y806C, Y806S, Y806N, Y806H, G810R, G810S, L865V, L870F, S891A и M918T. Под "активным" понимают соединение, которое имеет IC_{50} менее 1 мкМ, 500, 250, 100, 75, 50, 25, 10 или 5 нМ в отношении по меньшей мере одного устойчивого мутанта при измерении в биохимическом исследовании.

Примеры

Предполагается, что последующие примеры являются иллюстративными и не ограничивают изобретение каким-либо образом.

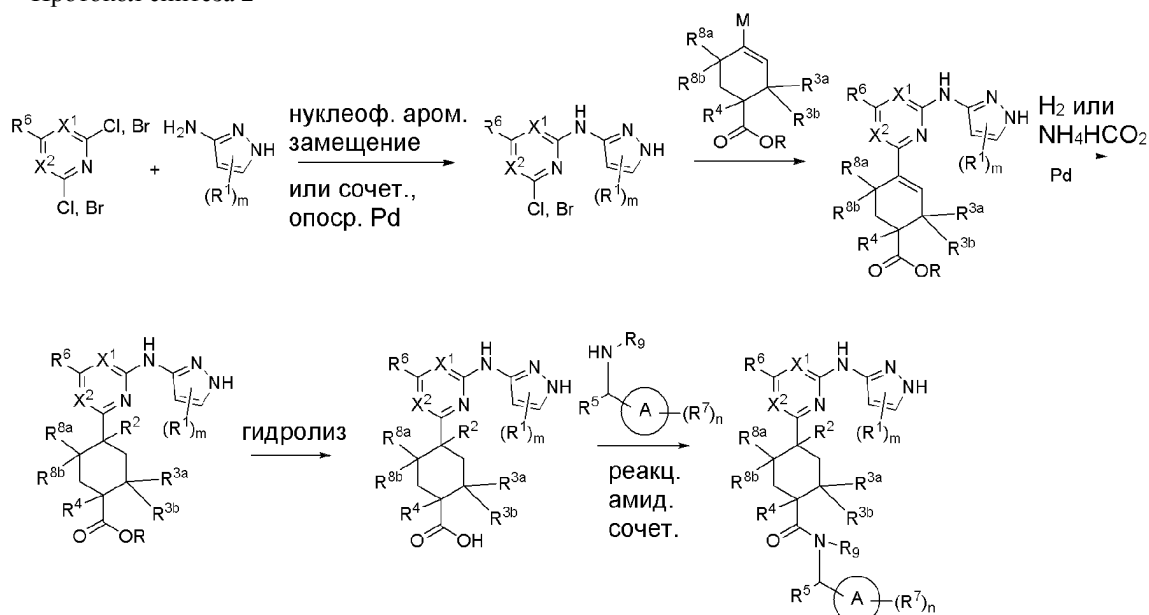
Соединения изобретения, включая их соли, можно получать при помощи известных техник органического синтеза и синтезировать согласно любому из многочисленных возможных способов синтеза, таких как те, что приведены ниже в протоколах синтеза и примерах. Предполагается, что ниже на схемах приведены общие указания по получению соединений согласно настоящему изобретению. Специалисту в данной области техники должно быть понятно, что примеры получения, показанные на схемах, можно модифицировать или оптимизировать в рамках общих знаний в органической химии для получения различных соединений согласно настоящему изобретению.

Протокол синтеза 1



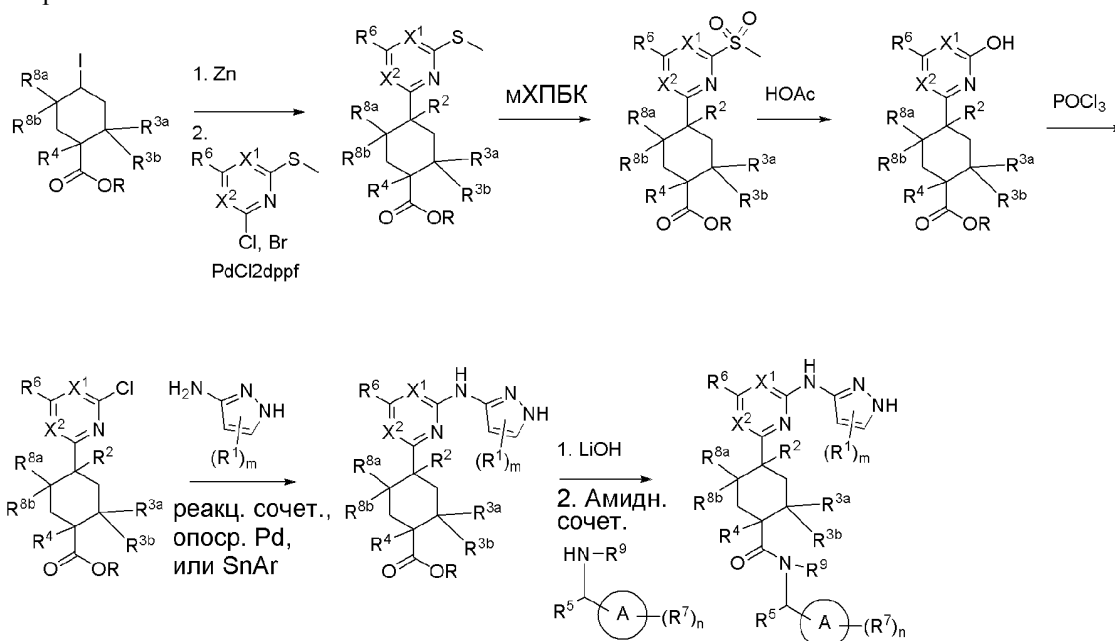
Можно проводить обработку арилдигалогенида литийорганическим или магнийорганическим галогенидным реагентом, таким как $n\text{-BuLi}$ или $i\text{-PrMgCl}$, и затем можно присоединять арилметаллический реагент к циклогексанону, замещенному сложным эфиром (доступному из коммерческих источников или полученному согласно описанию "синтеза промежуточных кетонов и боронатов"). Затем можно проводить реакцию сочетания по оставшемуся галогениду с ариламином в условиях $SnAr$ или условиях сочетания, катализируемого металлом, для получения промежуточного трициклического сложного эфира. Затем можно проводить гидролиз сложного эфира в основных условиях для получения кислоты, которую затем можно использовать в реакции амидного сочетания с амином (который может быть коммерчески доступным или получен согласно описанию "синтеза промежуточных аминов"). Амиды являются примерами ингибиторов RET, описанных в настоящем документе, но также могут быть дополнительно модифицированы. Например, можно обрабатывать третичный спирт фторирующим агентом, таким как DAST, для получения смеси деоксифторированных продуктов и дегидратированных продуктов. Дегидратированные продукты можно восстанавливать в типовых условиях гидрирования, таких как Pd и H_2 или Pd и формиат аммония, для получения восстановленных продуктов, которые также являются примерами ингибиторов RET.

Протокол синтеза 2



Можно проводить сочетание гетероарилдигалогенида с аминопиразолом в условиях реакции нуклеофильного ароматического замещения с использованием основания, такого как диизопропилэтиламин (DIPEA) или триэтиламин (ТЭА), в полярном растворителе для получения бициклической системы колец. Затем можно проводить сочетание бициклического гетероарилгалогенида с бор-, олово- или цинк-алкенильным или алкильным реагентом по реакции сочетания, опосредованной палладием, например, реакции сочетания по Сузуки, Стилле, Нэгиси, для получения трициклической системы колец. Например, в протоколе синтеза 2 можно проводить сочетание бициклического гетероарилгалогенида с различными циклогексенилбороновыми сложными эфирами, замещенными сложными эфирами (которые являются коммерчески доступными или описаны под заголовком "Синтез винилборонатов"), в условиях реакции сочетания по Сузуки (X =галоген, например, хлор; и $M=B(OR)_2$) для получения промежуточного трициклического сложного эфира карбоновой кислоты. Затем можно проводить гидролиз сложного эфира карбоновой кислоты в кислотных или основных условиях для получения промежуточной карбоновой кислоты. Затем можно проводить сочетание промежуточной карбоновой кислоты с различными промежуточными аминами, такими как описано в примере 9, для получения конечного амидного продукта.

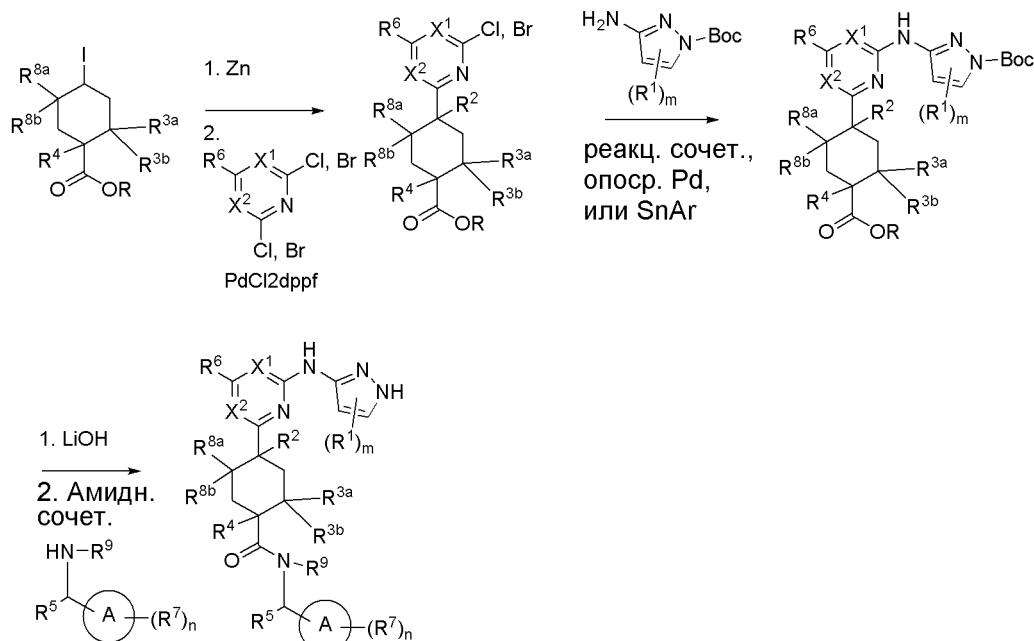
Протокол синтеза 3



Замещенный циклоалкилиодид (который является коммерчески доступным или получен согласно описанию "синтеза промежуточных йодидов") обрабатывали активированным цинком. Затем проводили активацию цинка различными способами, включая, но не ограничиваясь ими, способ Рике или обработку TMS-Cl и 1,2-дибромэтанолом. Затем можно проводить сочетание циклоалкилцинкового реагента с гете-

роарилгалогенидом с использованием палладиевых катализаторов в условиях сочетания по Нэгиси. Затем тиометилую группу полученного продукта можно превращать в хлорид путем окисления до сульфона, гидролиза в кислотных условиях и хлорирования POCl_3 или хлорангидридом щавелевой кислоты. Затем можно проводить реакцию замещения в гетероарилхлориде на ариламин в условиях SnAr или условиях сочетания, опосредованного палладием. Затем можно проводить гидролиз трициклического сложного эфира карбоновой кислоты в кислотных или основных условиях для получения промежуточной карбоновой кислоты. Затем можно проводить сочетание промежуточной карбоновой кислоты с различными промежуточными аминами, такими как описано в примере 9, для получения конечного амидного продукта.

Протокол синтеза 4



Замещенный циклоалкилиодид (который является коммерчески доступным или получен согласно описанию "синтеза промежуточных йодидов") обрабатывали активированным цинком. Цинк можно активировать различными способами, включая, но не ограничиваясь ими, способ Рике или обработку TMS-Cl и 1,2-диброметанолом. Затем можно проводить сочетание циклоалкилцинкового реагента с гетероарилдигалогенидом с использованием палладиевых катализаторов в условиях сочетания по Нэгиси. Затем можно проводить реакцию замещения оставшейся галогенидной группы в полученном продукте на ариламин в условиях SnAr или условиях сочетания, опосредованного палладием. Ариламин может быть незащищенным, или N-H в пиразоле можно защищать различными группами, такими как Boc. Затем можно проводить гидролиз трициклического сложного эфира карбоновой кислоты в кислотных или основных условиях для получения промежуточной карбоновой кислоты, что также приводит к удалению защитной группы пиразола. Затем можно проводить сочетание промежуточной карбоновой кислоты с различными промежуточными аминами, такими как описано в "синтезе промежуточных аминов", для получения конечного амидного продукта.

Получение соединений согласно настоящему изобретению можно проводить в подходящих растворителях, которые могут быть легко подобраны специалистами в области органического синтеза. Подходящие растворители могут, по существу, не взаимодействовать с исходными веществами (реагентами), промежуточными соединениями или продуктами при температурах проведения взаимодействия, например, при температурах в диапазоне от температуры замерзания растворителя до температуры кипения растворителя. Данную реакцию можно проводить в одном растворителе или смеси, содержащей более одного растворителя. В зависимости от конкретной стадии реакции подходящие растворители для конкретной стадии реакции могут быть выбраны специалистом.

Получение соединений согласно настоящему изобретению может включать введение и удаление защитных групп для различных химических групп. Специалистом в данной области легко может быть установлена необходимость во введении или удалении защитных групп, а также осуществлен выбор подходящих защитных групп. Химию защитных групп можно найти, например, в Wuts and Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 5-е изд., John Wiley & Sons: New Jersey, (2014), содержание которой включено в настоящую заявку во всей полноте посредством ссылки.

Прохождение взаимодействий можно отслеживать согласно любым подходящим способам, известным в данной области техники. Например, образование продукта можно отслеживать средствами спектроскопии, такими как спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР) (например, ^1H или ^{13}C), ин-

фракрасная (ИК) спектроскопия, спектрофотометрия (например, в УФ-видимой области), масс-спектрометрия (МС), или хроматографическими способами, такими как высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) или тонкослойная хроматография (ТСХ). Инструменты и способы анализа для определения характеристик соединений.

ЖХ-МС. Если не указано иное, все данные жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии (ЖХ-МС) (при анализе чистоты и идентичности образца) получали на системе ЖХ Agilent модели 1260 и масс-спектрометра Agilent модели 6120 с использованием ионизации ИЭР-ИАД, оборудованного обращенно-фазовой колонкой Agilent Poroshel 120 (EC-C18, размер частиц 2,7 мкм, размеры 3,0×50 мм) при 22,4°C. Подвижная фаза состояла из смеси растворителей 0,1% муравьиной кислоты в воде и 0,1% муравьиной кислоты в ацетонитриле. Использовали постоянный градиент от 95% водной/5% органической до 5% водной/95% органической подвижной фазы в течение 4 мин. Расход был постоянным и составлял 1 мл/мин.

Препаративная ЖХ-МС. Препаративную ВЭЖХ проводили на системе Shimadzu Discovery VP® Preparative, оборудованной обращенно-фазовой колонкой Luna 5u C18(2) 100A, заполненной AXIA, 250×21,2 мм, при 22,4°C. Подвижная фаза состояла из смеси растворителей 0,1% муравьиной кислоты в воде и 0,1% муравьиной кислоты в ацетонитриле. Использовали постоянный градиент от 95% водной/5% органической до 5% водной/95% органической подвижной фазы в течение 25 мин. Расход был постоянным и составлял 20 мл/мин. Реакции, для которых требовалось микроволновое излучение, проводили в микроволновом блоке Biotage Initiator.

Хроматография на силикагеле. Хроматографию на силикагеле проводили в системе Teledyne Isco CombiFlash® Rf или системе Biotage® Isolera Four unit.

Протонный ЯМР. Если не указано иное, все спектры ¹H ЯМР получали на оборудовании Varian 400 MHz Unity Inova (экспозиция=3,5 с, задержка 1 с; от 16 до 64 сканов). Положения всех характеризуемых протонов определяли в растворителе ДМСО-d₆ и выражали в частях на миллион (ppm) относительно остаточного ДМСО (2,50 ppm).

Пример 1. Синтез соединений 109 и 110.

Стадия 1. Синтез (1R,4S)-N-((S)-1-(6-(4-фтор-1H-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)этил)-4-(4-метил-6-(5-метил-1H-пиразол-3-иламино)пиридин-2-ил)циклогексанкарбоксамида (соединение 109) и (1S,4R)-N-((S)-1-(6-(4-фтор-1H-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)этил)-4-(4-метил-6-(5-метил-1H-пиразол-3-иламино)пиридин-2-ил)циклогексанкарбоксамида (соединение 110).

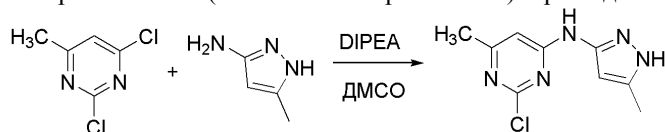
N-((S)-1-(6-(4-Фтор-1H-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)этил)-4-(4-метил-6-((5-метил-1H-пиразол-3-ил)амино)пиридин-2-ил)циклогекс-3-енкарбоксамид (50 мг, 0,10 ммоль) и 10% Pd/C (20 мг) в MeOH (5 мл) перемешивали при температуре окружающей среды в атмосфере H₂ (1 атм.) в течение 1 ч. Затем фильтровали смесь через подложку с целитом и концентрировали отфильтрованный раствор и очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением обоих титульных соединений (1R,4S)-N-((S)-1-(6-(4-фтор-1H-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)этил)-4-(4-метил-6-(5-метил-1H-пиразол-3-иламино)пиридин-2-ил)циклогексанкарбоксамида (соединение 109; 10,0 мг, 19,9%) и (1S,4R)-N-((S)-1-(6-(4-фтор-1H-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)этил)-4-(4-метил-6-(5-метил-1H-пиразол-3-иламино)пиридин-2-ил)циклогексанкарбоксамида (соединение 110; 24,8 мг, 49,5%) в виде белого твердого вещества. МС (ИЭР+) C₂₇H₃₁FN₈O, расчет: 502, эксперимент: 503 [M+H]⁺.

(1S,4R)-N-((S)-1-(6-(4-Фтор-1H-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)этил)-4-(4-метил-6-(5-метил-1H-пиразол-3-иламино)пиридин-2-ил)циклогексанкарбоксамид (соединение 109): ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ ppm 11,66 (s, 1H), 8,82 (s, 1H), 8,68 (d, 1H, J=4,4 Гц), 8,39 (s, 1H), 8,35 (d, 1H, J=6,8 Гц), 7,92-7,86 (m, 3H), 6,89 (s, 1H), 6,37 (s, 1H), 6,12 (s, 1H), 5,00-4,97 (m, 1H), 2,50-2,44 (m, 1H), 2,40-2,15 (m, 7H), 1,90-1,85 (m, 4H), 1,55-1,45 (m, 4H), 1,40 (d, 3H, J=6,4 Гц).

(1S,4R)-N-((S)-1-(6-(4-Фтор-1H-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)этил)-4-(4-метил-6-(5-метил-1H-пиразол-3-иламино)пиридин-2-ил)циклогексанкарбоксамид (соединение 110): ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ ppm 11,62 (s, 1H), 8,78 (s, 1H), 8,66 (d, 1H, J=4,4 Гц), 8,38 (d, 1H, J=1,6 Гц), 8,23 (d, 1H, J=1,6 Гц), 7,93-7,84 (m, 3H), 6,83 (s, 1H), 6,35 (s, 1H), 6,15 (s, 1H), 5,03-5,00 (m, 1H), 2,59-2,50 (m, 1H), 2,50-2,46 (m, 1H), 2,14-2,02 (m, 6H), 2,02-1,84 (m, 4H), 1,63-1,55 (m, 4H), 1,40 (d, 3H, J=7, 6 Гц).

Пример 2. Синтез соединения 112.

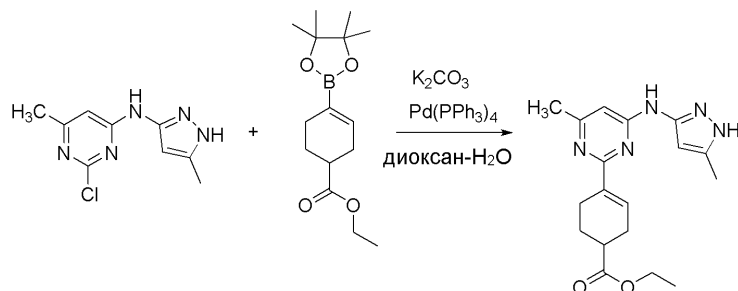
Стадия 1. Синтез 2-хлор-6-метил-N-(5-метил-1H-пиразол-3-ил)пиримидин-4-амина.



Суспензию 2,4-дихлор-6-метилпиримидина (120,00 г, 736,2 ммоль, 1,00 экв.), 5-метил-1H-пиразол-3-амина (78,65 г, 0,81 моль, 1,10 экв.) и DIPEA (142,72 г, 1,10 моль, 1,50 экв.) в ДМСО (400,00 мл) грели при 60°C в течение 16 ч, после чего анализ ТСХ (ПЭ/ЭА, 5:1, 1:1) указывал на завершение взаимодействия. Реакционную смесь охлаждали до 30°C, выливали в смесь лед-вода (800 мл) и экстрагировали полученную смесь МТБЭ (800 мл×10). Объединенные органические слои промывали водой (400 мл×3), соле-

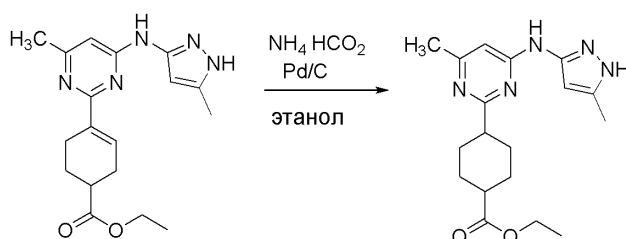
вым раствором (400 мл×3) и сушили над Na_2SO_4 . После фильтрования концентрировали фильтрат при пониженном давлении и перекристаллизовывали остаток из ДХМ (10 мл/г) с получением 2-хлор-6-метил-N-(5-метил-1Н-пиразол-3-ил)пиримидин-4-амин (105,60 г, 472,14 ммоль, 64%) в виде желтого твердого вещества. Структуру подтверждали путем ЖХ-МС и ЯМР.

Стадия 2. Синтез этил-4-(4-метил-6-((5-метил-1Н-пиразол-3-ил)амино)пиримидин-2-ил)циклогекс-3-ен-1-карбоксилата



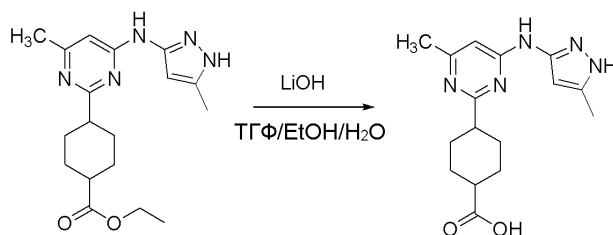
Смесь 2-хлор-6-метил-N-(5-метил-1Н-пиразол-3-ил)пиримидин-4-амин (0,530 г, 2,37 ммоль), этил-4-(4,4,5,5-тетрамethyl-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)циклогекс-3-енкарбоксилата (0,664 г, 2,37 ммоль) и карбоната калия (0,819 г, 5,92 ммоль) в диоксане (8,89 мл) и воде (2,96 мл) барботировали газообразным азотом в течение 10 мин, затем добавляли $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (0,137 г, 0,118 ммоль) и закрывали реакционный сосуд. Реакционную смесь грели в микроволновом реакторе при 125°C в течение 80 мин, затем охлаждали до температуры окружающей среды и разделяли в смеси 5:1 ДХМ/ИРА и воде. Водный слой дополнительно экстрагировали 5:1 ДХМ/ИРА. Объединяли органические слои и сушили над сульфатом натрия. Фильтровали высушенный раствор, концентрировали и очищали путем хроматографии на силикагеле (элюировали с градиентом от 0 до 10% смесями метанол-ДХМ) с получением этил-4-(4-метил-6-((5-метил-1Н-пиразол-3-ил)амино)пиримидин-2-ил)циклогекс-3-ен-1-карбоксилата (646 мг, 80%) в виде желтого твердого вещества. МС (ИЭР⁺) $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}_2$, расчет: 341, эксперимент: 342 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Стадия 3. Синтез этил-4-(4-метил-6-((5-метил-1Н-пиразол-3-ил)амино)пиримидин-2-ил)циклогексан-1-карбоксилата



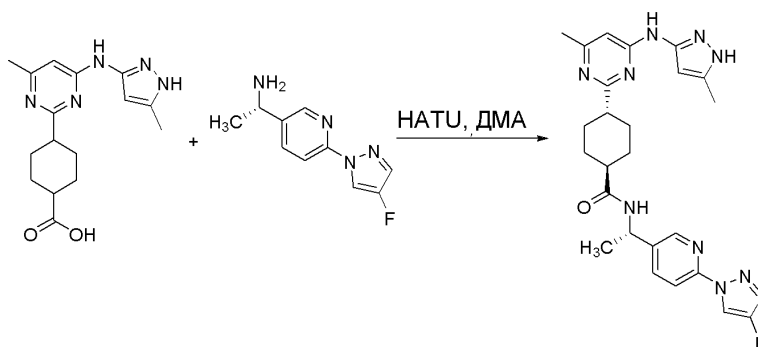
В раствор этил-4-(4-метил-6-((5-метил-1Н-пиразол-3-ил)амино)пиримидин-2-ил)циклогекс-3-енкарбоксилата (0,40 г, 1,2 ммоль) в этаноле (11,7 мл) добавляли палладий на углеродной подложке (10 мас.%, 0,125 г, 0,117 ммоль) и формиат аммония (0,296 г, 4,69 ммоль) и нагревали полученную смесь до 70°C в течение 30 мин. Реакционную смесь охлаждали до температуры окружающей среды и фильтровали через целит, промывая целит метанолом. Затем концентрировали отфильтрованный раствор, помещали в силикагель и очищали путем хроматографии на силикагеле (элюировали с градиентом от 0 до 10% смесями метанол-ДХМ) с получением этил-4-(4-метил-6-((5-метил-1Н-пиразол-3-ил)амино)пиримидин-2-ил)циклогексан-1-карбоксилата в виде смеси 3:1 цис-:транс-изомеров. МС (ИЭР⁺) $\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{N}_5\text{O}_2$, расчет: 343, эксперимент: 344 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Стадия 4. Синтез 4-(4-метил-6-((5-метил-1Н-пиразол-3-ил)амино)пиримидин-2-ил)циклогексан-1-карбоновой кислоты



В раствор этил-4-(4-метил-6-((5-метил-1Н-пиразол-3-ил)амино)пиримидин-2-ил)циклогексанкарбоксилата (0,12 г, 0,35 ммоль) в ТГФ (2,8 мл), EtOH (2,8 мл) и воде добавляли моногидрат гидроксида лития (0,029 г, 0,70 ммоль) при температуре окружающей среды. Реакционную смесь перемешивали в течение 6 ч, затем добавляли концентрированную водную HCl (37%, 0,072 мл, 0,87 ммоль). Концентрировали реакционную смесь и использовали на следующей стадии.

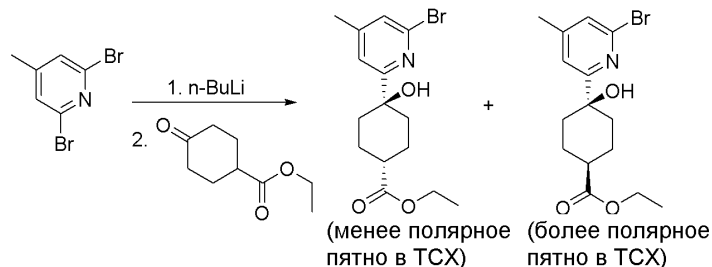
Стадия 5. Синтез (1R,4S)-N-((S)-1-(6-(4-фтор-1H-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)этил)-4-(4-метил-6-((5-метил-1H-пиразол-3-ил)амино)пиримидин-2-ил)циклогексан-1-карбоксамида (соединение 112)



В раствор неочищенной 4-(4-метил-6-((5-метил-1H-пиразол-3-ил)амино)пиримидин-2-ил)циклогексанкарбоновой кислоты (72 мг, 0,23 ммоль), гидроклоридной соли (S)-1-(6-(4-фтор-1H-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)этанаминa (97 мг, 0,40 ммоль) и DIEA (0,34 мл, 1,9 ммоль) в ДМФ (3,8 мл) добавляли HATU (162 мг, 0,427 ммоль) при температуре окружающей среды. Реакционную смесь перемешивали в течение 10 мин, затем разделяли в EtOAc и H₂O. Органический слой промывали насыщенным водным раствором NaCl, сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Очищали остаток путем хроматографии на силикагеле (элюировали с градиентом от 0 до 10% смесью метанола/дихлорметан с добавкой 2% триэтиламина) с получением (1R,4S)-N-((S)-1-(6-(4-фтор-1H-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)этил)-4-(4-метил-6-((5-метил-1H-пиразол-3-ил)амино)пиримидин-2-ил)циклогексан-1-карбоксамида (соединение 112; 26 мг, выход 13%) в виде белого твердого вещества. МС (ИЭР⁺) C₂₆H₃₀FN₉O, расчет: 503, эксперимент: 504 [M+H]⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 11,88 (s, 1H), 9,48 (s, 1H), 8,66 (d, J=4,5 Гц, 1H), 8,38 (d, J=2,2 Гц, 1H), 8,30 (d, J=7,7 Гц, 1H), 7,94-7,81 (m, 3H), 6,83 (s, 1H), 6,16 (s, 1H), 5,02-4,93 (m, 1H), 2,57-2,49 (m, 1H), 2,26-2,16 (m, 7H), 1,99-1,92 (m, 2H), 1,88-1,80 (m, 2H), 1,58-1,36 (m, 7H).

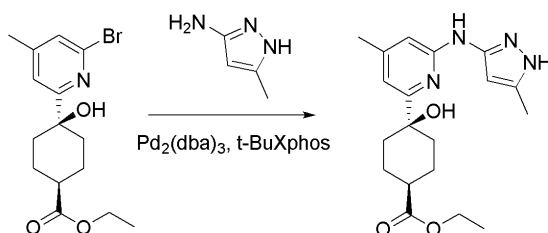
Пример 3. Синтез соединения 120.

Стадия 1. Синтез (1S,4S)-этил-4-(6-бром-4-метилпиридин-2-ил)-4-гидроксициклогексанкарбоксилата и (1R,4R)-этил-4-(6-бром-4-метилпиридин-2-ил)-4-гидроксициклогексанкарбоксилата



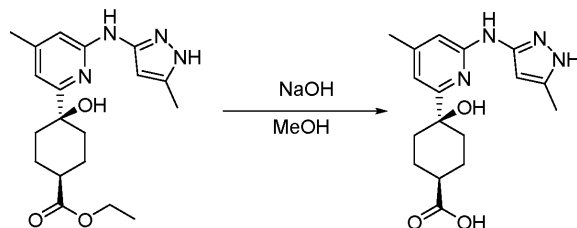
Раствор 2,6-дибром-4-метилпиридина (1,00 г, 3,98 ммоль) в ДХМ (30 мл) охлаждали до -78°C и в полученный раствор по каплям добавляли n-BuLi (2,5M, 1,74 мл, 4,37 ммоль) при -78°C. Раствор перемешивали при -78°C в течение 15 мин, затем добавляли этил-4-оксоциклогексанкарбоксилат (811 мг, 4,77 ммоль) и перемешивали полученную смесь при -78°C в течение 30 мин. Реакцию гасили путем добавления насыщенного водного раствора NH₄Cl и экстрагировали смесь ДХМ. Объединяли органические слои, сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Остаток очищали на колонке с силикагелем (ПЭ:ЭА=2:1) с получением (1R,4R)-этил-4-(6-бром-4-метилпиридин-2-ил)-4-гидроксициклогексанкарбоксилата (менее полярное пятно в ТСХ, 500 мг, 36,7%) в виде белого твердого вещества, МС (ИЭР⁺) C₁₅H₂₀BrNO₃, расчет: 341, эксперимент: 342 [M+H]⁺, и (1S,4S)-этил-4-(6-бром-4-метилпиридин-2-ил)-4-гидроксициклогексанкарбоксилата (более полярное пятно в ТСХ, 500 мг, 36,7%) в виде белого твердого вещества. МС (ИЭР⁺) C₁₅H₂₀BrNO₃, расчет: 341, эксперимент: 342 [M+H]⁺.

Стадия 2. Синтез (1S,4S)-этил-4-гидрокси-4-(4-метил-6-(5-метил-1H-пиразол-3-иламино)пиридин-2-ил)циклогексанкарбоксилата



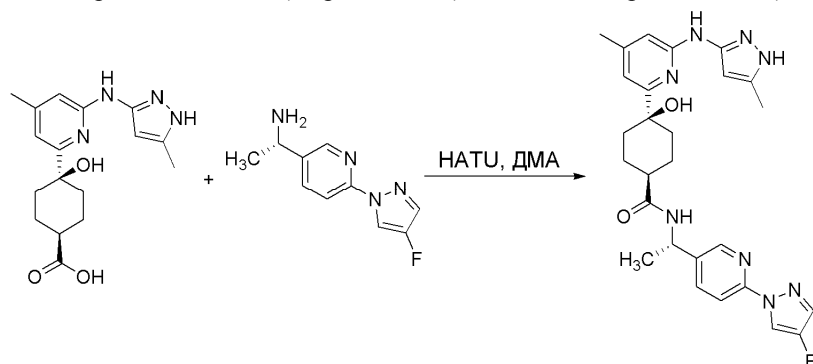
Смесь (1s,4s)-этил-4-(6-бром-4-метилпиридин-2-ил)-4-гидроксициклогексанкарбоксилата (500 мг, 1,46 ммоль), 5-метил-1Н-пиразол-3-амин (283 мг, 2,92 ммоль), t-BuXPhos (185 мг, 0,438 ммоль), Pd₂(dba)₃ (200 мг, 0,219 ммоль) и KOAc (429 мг, 4,38 ммоль) в ДМФ (2 мл) и толуоле (10 мл) нагревали до 140°C в течение 2 ч при микроволновом облучении. После охлаждения до температуры окружающей среды концентрировали смесь и очищали на колонке с силикагелем (ПЭ:ЭА=1:2) с получением (1s,4s)-этил-4-гидрокси-4-(4-метил-6-(5-метил-1Н-пиразол-3-иламино)пиридин-2-ил)циклогексанкарбоксилата (80 мг, 15%) в виде белого твердого вещества. МС (ИЭР⁺) C₁₉H₂₆N₄O₃, расчет: 358, эксперимент: 359 [M+H]⁺.

Стадия 3. Синтез (1S,4S)-4-гидрокси-4-(4-метил-6-(5-метил-1Н-пиразол-3-иламино)пиридин-2-ил)циклогексанкарбоновой кислоты



В раствор (1S,4S)-этил-4-гидрокси-4-(4-метил-6-(5-метил-1Н-пиразол-3-ил)амино)пиридин-2-ил)циклогексанкарбоксилата (80 мг, 0,2231 ммоль) в MeOH (3 мл) добавляли 2М водный NaOH (0,5 мл, 1 ммоль) при 25°C. Раствор перемешивали при 25°C в течение 15 ч и затем концентрировали для удаления MeOH. Водный раствор подкисляли 2М HCl до достижения pH 6, что приводило к образованию осадка. Собирали осажденное твердое вещество и сушили с получением (1S,4S)-4-гидрокси-4-(4-метил-6-(5-метил-1Н-пиразол-3-иламино)пиридин-2-ил)циклогексанкарбоновой кислоты (60 мг, 81%) в виде желтого твердого вещества. МС (ИЭР⁺) C₁₇H₂₂N₄O₃, расчет: 330, эксперимент: 331 [M+H]⁺.

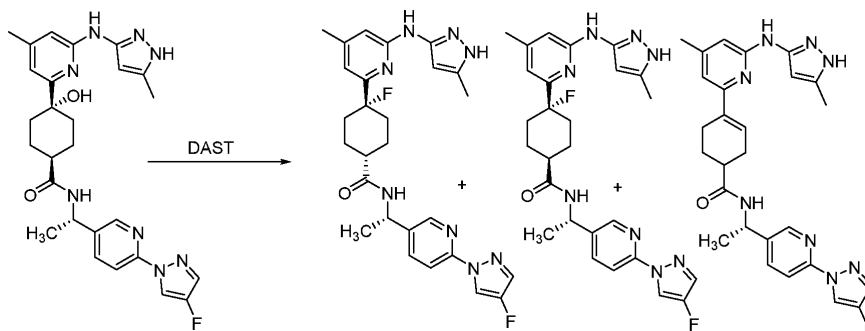
Стадия 4. Синтез (1s,4R)-N-((S)-1-(6-(4-фтор-1Н-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)этил)-4-гидрокси-4-(4-метил-6-(5-метил-1Н-пиразол-3-иламино)пиридин-2-ил)циклогексанкарбоксамида (соединение 120)



Смесь (1S,4S)-4-гидрокси-4-(4-метил-6-(5-метил-1Н-пиразол-3-ил)амино)пиридин-2-ил)циклогексанкарбоновой кислоты (60 мг, 0,18 ммоль), гидрохлорида (S)-1-(6-(4-фтор-1Н-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)этанамин (44,0 мг, 0,1816 ммоль), HATU (69,0 мг, 0,1816 ммоль) и DIEA (70,4 мг, 0,545 ммоль) в DMA (2 мл) перемешивали при 25°C в течение 2 ч. Концентрировали раствор и очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением титульного продукта (40 мг, 43%) в виде белого твердого вещества. МС (ИЭР⁺) C₂₇H₃₁FN₈O₂, расчет: 518, эксперимент: 519 [M+H]⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 11,71 (шир.с., 1H), 8,92 (шир.с., 1H), 8,69 (d, 1H, J=4,4 Гц), 8,39 (d, 1H, J=2,0 Гц), 8,31 (d, 1H, J=1,6 Гц), 7,95-7,87 (m, 3H), 6,83 (шир.с., 1H), 6,79 (s, 1H), 6,09 (шир.с., 1H), 5,01-4,98 (m, 1H), 4,89 (s, 1H), 2,50-2,48 (m, 1H), 2,21 (s, 3H), 2,20 (s, 3H), 2,00-1,75 (m, 4H), 1,65-1,50 (m, 4H), 1,41 (d, 3H, J=7,2 Гц).

Пример 4. Синтез соединений 121 и 122.

Стадия 1. Синтез (1s,4R)-4-фтор-N-((S)-1-(6-(4-фтор-1Н-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)этил)-4-(4-метил-6-(5-метил-1Н-пиразол-3-иламино)пиридин-2-ил)циклогексанкарбоксамида (соединение 121), (1S,4R)-4-фтор-N-((S)-1-(6-(4-фтор-1Н-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)этил)-4-(4-метил-6-(5-метил-1Н-пиразол-3-иламино)пиридин-2-ил)циклогексанкарбоксамида (соединение 122) и N-((S)-1-(6-(4-фтор-1Н-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)этил)-4-(4-метил-6-(5-метил-1Н-пиразол-3-иламино)пиридин-2-ил)циклогекс-3-енкарбоксамида



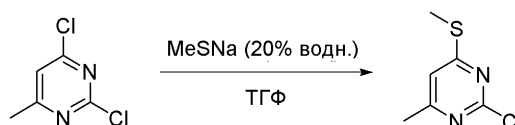
Смесь (1R,4S)-N-((S)-1-(6-(4-фтор-1H-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)этил)-4-гидрокси-4-(4-метил-6-((5-метил-1H-пиразол-3-ил)амино)пиридин-2-ил)циклогексанкарбоксамида (120 мг, 0,23 ммоль) в ДХМ (6 мл) охлаждали до 0°C. В смесь добавляли DAST (111 мг, 0,69 ммоль) при 0°C и перемешивали полученную смесь при 25°C в течение 2 ч. Концентрировали смесь и очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением титульных соединений (1S,4R)-4-фтор-N-((S)-1-(6-(4-фтор-1H-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)этил)-4-(4-метил-6-(5-метил-1H-пиразол-3-иламино)пиридин-2-ил)циклогексанкарбоксамида (соединение 121; 6,1 мг, 5,08%) и (1R,4S)-4-фтор-N-((S)-1-(6-(4-фтор-1H-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)этил)-4-(4-метил-6-(5-метил-1H-пиразол-3-иламино)пиридин-2-ил)циклогексанкарбоксамида (соединение 122; 13,2 мг, 11,0%) в виде белых твердых веществ. МС (ИЭР⁺) C₂₇H₃₀F₂N₈O, расчет: 520, эксперимент: 521 [M+H]⁺. Также получали N-((S)-1-(6-(4-фтор-1H-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)этил)-4-(4-метил-6-(5-метил-1H-пиразол-3-иламино)пиридин-2-ил)циклогексанкарбоксамида (соединение 121; 6,1 мг, 5,08%) и (1R,4S)-4-фтор-N-((S)-1-(6-(4-фтор-1H-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)этил)-4-(4-метил-6-(5-метил-1H-пиразол-3-иламино)пиридин-2-ил)циклогексанкарбоксамида (соединение 122; 13,2 мг, 11,0%) в виде белых твердых веществ. МС (ИЭР⁺) C₂₇H₂₉FN₈O, расчет: 500, эксперимент: 501 [M+H]⁺.

(1S,4R)-4-Фтор-N-((S)-1-(6-(4-фтор-1H-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)этил)-4-(4-метил-6-(5-метил-1H-пиразол-3-иламино)пиридин-2-ил)циклогексанкарбоксамида (соединение 121): ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ ppm 11,73 (s, 1H), 9,01 (d, 1H, J=2,8 Гц), 8,69 (d, 1H, J=4,4 Гц), 8,41-8,38 (m, 2H), 7,95-7,87 (m, 3H), 6,92 (s, 1H), 6,66 (s, 1H), 6,14 (s, 1H), 5,00 (q, 1H, J=7,2 Гц), 2,50-2,31 (m, 1H), 2,21-2,21 (m, 6H), 2,21-1,74 (m, 8H), 1,41 (d, 3H, J=7, 2 Гц).

(1R,4S)-4-Фтор-N-((S)-1-(6-(4-фтор-1H-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)этил)-4-(4-метил-6-(5-метил-1H-пиразол-3-иламино)пиридин-2-ил)циклогексанкарбоксамида (соединение 122): ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ ppm 11,65 (s, 1H), 9,01 (s, 1H), 8,65 (d, 1H, J=4,4 Гц), 8,38-8,33 (m, 2H), 7,92-7,84 (m, 3H), 6,83 (s, 1H), 6,67 (s, 1H), 6,30 (s, 1H), 5,04 (q, 1H, J=7,2 Гц), 2,70-2,50 (m, 3H), 2,20 (s, 3H), 2,15 (s, 3H), 2,21-1,70 (m, 6H), 1,40 (d, 3H, J=7,2 Гц).

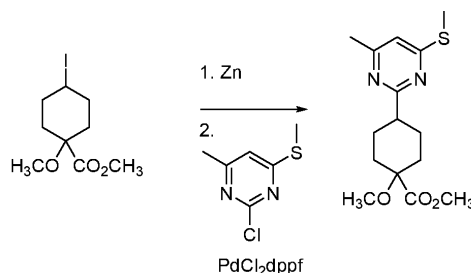
Пример 5. Синтез соединений 129 и 130.

Стадия 1. Синтез 2-хлор-4-метил-6'-(метилтио)пиримидина



2,4-Дихлор-6-метилпиримидин (20,0 г, 0,123 моль) растворяли в ТГФ (200 мл). По каплям добавляли MeSNa (20% воды, 43 г, 0,129 моль) при -5°C и перемешивали полученную смесь в течение ночи при комнатной температуре. Добавляли H₂O (100 мл) и EtOAc (100 мл) и разделяли слои. Органический слой промывали соевым раствором (2×), сушили над сульфатом натрия и концентрировали с получением желтого твердого вещества. Твердое вещество промывали ПЭ (100 мл) с получением целевого соединения (9,1 г). МС (ИЭР⁺) C₆H₇ClN₂S, расчет: 174, эксперимент: 175 [M+H]⁺.

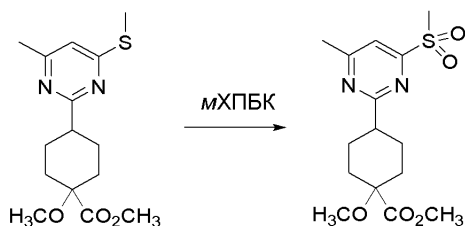
Стадия 2. Синтез метил-1-метокси-4-(4-метил-6-(метилтио)пиримидин-2-ил)циклогексан-1-карбоксилата



Метил-4-йод-1-метоксициклогексанкарбоксилат (1,35 г, 4,53 ммоль) растворяли в диметилацетамиде (10 мл) в стойком к давлению сосуде в токе N₂. Быстро при помощи шприца добавляли цинк Рике (5,7 мл 50 мг/мл суспензии в ТГФ, 4,34 ммоль), закрывали сосуд и перемешивали при температуре окружающей среды в течение 15 мин. Открывали сосуд в токе N₂ и добавляли 2-хлор-4-метил-6-(метилтио)

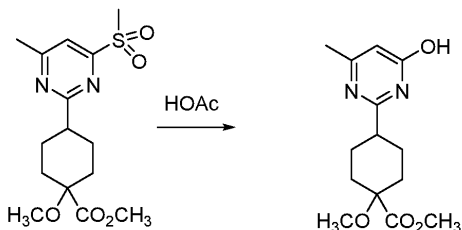
пиримидин (659 мг, 3,8 ммоль), затем PdCl_2dppf (138 мг, 0,19 ммоль). Закрывали сосуд и нагревали до 80°C в течение одного часа, затем охлаждали до комнатной температуры. Реакционную смесь разбавляли EtOAc , фильтровали через целит и промывали фильтрат H_2O (3×), соевым раствором, сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Полученный остаток очищали путем колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (элюировали с градиентом от 0 до 30% смесями EtOAc -гексаны) с получением метил-1-метокси-4-(4-метил-6-(метилтио)пиримидин-2-ил)циклогексанкарбоксилата (828 мг, 70%) в виде бесцветного маслянистого вещества. Путем интегрирования пиков в УФ области спектра ЖХ/МС и интегрирования спектра ЯМР было определено, что продукт представлял собой смесь ~3:2 изомеров. МС (ИЭР⁺) $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$, расчет: 310, эксперимент: 311 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Стадия 3. Синтез метил-1-метокси-4-(4-метил-6-(метилсульфонил)пиримидин-2-ил)циклогексан-1-карбоксилата



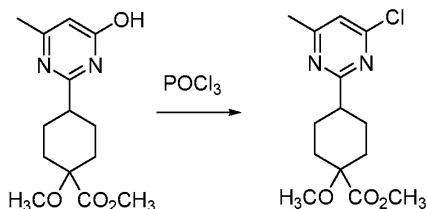
Метил-1-метокси-4-(4-метил-6-(метилтио)пиримидин-2-ил)циклогексанкарбоксилат (825 мг, 2,66 ммоль) растворяли в ДХМ (12 мл), затем добавляли мХПБК (1,10 г, 6,38 ммоль) при температуре окружающей среды. Реакционную смесь перемешивали в течение 16 ч, затем добавляли дополнительную порцию мХПБК (200 мг). После дополнительного перемешивания в течение 4 ч разбавляли реакционную смесь ДХМ и затем промывали насыщенным раствором бикарбоната натрия. Промытый раствор сушили над сульфатом натрия, фильтровали, концентрировали и очищали полученный остаток путем колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (элюировали с градиентом от 0 до 60% смесями этилацетат-гексан) с получением метил-1-метокси-4-(4-метил-6-(метилсульфонил)пиримидин-2-ил)циклогексанкарбоксилата (808 мг, 89%) в виде бесцветного маслянистого вещества. МС (ИЭР⁺) $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$, расчет: 342, эксперимент: 343 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Стадия 4. Синтез метил-4-(4-гидрокси-6-метилпиримидин-2-ил)-1-метоксициклогексан-1-карбоксилата



Метил-1-метокси-4-(4-метил-6-(метилсульфонил)пиримидин-2-ил)циклогексанкарбоксилат (600 мг, 1,75 ммоль) растворяли в уксусной кислоте (5 мл) и нагревали до 80°C в течение 1 ч. Затем охлаждали реакционную смесь до температуры окружающей среды, концентрировали при пониженном давлении, растирали с H_2O и фильтровали. Твердые вещества дополнительно промывали H_2O и затем сушили при пониженном давлении с получением титульного соединения, метил-4-(4-гидрокси-6-метилпиримидин-2-ил)-1-метоксициклогексанкарбоксилата (390 мг, 79%), в виде бледно-желтого твердого вещества. МС (ИЭР⁺) $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_4$, расчет: 280, эксперимент: 281 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Стадия 5. Синтез метил-4-(4-хлор-6-метилпиримидин-2-ил)-1-метоксициклогексан-1-карбоксилата

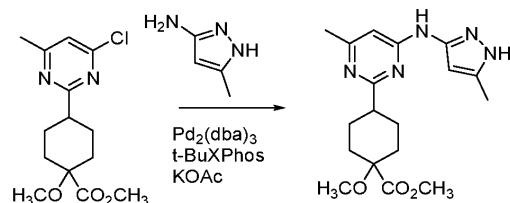


Метил-4-(4-гидрокси-6-метилпиримидин-2-ил)-1-метоксициклогексанкарбоксилат (380 мг, 1,36 ммоль) суспендировали в POCl_3 (3,2 мл, 33,9 ммоль) и нагревали до 100°C в течение 2 ч.

Затем охлаждали реакционную смесь до температуры окружающей среды, концентрировали и обрабатывали остаток колотым льдом. Разделяли полученную суспензию в ДХМ и экстрагировали органический слой насыщенным раствором бикарбоната натрия и сушили над сульфатом натрия. Высушенный раствор фильтровали, концентрировали и очищали полученный остаток путем колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (элюировали с градиентом от 0 до 30% смесями этилацетат-гексаны) с получением метил-4-(4-хлор-6-метилпиримидин-2-ил)-1-метоксициклогексанкарбоксилата (344 мг, 85%) в

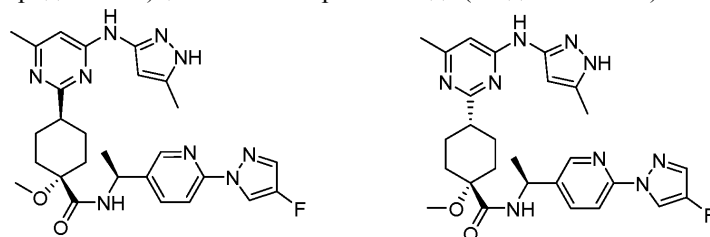
виде бледно-оранжевого маслянистого вещества, которое отверждалось при стоянии. МС (ИЭР⁺) C₁₄H₁₉ClN₂O₃, расчет: 298, эксперимент: 299 [M+H]⁺.

Стадия 6. Синтез метил-1-метокси-4-(4-метил-6-((5-метил-1Н-пиразол-3-ил)амино)пиримидин-2-ил)циклогексан-1-карбоксилата



Метил-4-(4-хлор-6-метилпиримидин-2-ил)-1-метоксициклогексанкарбоксилат (300 мг, 1,00 ммоль), 3-метил-1-пиразол-5-амин (146 мг, 1,51 ммоль), ди-трет-бутил(2',4',6'-триизопропил-[1,1'-бифенил]-2-ил)фосфин (85 мг, 0,2 экв.), Pd₂(dba)₃ (92 мг, 0,1 экв.) и ацетат калия (394 мг, 4,02 ммоль) объединяли в пробирке в атмосфере азота и добавляли 4 мл диоксана. Реакционную смесь нагревали до 100°C в течение 1 ч, затем охлаждали до температуры окружающей среды. Реакционную смесь разбавляли EtOAc, фильтровали через целит, концентрировали и очищали полученный остаток путем колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (элюировали с градиентом от 0 до 10% смесями метанол-дихлорметан) с получением метил-1-метокси-4-(4-метил-6-((5-метил-1Н-пиразол-3-ил)амино)пиримидин-2-ил)циклогексанкарбоксилата (192 мг, 53%) в виде бежевой пены. МС (ИЭР⁺) C₁₈H₂₅N₅O₃, расчет: 359, эксперимент: 360 [M+H]⁺.

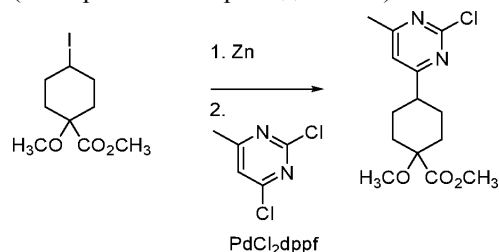
Стадия 7. Синтез (1S,4R)-N-((S)-1-(6-(4-фтор-1Н-пиразол-1-ил)пиридин-3'-ил)этил)-1-метокси-4-(4-метил-6-((5-метил-1Н-пиразол-3-ил)амино)пиримидин-2-ил)циклогексанкарбоксамида (соединение 129) и (1S,4R)-N-((S)-1-(6-(4-фтор-1Н-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)этил)-1-метокси-4-(4-метил-6-((5-метил-1Н-пиразол-3-ил)амино)пиримидин-2-ил)циклогексанкарбоксамида (соединение 130)



Титульные соединения получали из метил-1-метокси-4-(4-метил-6-((5-метил-1Н-пиразол-3-ил)амино)пиримидин-2-ил)циклогексанкарбоксилата (192 мг, 0,53 ммоль) при помощи двухстадийного способа (гидролиз и амидное сочетание), описанного в протоколах синтеза 1 и 2, с использованием RuBOP в качестве агента амидного сочетания вместо HATU. Изначально продукты выделяли в виде смеси диастереомеров (190 мг), которую затем растворяли в 6 мл метанола и очищали путем СФХ (ChiralPak AD-H 21×250 мм, 40% MeOH, содержащего 0,25% ДЭА, в CO₂, пробы по 2,5 мл, 70 мл/мин). Концентрировали пик 1 с получением (1R,4S)-N-((S)-1-(6-(4-фтор-1Н-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)этил)-1-метокси-4-(4-метил-6-((5-метил-1Н-пиразол-3-ил)амино)пиримидин-2-ил)циклогексанкарбоксамида (29 мг, 10%) в виде белого твердого вещества. Концентрировали пик 2 с получением (1S,4R)-N-((S)-1-(6-(4-фтор-1Н-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)этил)-1-метокси-4-(4-метил-6-((5-метил-1Н-пиразол-3-ил)амино)пиримидин-2-ил)циклогексанкарбоксамида (130 мг, 46%) в виде белого твердого вещества.

Пример 6. Синтез соединения 149.

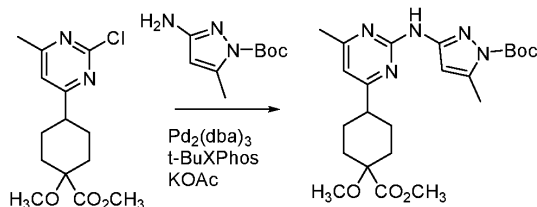
Стадия 1. Синтез метил-4-(2-хлор-6-метилпиримидин-4-ил)-1-метоксициклогексан-1-карбоксилата



Метил-4-йод-1-метоксициклогексанкарбоксилат (3,37 г, 11,3 ммоль) растворяли в диметилацетамиде (38 мл) в стойком к давлению сосуде в токе N₂. Быстро при помощи шприца добавляли цинк Рике (17,7 мл 50 мг/мл суспензии в ТГФ, 13,6 ммоль), закрывали сосуд и перемешивали при температуре окружающей среды в течение 15 мин. Открывали сосуд в токе N₂ и добавляли 2,4-дихлор-6-метилпиримидин (1,84 г, 11,3 ммоль), затем PdCl₂dppf (826 мг, 1,13 ммоль). Закрывали сосуд и нагревали до 80°C в течение одного часа, затем охлаждали до комнатной температуры. Реакционную смесь разбавляли EtOAc, фильтровали через целит и промывали фильтрат H₂O (3×), соевым раствором, сушили над

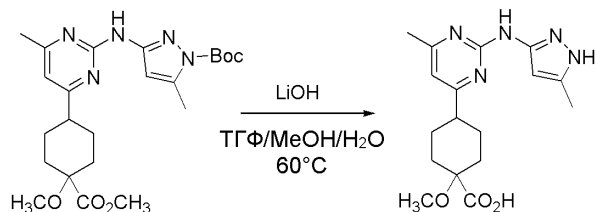
сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Полученный остаток очищали путем колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (элюировали с градиентом от 0 до 50% смесями EtOAc-гексаны) с получением метил-4-(2-хлор-6-метилпиримидин-4-ил)-1-метоксициклогексан-1-карбоксилата (74 мг, 2,2%) в виде бесцветного маслянистого вещества. МС (ИЭР⁺) C₁₄H₁₉ClN₂O₃, расчет: 298, эксперимент: 299 [M+H]⁺.

Стадия 2. Синтез трет-бутил-3-((4-(4-метокси-4-(метоксикарбонил)циклогексил)-6-метилпиримидин-2-ил)амино)-5-метил-1Н-пиразол-1-карбоксилата



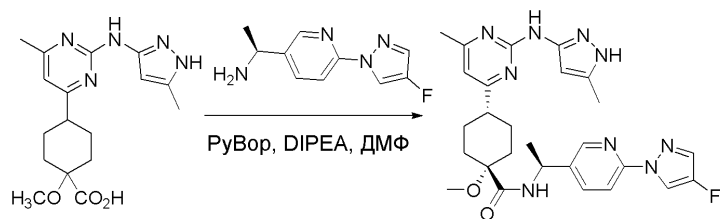
Метил-4-(2-хлор-6-метилпиримидин-4-ил)-1-метоксициклогексан-1-карбоксилат (70,5 мг, 0,236 ммоль), трет-бутил-3-амино-5-метил-1Н-пиразол-1-карбоксилат (69,8 мг, 0,354 ммоль), ди-трет-бутил(2',4',6'-триизопропил[1,1'-бифенил]-2-ил)фосфин (20,0 мг, 0,2 экв.), Pd₂(dba)₃ (21,6 мг, 0,1 экв.) и ацетат калия (70 мг, 0,71 ммоль) объединяли в пробирке в атмосфере азота и добавляли 0,98 мл диоксана. Реакционную смесь нагревали до 115°C в течение 2 ч, затем охлаждали до температуры окружающей среды. Реакционную смесь разбавляли EtOAc, фильтровали через целит, концентрировали в силикагеле и очищали полученный остаток путем колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (элюировали с градиентом от 0 до 100% смесями этилацетат-гексаны) с получением трет-бутил-3-((4-(4-метокси-4-(метоксикарбонил)циклогексил)-6-метилпиримидин-2-ил)амино)-5-метил-1Н-пиразол-1-карбоксилата (48 мг, 44%) в виде желтого маслянистого вещества. МС (ИЭР⁺) C₂₃H₃₃N₅O₅, расчет: 459, эксперимент: 460 [M+H]⁺.

Стадия 3. Синтез 1-метокси-4-(6-метил-2-((5-метил-1Н-пиразол-3-ил)амино)пиримидин-4-ил)циклогексан-1-карбоновой кислоты



В раствор трет-бутил-3-((4-(4-метокси-4-(метоксикарбонил)циклогексил)-6-метилпиримидин-2-ил)амино)-5-метил-1Н-пиразол-1-карбоксилата (47,7 мг, 0,104 ммоль) в ТГФ/МеОН/Н₂О (17:1:1, 1,8 мл) добавляли моногидрат гидроксида лития (13 мг, 0,31 ммоль). Реакционную смесь нагревали до 60°C и перемешивали в течение 16 ч. Затем охлаждали реакционную смесь до температуры окружающей среды и концентрировали с получением неочищенной 1-метокси-4-(6-метил-2-((5-метил-1Н-пиразол-3-ил)амино)пиримидин-4-ил)циклогексан-1-карбоновой кислоты (57 мг, неочищенная), которую использовали для последующего амидного сочетания без какой-либо дополнительной очистки. МС (ИЭР⁺) C₁₇H₂₃N₅O₃, расчет: 345, эксперимент: 346 [M+H]⁺.

Стадия 4. Синтез (1s,4R)-N-((S)-1-(6-(4-фтор-1Н-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)этил)-1-метокси-4-(6-метил-2-((5-метил-1Н-пиразол-3-ил)амино)пиримидин-4-ил)циклогексан-1-карбоксамида (соединение 149)

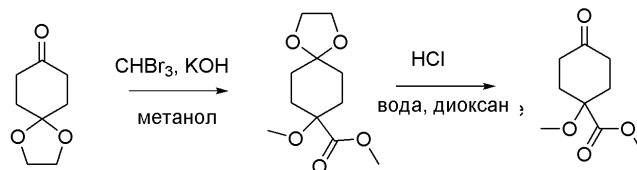


Титульное соединение получали из 1-метокси-4-(6-метил-2-((5-метил-1Н-пиразол-3-ил)амино)пиримидин-4-ил)циклогексан-1-карбоновой кислоты (57 мг, 0,104 ммоль) при помощи способа (амидное сочетание), описанного в протоколах синтеза 1 и 2, с использованием PyBOP в качестве агента амидного сочетания вместо HATU. Изначально продукты выделяли в виде смеси диастереомеров (36 мг), которую затем растворяли в 6 мл смеси метанол-ДХМ (1:1) и очищали путем СФХ (ChiralPak IC-H 21×250 мм, 40% MeOH, содержащего 0,25% ДЭА, в CO₂, пробы по 1,0 мл, 70 мл/мин). Пик 1 представлял собой нежелательный изомер, и концентрировали пик 2 с получением (1s,4R)-N-((S)-1-(6-(4-фтор-1Н-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)этил)-1-метокси-4-(6-метил-2-((5-метил-1Н-пиразол-3-ил)амино)пиримидин-4-ил)циклогексан-1-карбоксамида (13,4 мг, 24%) в виде белого твердого вещества.

Синтез промежуточных соединений.

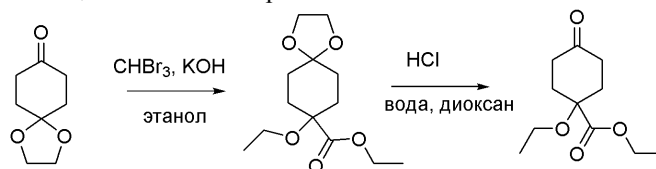
Пример 7. Синтез промежуточных кетонов и боронатов.

А. Метил-1-метокси-4-оксоциклогексан-1-карбоксилат



Титульное соединение получали согласно описанию, приведенному в WO 2014/130810 A1 на стр. 86.

В. Этил-1-этокси-4-оксоциклогексан-1-карбоксилат



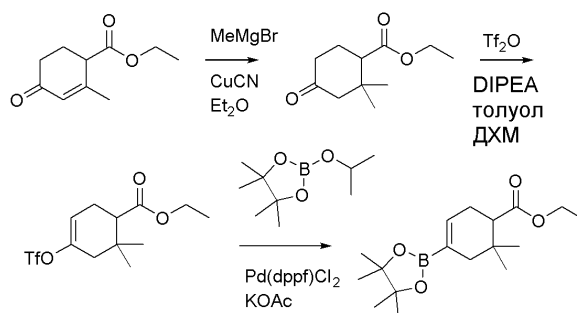
Стадия 1. Синтез этил-8-этокси-1,4-диоксаспиро[4.5]декан-8-карбоксилата.

Раствор 1,4-диоксаспиро[4.5]декан-8-она (20,0 г, 128 ммоль) в CHBr_3 (3234 г, 1280 ммоль) охлаждали до 0°C и по каплям добавляли гидроксид калия (57,5 г, 1024 ммоль) в EtOH (300 мл) в течение 2,5 ч. После перемешивания в течение 23 ч концентрировали смесь и разделяли остаток в EtOAc и H_2O . Органический слой промывали соевым раствором, сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали путем колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (элюировали с градиентом смесью ПЭ:ЭА=от 15:1 до 10:1) с получением титульного соединения (18,0 г).

Стадия 2. Синтез этил-1-этокси-4-оксоциклогексан-1-карбоксилата.

В раствор этил-8-этокси-1,4-диоксаспиро[4.5]декан-8-карбоксилата (10 г, 43 ммоль) в 1,4-диоксане (250 мл) добавляли водную HCl (6 М, 92,5 мл) и перемешивали смесь в течение 23 ч при температуре окружающей среды. Затем разбавляли смесь H_2O и экстрагировали EtOAc. Органические слои промывали соевым раствором, сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного остатка, который очищали путем колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (ПЭ: ЭА =15:1) с получением продукта (8,0 г). ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 4,20-4,13 (m, 2H), 3,43 (q, $J=6,9$ Гц, 1H), 2,48-2,39 (m, 1H), 2,24-2,12 (m, 2H), 2,10-2,01 (m, 1H), 1,22 (t, $J=7,1$ Гц, 2H), 1,17 (t, $J=7,0$ Гц, 2H).

С. Этил-6,6-диметил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксaborолан-2-ил)циклогекс-3-ен-1-карбоксилат



Стадия 1. Синтез этил-2,2-диметил-4-оксоциклогексан-1-карбоксилата.

В суспензию CuCN (14,75 г, 164,7 ммоль) в диэтиловом эфире (50 мл) по каплям добавляли раствор бромид метилмагния (3М, 109,8 мл, 329,4 ммоль) при 0°C . Перемешивали смесь в течение 30 мин при 0°C и затем охлаждали до -78°C . Затем по каплям добавляли раствор этил-2-метил-4-оксоциклогекс-2-ен-1-карбоксилата (10 г, 54,9 ммоль) в диэтиловом эфире (10 мл). Смесь перемешивали при температуре от -40 до -20°C в течение 2 ч, затем нагревали до температуры окружающей среды в течение 16 ч. Реакционную смесь осторожно добавляли в насыщенный раствор хлорида аммония. Водный слой дважды экстрагировали диэтиловым эфиром и объединяли органические слои. Объединенные органические слои промывали соевым раствором, сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Очищали остаток путем колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (ПЭ:ЭА=10:1) с получением этил-2,2-диметил-4-оксоциклогексан-1-карбоксилата (1,16 г).

Стадия 2. Синтез этил-6,6-диметил-4-(((трифторметил)сульфонил)окси)циклогекс-3-ен-1-карбоксилата.

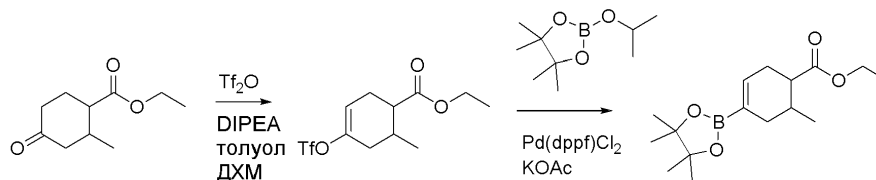
Этил-2,2-диметил-4-оксоциклогексан-1-карбоксилат (1,16 г, 5,85 ммоль) и DIPEA (3,03 г, 23,4 ммоль) растворяли в сухом толуоле (2 мл) и грели при 45°C в течение 10 мин. По каплям добавляли ангидрид трифторметансульфокислоты (6,61 г, 23,4 ммоль) в ДХМ (20 мл) в течение 10 мин и грели смесь

при 45°C в течение 2 ч. Смесь оставляли охлаждаться до комнатной температуры, концентрировали, разбавляли водой (60 мл) и экстрагировали ДХМ (2×40 мл). Органический слой промывали насыщенным раствором бикарбоната натрия (20 мл) и соевым раствором (20 мл), сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Неочищенный продукт очищали путем колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (элюировали с градиентом от 0 до 100% смесями этилацетат-петролейный эфир) с получением этил-6,6-диметил-4-(((трифторметил)-сульфонил)окси)циклогекс-3-ен-1-карбоксилата (1 г).

Стадия 3. Синтез этил-6,6-диметил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)циклогекс-3-ен-1-карбоксилата.

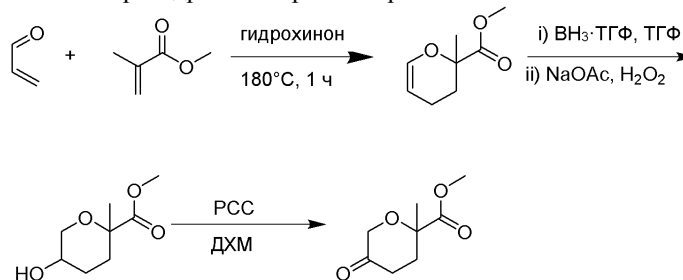
Этил-6,6-диметил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)циклогекс-3-ен-1-карбоксилат (1 г, 3,03 ммоль), 4,4,5,5-тетраметил-2-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1,3,2-диоксаборолан (1,15 г, 4,54 ммоль), Pd(dppf)Cl₂ (73,5 мг, 0,09 ммоль) и ацетат калия (891 мг, 9,08 ммоль) суспендировали в 1,4-диоксане (20 мл). Реакционную смесь продували азотом, затем нагревали до 100°C в течение 2 ч. Охлаждали смесь до комнатной температуры, фильтровали и концентрировали и очищали полученное коричневое маслянистое вещество путем колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (элюировали с градиентом от 0 до 100% смесями этилацетат-петролейный эфир) с получением этил-6,6-диметил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)циклогекс-3-ен-1-карбоксилата (618 мг).

D. Этил-6-метил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)циклогекс-3-ен-1-карбоксилат



Этил-6-метил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)циклогекс-3-ен-1-карбоксилат получали при помощи того же способа синтеза, что описан выше, с использованием этил-2-метил-4-оксоциклогексан-1-карбоксилата в качестве исходного вещества.

E. Метил-2-метил-5-оксотетрагидро-2Н-пиран-2-карбоксилат



Стадия 1. Синтез метил-2-метил-3,4-дигидро-2Н-пиран-2-карбоксилата.

Смесь акриальдегида (120 г, 2,14 моль), метилметакрилата (200 г, 2,00 моль) и гидрохинона (2,2 г, 20 ммоль) грели в герметичном стальном сосуде при 180°C в течение одного часа. Затем охлаждали смесь до температуры окружающей среды и концентрировали. Остаток очищали путем колоночной хроматографии на силикагеле (элюировали с градиентом смесями петролейный эфир:этилацетат=от 100:1 до 80:1) с получением метил-2-метил-3,4-дигидро-2Н-пиран-2-карбоксилата (70 г, выход 22%) в виде бледно-желтого маслянистого вещества. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): δ 6,38 (d, J=6,4 Гц, 1H), 4,73-4,70 (m, 1H), 3,76 (s, 3H), 2,25-2,22 (m, 1H), 1,99-1,96 (m, 2H), 1,79-1,77 (m, 1H), 1,49 (s, 3H).

Стадия 2. Синтез метил-5-гидрокси-2-метилтетрагидро-2Н-пиран-2-карбоксилата.

В раствор метил-2-метил-3,4-дигидро-2Н-пиран-2-карбоксилата (20,0 г, 128 ммоль) в безводном тетрагидрофуране (200 мл) по каплям добавляли боран (67 мл, 1М в тетрагидрофуране) при -5°C. Реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 3 ч. Прохождение взаимодействия отслеживали путем ТСХ. Реакцию гасили раствором ацетата натрия (10,5 г, 128 ммоль) в воде (15 мл). Затем обрабатывали смесь, медленно добавляя 30% раствор пероксида водорода (23,6 г, 208,2 ммоль) при 0°C, и перемешивали при 30°C в течение 3 ч. Затем разделяли смесь в насыщенном растворе сульфита натрия и тетрагидрофуране. Водный слой дополнительно экстрагировали тетрагидрофураном (2×). Объединенные органические слои промывали насыщенным соевым раствором, сушили над сульфатом натрия и концентрировали в вакууме. Остаток очищали путем колоночной хроматографии на силикагеле (элюировали с градиентом смесями петролейный эфир:этилацетат=от 10:1 до 1:1) с получением неочищенного метил-5-гидрокси-2-метилтетрагидро-2Н-пиран-2-карбоксилата (18 г, неочищенный) в виде бледно-желтого маслянистого вещества, который использовали непосредственно на следующей стадии.

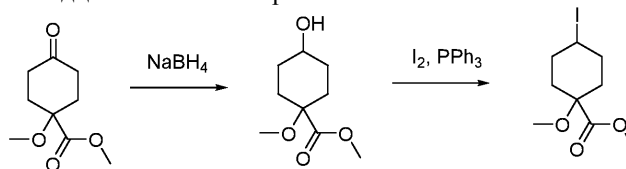
Стадия 3. Синтез метил-2-метил-5-оксотетрагидро-2Н-пиран-2-карбоксилата.

В раствор метил-5-гидрокси-2-метилтетрагидро-2Н-пиран-2-карбоксилата (18,0 г, 103 ммоль) в безводном дихлорметане (200 мл) по частям добавляли PCC (45,0 г, 209 ммоль). Реакционную смесь пере-

мешивали при температуре окружающей среды до тех пор, пока анализ ТСХ не указывал на завершение взаимодействия. Затем добавляли петролейный эфир (500 мл) и фильтровали смесь. Осадок промывали петролейным эфиром (100 мл) и концентрировали фильтрат в вакууме с получением метил-2-метил-5-оксотетрагидро-2Н-пиран-2-карбоксилата (15 г, выход 84%) в виде бледно-желтого маслянистого вещества. ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3): δ 4,25 (d, $J=17,6$ Гц, 1H), 4,07 (d, $J=17,6$ Гц, 1H), 3,81 (s, 3H), 2,52-2,44 (m, 3H), 2,11-2,04 (m, 1H), 1,53 (s, 3H).

Пример 8. Синтез промежуточных йодидов.

А. Метил-1-метокси-4-йодциклогексан-1-карбоксилат



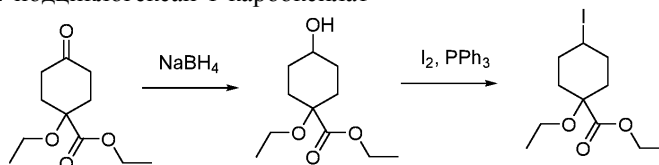
Стадия 1. Синтез метил-1-метокси-4-гидроксициклогексан-1-карбоксилата.

Метил-1-метокси-4-оксоциклогексанкарбоксилат (4,00 г, 21,5 ммоль) растворяли в метаноле (100 мл) и охлаждали раствор до 0°C . По частям добавляли боргидрид натрия (2,03 г, 53,7 ммоль) в течение 20 мин. Реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин, затем гасили реакцию путем добавления насыщенного водного раствора NH_4Cl . После гашения выпаривали реакционную смесь для удаления MeOH , затем экстрагировали водную суспензию ДХМ (3×). Объединенные органические слои сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали с получением остатка, который очищали путем колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (элюировали с градиентом от 5 до 100% смесями этилацетат-гексаны) с получением метил-1-метокси-4-гидроксициклогексан-1-карбоксилата (2,00 г, 49,5%) в виде бесцветного маслянистого вещества. МС (ИЭР $^+$) $\text{C}_9\text{H}_{16}\text{O}_4$, расчет: 188, эксперимент: 211 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

Стадия 2. Синтез метил-1-метокси-4-йодциклогексан-1-карбоксилата.

Метил-1-метокси-4-гидроксициклогексан-1-карбоксилат (2,00 г, 10,6 ммоль) растворяли в ТГФ (20 мл) и добавляли имидазол (723 мг, 10,6 ммоль) и трифенилфосфин (3,34 г, 12,8 ммоль). Смесь охлаждали до 0°C и затем по каплям добавляли раствор йода (3,24 г, 12,8 ммоль) в ТГФ (10 мл) в течение 15 мин. Реакционную смесь оставляли нагреваться до температуры окружающей среды и затем перемешивали в течение 2 дней, после чего выливали в насыщенный раствор тиосульфата натрия и экстрагировали EtOAc . Органический слой сушили над сульфатом натрия, фильтровали, концентрировали и растирали остаток с гексаном (40 мл, перемешивали в течение 20 мин). Фильтровали смесь и упаривали фильтрат с получением остатка, который очищали путем колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (элюировали с градиентом от 0 до 30% смесями этилацетат-гексаны) с получением титульного соединения (2,37 г, 75%) в виде бледно-желтого маслянистого вещества. МС (ИЭР $^+$) $\text{C}_9\text{H}_{15}\text{IO}_3$, расчет: 298, эксперимент: 299 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

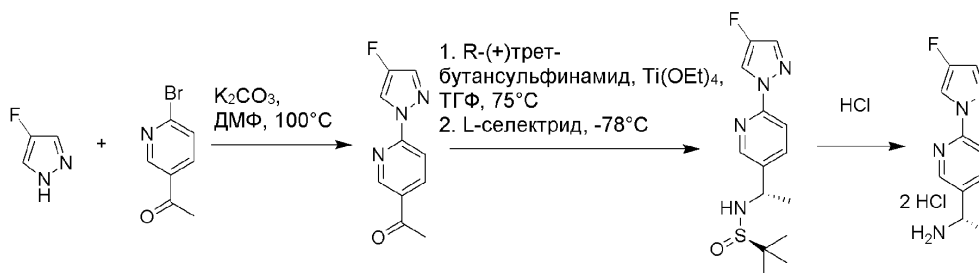
В. Этил-1-этокс-4-йодциклогексан-1-карбоксилат



Титульное соединение получали согласно приведенному выше описанию с использованием этил-1-этокс-4-оксоциклогексан-1-карбоксилата в качестве исходного вещества. $\text{C}_{11}\text{H}_{19}\text{IO}_3$, расчет: 326, эксперимент: 327 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Пример 9. Синтез промежуточных аминов.

А. (S)-1-(6-(4-фтор-1Н-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)этан-1-амин



Стадия 1. Синтез 1-(6-(4-фтор-1Н-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)этан-1-она.

Объединяли 4-фтор-1Н-пиразол (4,73 г, 55 ммоль) и карбонат калия (17,27 г, 125 ммоль) и перемешивали в N,N-диметилформамиде (41,7 мл) в течение 10 мин в открытой герметичной пробирке, после чего добавляли 2-бром-5-ацетилпиридин (10 г, 50 ммоль). Закрывали реакционную пробирку и перемешивали в течение 20 ч при 100°C . Затем охлаждали реакционную смесь до комнатной температуры и

выливали в воду (~700 мл). Обработывали смесь ультразвуком и перемешивали в течение 20 мин, после чего выделяли бежевое твердое вещество путем фильтрования, промывали небольшим количеством воды и сушили с получением 1-(6-(4-фтор-1Н-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)этан-1-она (9,81 г, выход 96%). МС: $M+1=206,0$.

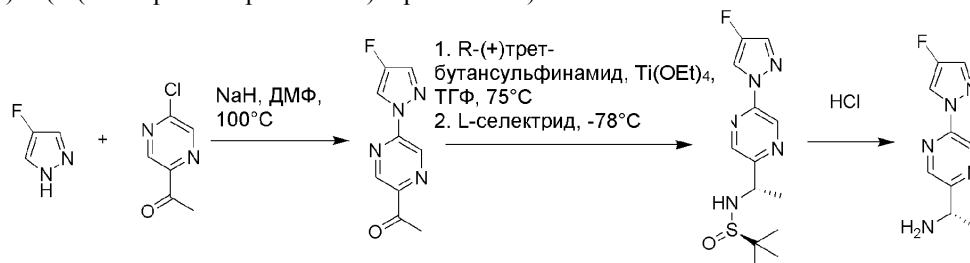
Стадия 2. Синтез (R)-N-((S)-1-(6-(4-фтор-1Н-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)этил)-2-метилпропан-2-сульфинамида.

В перемешиваемый при комнатной температуре раствор 1-(6-(4-фтор-1Н-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)этан-1-она (9,806 г, 47,8 ммоль) в ТГФ (96 мл) добавляли (R)-(+)-трет-бутилсульфинамид (5,79 г, 47,8 ммоль), затем этюксид титана (IV) (21,8 г, 96 ммоль). Перемешивали раствор при 75°C на масляной бане в течение 15 ч. Реакционный раствор охлаждали до комнатной температуры и затем до -78°C (внешняя температура) перед началом следующей стадии. В выдерживаемый при -78°C раствор по каплям в течение примерно 55 мин добавляли L-селектрид (143 мл 1н. в ТГФ, 143 ммоль). Во время добавления наблюдали выделение газа. После завершения добавления реакционную смесь перемешивали в течение 15 мин при -78°C, после чего нагревали до комнатной температуры. Анализ ЖХ-МС образца, который отбирали при удалении из охлаждающей бани, указывал на завершение взаимодействия. Реакционную смесь охлаждали до -50°C и медленно гасили реакцию метанолом (~10 мл), затем выливали смесь в воде (600 мл) и перемешивали. Удаляли беловатый осадок путем фильтрования, для промывки использовали этилацетат. Фильтрат разбавляли этилацетатом (800 мл), разделяли слои и сушили органический слой над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Неочищенный остаток очищали путем хроматографии на силикагеле с получением (R)-N-((S)-1-(6-(4-фтор-1Н-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)этил)-2-метилпропан-2-сульфинамида (10,5 г, чистота 99%, выход 70,3%) в виде светло-желтого твердого вещества. МС: $M+1=311,1$.

Стадия 3. Синтез (S)-1-(6-(4-фтор-1Н-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)этан-1-амина.

Раствор (R)-N-((S)-1-(6-(4-фтор-1Н-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)этил)-2-метилпропан-2-сульфинамида (10,53 г, 33,9 ммоль) в метаноле (79 ммоль) и 4н. растворе HCl/диоксан (85 мл, 339 ммоль) перемешивали в течение 2,5 ч, после чего анализ ЖХ-МС указывал на завершение взаимодействия. Реакционную смесь выливали в диэтиловый эфир (300 мл), образовывалось липкое твердое вещество. Смесь обрабатывали этилацетатом (200 мл) и ультразвуком. Декантировали растворители и липкое твердое вещество обрабатывали дополнительным количеством этилацетата (~200 мл), ультразвуком и перемешивали. Основная часть липкого твердого вещества переходила в суспензию. Выделяли светло-желтое твердое вещество путем фильтрования, промывали небольшим количеством этилацетата и сушили с получением (S)-1-(6-(4-фтор-1Н-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)этан-1-амина (7,419 г, выход 78%). Анализ ЖХ-МС подтверждал высокую чистоту целевого продукта. МС: $M+1=207,1$.

В. (S)-1-(5-(4-Фтор-1Н-пиразол-1-ил)пиазин-2-ил)этан-1-амин



Стадия 1. Синтез 1-(5-(4-фтор-1Н-пиразол-1-ил)пиазин-2-ил)этан-1-она.

В смесь 1-(5-хлорпиазин-2-ил)этанона (800 мг, 5,11 ммоль) и 4-фтор-1Н-пиразола (484 мг, 5,62 ммоль) в N,N-диметилформамиде (6,0 мл) добавляли гидрид натрия (60 мас.%, 276 мг, 6,90 ммоль) при температуре окружающей среды в течение 10 мин. Затем выливали реакционную смесь в воду (70 мл) и обрабатывали ультразвуком и перемешивали в течение 20 мин. Выделяли темно-красное твердое вещество путем фильтрования, промывали небольшим количеством воды и сушили с получением 1-(5-(4-фтор-1Н-пиразол-1-ил)пиазин-2-ил)этан-1-она (919 мг, выход 95%). МС: $M+1=207$.

Стадия 2. Синтез (R)-N-((S)-1-(5-(4-фтор-1Н-пиразол-1-ил)пиазин-2-ил)этил)-2-метилпропан-2-сульфинамида.

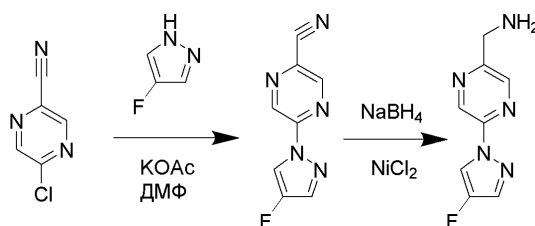
В перемешиваемый при комнатной температуре раствор 1-(5-(4-фтор-1Н-пиразол-1-ил)пиазин-2-ил)этан-1-она (4,67 г, 22,7 ммоль) в ТГФ (45 мл) добавляли (R)-(+)-трет-бутилсульфинамид (2,75 г, 22,7 ммоль), затем этюксид титана (IV) (10,3 г, 45,3 ммоль). Перемешивали раствор при 75°C на масляной бане в течение 20 ч. Реакционный раствор охлаждали до комнатной температуры и затем до -78°C перед началом следующей стадии. В выдерживаемый при -78°C раствор по каплям в течение 50 мин добавляли L-селектрид (50,1 мл 1н. в ТГФ, 50,1 ммоль). Во время добавления наблюдали выделение газа. После завершения добавления реакционную смесь перемешивали в течение 15 мин, после чего нагревали до комнатной температуры. Анализ ЖХ-МС образца, который отбирали при удалении из охлаждающей бани, указывал на завершение взаимодействия. Реакционную смесь охлаждали до -60°C и медленно гасили реакцию метанолом (1 мл), затем выливали смесь в воде (100 мл) и перемешивали. Фильтровали смесь и

дополнительно промывали твердые вещества этилацетатом. Фильтрат разбавляли этилацетатом и сушили органический слой над сульфатом натрия, фильтровали, концентрировали и очищали полученный остаток путем колоночной флэш-хроматографии (элюировали с градиентом от 0 до 100% смесями этилацетат-дихлорметан) с получением (R)-N-((S)-1-(5-(4-фтор-1H-пиразол-1-ил)пиразин-2-ил)этил)-2-метилпропан-2-сульфинамида (1,04 г, 14%) в виде коричневого твердого вещества. МС: $M+1=312$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 9,12 (d, $J=1,4$ Гц, 1H), 8,73 (d, $J=4,5$ Гц, 1H), 8,59 (d, $J=1,4$ Гц, 1H), 8,03 (d, $J=4,1$ Гц, 1H), 5,69 (d, $J=5,7$ Гц, 1H), 4,62 (p, $J=6,8$ Гц, 3H), 1,57 (d, $J=6,9$ Гц, 3H), 1,12 (s, 9H).

Стадия 3. Синтез (S)-1-(5-(4-фтор-1H-пиразол-1-ил)пиразин-2-ил)этан-1-амина.

Раствор (R)-N-((S)-1-(5-(4-фтор-1H-пиразол-1-ил)пиразин-2-ил)этил)-2-метилпропан-2-сульфинамида (1,04 г, 3,34 ммоль) в метаноле (7,8 мл) и 4н. раствора HCl/диоксан (8,34 мл, 33,4 ммоль) перемешивали в течение 1,5 ч при температуре окружающей среды. Реакционную смесь выливали в диэтиловый эфир (100 мл) и выделяли светло-бежевое твердое вещество путем фильтрования с получением (S)-1-(5-(4-фтор-1H-пиразол-1-ил)пиразин-2-ил)этан-1-амина (689 мг, выход 85%). МС: $M+1=208$.

С. (5-(4-фтор-1H-пиразол-1-ил)пиразин-2-ил)метанамин



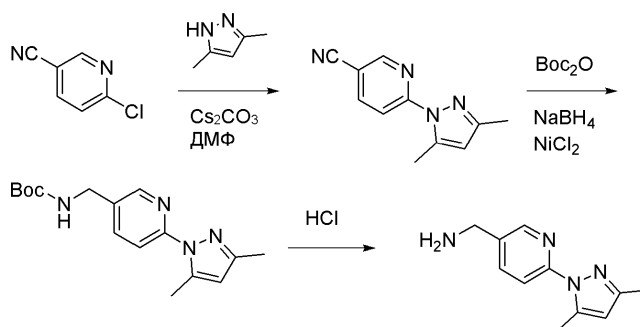
Стадия 1. Синтез 5-(4-фтор-1H-пиразол-1-ил)пиразин-2-карбонитрила.

В раствор 5-хлорпиразин-2-карбонитрила (280 мг, 2,0 ммоль) в ДМФ добавляли 4-фтор-1H-пиразол (170 мг, 2,0 ммоль) и ацетат калия (395 мг, 4,0 ммоль). Смесь перемешивали при 100°C в течение 4 ч, затем охлаждали до 20°C, выливали в солевой раствор (25 мл) и экстрагировали этилацетатом. Органический слой сушили над сульфатом натрия, концентрировали и очищали путем колоночной хроматографии (гексан:этилацетат=5:1) с получением 5-(4-фтор-1H-пиразол-1-ил)пиразин-2-карбонитрила (310 мг, 82%). Структуру подтверждали путем ЖХ-МС.

Стадия 2. Синтез (5-(4-фтор-1H-пиразол-1-ил)пиразин-2-ил)метанамина.

В смесь 5-(4-фтор-1H-пиразол-1-ил)пиразин-2-карбонитрила (190 мг, 1,0 ммоль) и NiCl_2 (12 мг, 0,1 ммоль) в MeOH (5 мл) добавляли NaBH_4 (380 мг, 10 ммоль) при 0°C. Смесь перемешивали при 0°C в течение 2 ч, гасили реакцию водным NH_4Cl и очищали путем ВЭЖХ с получением (5-(4-фтор-1H-пиразол-1-ил)пиразин-2-ил)метанамина (160 мг, выход 82%). Структуру подтверждали путем ЖХ-МС.

Д. (6-(3,5-Диметил-1H-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)метанамин



Стадия 1. Синтез 6-(3,5-диметил-1H-пиразол-1-ил)никотинитрила.

В раствор 6-хлорникотинитрила (300 мг, 2,2 ммоль) в ДМФ (10 мл) добавляли 3,5-диметил-1H-пиразол (210 мг, 2,2 ммоль) и Cs_2CO_3 (1,4 г, 4,4 ммоль) и перемешивали смесь при 90°C в течение 16 ч. Затем разбавляли смесь H_2O (25 мл) и фильтровали. Промывали твердые вещества водой и сушили в вакууме с получением 6-(3,5-диметил-1H-пиразол-1-ил)никотинитрила (320 мг, 74,6%).

Стадия 2. Синтез трет-бутил-((6-(3,5-диметил-1H-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)метил)карбамата.

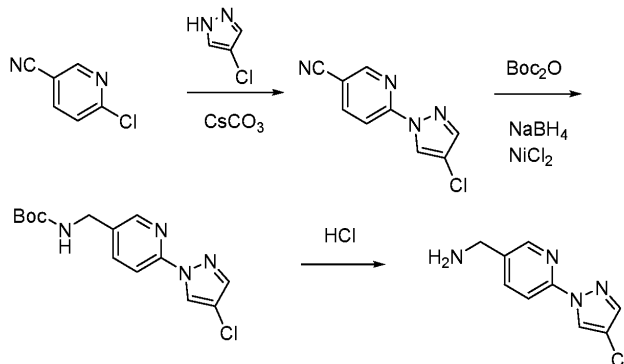
К 6-(3,5-диметил-1H-пиразол-1-ил)никотинитрилу (300 мг, 1,5 ммоль) в MeOH (10 мл) добавляли NiCl_2 (19 мг, 0,15 ммоль), $(\text{Boc})_2\text{O}$ (654 мг, 3,0 ммоль) и NaBH_4 (142 мг, 3,8 ммоль) и перемешивали смесь при температуре окружающей среды в течение 3 ч. Добавляли насыщенный водный раствор хлорида аммония и удаляли MeOH в вакууме. Водную суспензию разделяли в этилацетате и промывали органический слой насыщенным раствором бикарбоната натрия (2×50 мл), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали в вакууме с получением 450 мг целевого соединения, которое использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

Стадия 3. Синтез (6-(3,5-диметил-1H-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)метанамина.

К трет-бутил-((6-(3,5-диметил-1H-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)метил)карбамату (450 мг) добавляли

раствор HCl в диоксане (4,0М, 10 мл) и перемешивали смесь в течение 2 ч. Затем концентрировали смесь при пониженном давлении с получением титульного соединения (350 мг) в виде светло-коричневого твердого вещества, которое использовали далее без дополнительной очистки. ^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 8,51 (d, $J=2,1$ Гц, 1H), 8,34 (s, 3H), 8,03 (dd, $J=8,5, 2,4$ Гц, 1H), 7,87 (d, $J=8,5$ Гц, 1H), 6,14 (s, 1H), 4,12 (q, $J=5,7$ Гц, 2H), 2,59 (s, 3H), 2,21 (s, 3H).

Е. (6-(4-Хлор-1Н-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)метанами́н



Стадия 1. Синтез 6-(4-хлор-1Н-пиразол-1-ил)никотинонитрила.

В раствор 6-хлорникотинонитрила (300 мг, 2,2 ммоль) в ДМФ (10 мл) добавляли 4-хлор-1Н-пиразол (227 мг, 2,2 ммоль) и Cs_2CO_3 (1,4 г, 4,4 ммоль) и перемешивали смесь при 90°C в течение 16 ч.

Затем разбавляли смесь H_2O (25 мл) и фильтровали. Промывали твердые вещества H_2O и сушили в вакууме с получением 6-(4-хлор-1Н-пиразол-1-ил)никотинонитрила (380 мг, 84%), который использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

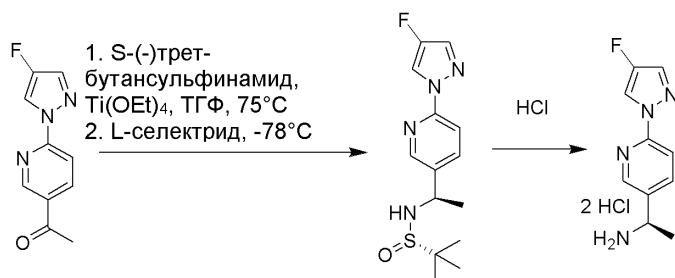
Стадия 2. Синтез трет-бутил-((6-(4-хлор-1Н-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)метил)карбамата.

К 6-(4-хлор-1Н-пиразол-1-ил)никотинонитрилу (350 мг, 1,7 ммоль) в MeOH (10 мл) добавляли NiCl_2 (19 мг, 0,17 ммоль), $(\text{Boc})_2\text{O}$ (741 мг, 3,4 ммоль) и NaBH_4 (163 мг, 4,3 ммоль) и перемешивали смесь при температуре окружающей среды в течение 3 ч. Добавляли насыщенный водный раствор NH_4Cl и удаляли MeOH в вакууме. Затем разделяли водную суспензию в EtOAc и промывали органический слой насыщенным раствором бикарбоната натрия (2×50 мл), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали в вакууме с получением 480 мг титульного соединения, которое использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

Стадия 3. Синтез (6-(4-хлор-1Н-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)метанамина.

К трет-бутил-((6-(4-хлор-1Н-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил) метил) карбамату (450 мг, 1,5 ммоль) добавляли раствор HCl в диоксане (4,0М, 10 мл) при температуре окружающей среды. Смесь перемешивали в течение 2 ч, затем концентрировали при пониженном давлении с получением титульного соединения (290 мг) в виде светло-коричневого твердого вещества, которое использовали без дополнительной очистки. МС: $M+1=209$.

Ф. (R)-1-(6-(4-Фтор-1Н-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)этан-1-амин



Стадии 1-3. (R)-1-(6-(4-фтор-1Н-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)этан-1-амин.

Титульное соединение получали из 1-(6-(4-фтор-1Н-пиразол-1-ил)пиридин-3-ил)этан-1-она при помощи той же последовательности реакций, что описаны при получении S-энантиомера соединения, с тем исключением, что (R)-(-)-трет-бутилсульфинамид заменяли на (S)-(-)-трет-бутилсульфинамид в качестве хирального вспомогательного вещества. МС (ИЭР^+) $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{FN}_4$, расчет: 206, эксперимент: 207 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Протоколы синтеза, которые можно применять для получения соединений, описанных в настоящем документе, указаны ниже. Данные ЯМР и ЖХ-МС, полученные для соединений, описанных в настоящем документе, также показаны ниже

Номер соедине ния	Протокол синтеза	¹ H ЯМР	МС (M+1)
100	2	¹ H ЯМР (400 МГц, ДМСО- <i>d</i> 6) δ 8,56 (s, 1H), 8,44 (s, 1H), 8,35 (s, 1H), 7,85 (s, 2H), 7,81 (s, 1H), 6,66 (d, $J=15,8$ Гц, 1H), 6,57 (s, 1H), 4,36 (s, 2H), 3,17 (s, 3H), 2,21 (d, $J=29,3$ Гц, 3H), 2,06 (d, $J=13,0$ Гц, 4H), 1,80 (s, 2H), 1,63 (s, 2H).	472
101	2	¹ H ЯМР (400 МГц, ДМСО) δ 8,61 (d, $J=2,5$ Гц, 1H), 8,46 (d, $J=6,0$ Гц, 1H), 8,36 (s, 1H), 7,91 (d, $J=8,4$ Гц, 1H), 7,87-7,84 (m, 1H), 7,82 (s, 1H), 6,72-6,66 (m, 1H), 6,59-6,57 (m, 1H), 4,34 (d, $J=5,8$ Гц, 2H), 3,17 (s, 3H), 2,27 (s, 3H), 2,04 (s, 2H), 1,96 (d, $J=11,6$ Гц, 2H), 1,59 (dd, $J=27,2, 14,4$ Гц, 4H).	472
102	2	¹ H ЯМР (400 МГц, ДМСО) δ 8,56 (s, 1H), 8,44 (s, 1H), 8,35 (s, 1H), 7,83 (d, $J=15,0$ Гц, 3H), 6,66 (d, $J=15,8$ Гц, 1H), 6,57 (s, 1H), 4,36 (s, 1H), 3,17 (s, 3H), 2,42 (s, 2H), 2,21 (d, $J=29,3$ Гц, 3H), 2,06 (d, $J=13,0$ Гц, 4H), 1,78 (d, $J=16,2$ Гц, 2H), 1,63 (s, 2H).	486

103	2	¹ H ЯМР (400 МГц, ДМСО- <i>d</i> 6) δ 8,61 (d, <i>J</i> =2,5 Гц, 1H), 8,46 (d, <i>J</i> =6,0 Гц, 1H), 8,36 (s, 1H), 7,92-7,82 (m, 3H), 6,72-6,66 (m, 1H), 6,58-6,57 (m, 1H), 4,33 (s, 1H), 3,17 (s, 3H), 2,42 (s, 2H), 2,27 (s, 3H), 2,06-1,94 (m, 4H), 1,56 (dd, <i>J</i> =28,0, 12,9 Гц, 4H).	486
104	2	¹ H ЯМР (400 МГц, ДМСО- <i>d</i> 6) δ 14,03 (s, 1H), 12,33 (s, 1H), 8,70-8,31 (m, 4H), 7,86 (d, <i>J</i> =30,5 Гц, 3H), 6,57 (s, 1H), 4,34 (s, 2H), 2,82 (s, 1H), 2,41 (s, 3H), 2,21 (s, 5H), 1,94 (d, <i>J</i> =12,4 Гц, 1H), 1,67 (dd, <i>J</i> =45,4, 19,9 Гц, 5H), 1,24 (s, 1H), 0,94 (d, <i>J</i> =6,4 Гц, 3H).	486
105	2	¹ H ЯМР (400 МГц, ДМСО- <i>d</i> 6) δ 8,64 (s, 1H), 8,46 (s, 1H), 8,35 (s, 1H), 7,92 (d, <i>J</i> =4,2 Гц, 1H), 7,86 (d, <i>J</i> =6,5 Гц, 2H), 6,66 (d, <i>J</i> =21,2 Гц, 1H), 4,36 (s, 2H), 2,91 (s, 1H), 2,42 (s, 2H), 2,21 (d, <i>J</i> =33,5 Гц, 3H), 2,07 (dd, <i>J</i> =14,5, 7,1 Гц, 4H), 1,80 (s, 2H), 1,64 (d, <i>J</i> =11,5 Гц, 2H).	490
106	2	¹ H ЯМР (400 МГц, ДМСО- <i>d</i> 6) δ 11,55 (s, 1H), 11,24 (s, 1H), 8,90 (d, <i>J</i> =5,0 Гц, 1H), 8,44 (s, 1H), 8,33 (s, 1H), 8,01-7,95 (m, 0H), 7,81-7,78 (m, 1H), 6,68 (s, 1H), 6,10 (s, 1H), 5,93 (s, 1H), 4,35 (s, 2H), 2,91 (s, 0H), 2,54 (s, 1H), 2,44 (d, <i>J</i> =20,0 Гц, 2H), 2,22 (d, <i>J</i> =22,8 Гц, 5H), 2,13-1,96 (m, 4H), 1,79 (d, <i>J</i> =8,4 Гц, 2H), 1,62 (s, 2H).	500

107	1	¹ H ЯМР (400 МГц, ДМСО- <i>d</i> 6) δ 14,57 (s, 1H), 12,87 (s, 1H), 11,57 (s, 1H), 8,61 (d, $J=2,5$ Гц, 1H), 8,47-8,35 (m, 2H), 7,94-7,85 (m, 2H), 7,82 (d, $J=1,0$ Гц, 1H), 7,11 (s, 1H), 6,95 (s, 1H), 6,58 (dd, $J=2,5$, 1,7 Гц, 1H), 6,02 (s, 1H), 5,92 (s, 1H), 4,40-4,29 (m, 2H), 2,45 (s, 3H), 2,31 (s, 1H), 2,27 (s, 3H), 2,05-1,96 (m, 2H), 1,93-1,81 (m, 3H), 1,54 (d, $J=9,9$ Гц, 1H), 0,98 (d, $J=7,2$ Гц, 3H).	501
111	2	¹ H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> 6) δ 11,85 (s, 1H), 9,43 (s, 1H), 8,64 (d, $J=4,5$ Гц, 1H), 8,35 (d, $J=2,2$ Гц, 1H), 8,20 (d, $J=7,7$ Гц, 1H), 7,92-7,81 (m, 3H), 6,79 (s, 1H), 6,17 (s, 1H), 5,02-4,92 (m, 1H), 2,72 (s, 1H), 2,41-2,31 (m, 1H), 2,27-2,12 (m, 8H), 1,83-1,48 (m, 6H), 1,38 (d, $J=7,1$ Гц, 3H).	504
113	2	¹ H ЯМР (400 МГц, ДМСО- <i>d</i> 6) δ 11,55 (s, 0H), 11,23 (s, 0H), 8,83 (d, $J=4,8$ Гц, 0H), 8,74 (s, 0H), 8,46 (s, 0H), 8,36 (s, 0H), 7,95 (s, 0H), 7,90-7,81 (m, 1H), 4,63-4,48 (m, 0H), 4,36 (s, 1H), 2,91 (s, 0H), 2,55 (s, 0H), 2,44 (d, $J=17,9$ Гц, 1H), 2,20 (d, $J=32,7$ Гц, 1H), 2,12-1,85 (m, 1H), 1,62 (s, 1H).	506
114	1	¹ H ЯМР (400 МГц, ДМСО- <i>d</i> 6) δ 14,60 (s, 1H), 12,88 (s, 1H), 11,53 (s, 1H), 8,61 (m, 1H), 8,36 (dd, $J=12,9$, 7,1 Гц, 2H), 7,90 (m, 2H), 7,82 (d, $J=1,0$ Гц, 1H), 7,12 (s, 1H), 6,94 (s, 1H), 6,58 (dd, $J=2,5$, 1,7 Гц, 1H), 6,02	515

		(s, 1H), 5,91 (s, 1H), 4,40 (dd, $J=15,2$, 5,9 Гц, 2H), 4,30 (m, 2H), 2,45 (s, 3H), 2,27 (s, 3H), 2,17 (d, $J=9,7$ Гц, 3H), 1,83 (d, $J=21,1$ Гц, 2H), 1,66 (t, $J=16,3$ Гц, 2H), 1,13 (s, 3H), 0,94 (s, 3H).	
116	2	^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 13,88 (s, 1H), 12,46 (s, 1H), 11,37 (d, $J=120,9$ Гц, 1H), 8,69 (d, $J=4,4$ Гц, 1H), 8,50-8,36 (m, 2H), 7,98-7,86 (m, 2H), 7,59 (s, 0,5H), 6,86 (d, $J=27,8$ Гц, 1H), 6,66 (s, 0,5H), 5,91 (s, 0,5H), 5,00 (s, 1H), 2,82 (s, 1H), 2,43 (d, $J=20,6$ Гц, 3H), 2,22 (s, 3H), 2,11 (s, 1H), 2,04-1,84 (m, 2H), 1,82-1,57 (m, 3H), 1,54 (d, $J=12,6$ Гц, 1H), 1,42 (d, $J=5,1$ Гц, 3H), 1,24 (s, 1H), 1,01 (d, $J=6,8$ Гц, 1H), 0,80 (s, 1H)	518
119	1	^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ ppm 11,63 (s, 1H), 8,85 (s, 1H), 8,65 (d, 1H, $J=4,4$ Гц), 8,36 (d, 1H, $J=2,0$ Гц), 8,25 (d, 1H, $J=7,2$ Гц), 7,92-7,83 (m, 3H), 6,79 (s, 1H), 6,66 (s, 1H), 6,24 (s, 1H), 5,00 (q, 1H, $J=7,2$ Гц), 4,81 (s, 1H), 2,49-2,30 (m, 3H), 2,18 (s, 3H), 2,16 (s, 3H), 1,85-1,53 (m, 4H), 1,50-1,34 (m, 5H).	519
124	2	^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 13,84 (s, 1H), 12,40 (d, $J=48,8$ Гц, 1H), 11,52 (s, 1H), 8,68 (d, $J=3,2$ Гц, 1H), 8,41 (t, $J=11,2$ Гц, 2H), 7,93 (dd, $J=8,4$, 2,1 Гц, 2H), 7,89 (dd, $J=8,3$, 5,2 Гц, 1H), 6,92 (d, $J=24,0$ Гц, 1H), 6,65 (s, 1H), 4,98 (s, 1H), 3,00 (s, 1H), 2,40 (s, 6H), 2,22 (s,	532

		¹ H ЯМР (400 МГц, ДМСО- <i>d</i> 6) δ 14,54 (s, 1H), 12,87 (s, 1H), 11,61 (s, 1H), 8,68 (d, J=4,5 Гц, 1H), 8,41 (dd, J=6,4, 2,0 Гц, 1H), 8,31 (dd, J=28,8, 7,8 Гц, 1H), 7,97-7,86 (m, 3H), 7,09 (s, 1H), 6,96 (s, 1H), 5,92 (d, J=3,7 Гц, 1H), 5,04 (d, J=7,3 Гц, 1H), 2,46 (s, 3H), 2,32 (s, 1H), 2,27 (d, J=5,1 Гц, 3H), 2,12-1,77 (m, 6H), 1,49 (d, J=10,0 Гц, 1H), 1,42 (d, J=7,0 Гц, 3H), 1,03 (s, 1H), 0,84 (d, J=7,2 Гц, 2H).	
128	1	¹ H ЯМР (400 МГц, ДМСО- <i>d</i> 6) δ 14,54 (s, 1H), 12,87 (s, 1H), 11,61 (s, 1H), 8,68 (d, J=4,5 Гц, 1H), 8,41 (dd, J=6,4, 2,0 Гц, 1H), 8,31 (dd, J=28,8, 7,8 Гц, 1H), 7,97-7,86 (m, 3H), 7,09 (s, 1H), 6,96 (s, 1H), 5,92 (d, J=3,7 Гц, 1H), 5,04 (d, J=7,3 Гц, 1H), 2,46 (s, 3H), 2,32 (s, 1H), 2,27 (d, J=5,1 Гц, 3H), 2,12-1,77 (m, 6H), 1,49 (d, J=10,0 Гц, 1H), 1,42 (d, J=7,0 Гц, 3H), 1,03 (s, 1H), 0,84 (d, J=7,2 Гц, 2H).	534
129	3	¹ H ЯМР (400 МГц, ДМСО- <i>d</i> 6) δ 11,85 (s, 1H), 9,46 (s, 1H), 8,65 (d, J=4,5 Гц, 1H), 8,48-8,35 (m, 2H), 7,96 (dd, J=8,5, 2,3 Гц, 1H), 7,89 (d, J=4,2 Гц, 1H), 7,84 (d, J=8,5 Гц, 1H), 6,77 (s, 1H), 6,15 (s, 1H), 5,12-5,02 (m, 1H), 3,06 (s, 3H), 2,67 (t, J=6,4 Гц, 1H), 2,20 (s, 3H), 2,16 (s, 5H), 1,95 (dd, J=28,8, 9,8 Гц, 2H), 1,87-1,76 (m, 2H), 1,58-1,38 (m, 5H).	534
130	3	¹ H ЯМР (500 МГц, ДМСО- <i>d</i> 6) δ 11,89 (s, 1H), 9,51 (шир.s, 1H), 8,68 (dd, J=4,5, 0,7 Гц, 1H), 8,46 (d, J=8,5 Гц, 1H), 8,44 (d, J=2,3 Гц, 1H), 7,99 (dd, J=8,5, 2,3 Гц, 1H), 7,91 (dd, J=4,4, 0,8 Гц, 1H), 7,88 (d, J=8,6 Гц, 1H), 6,86 (шир.s, 1H), 6,20 (шир.s, 1H), 5,06 (dq, J=7,8,	534

		7,6 Гц, 1H), 3,14 (s, 3H), 2,58 (шир. t, J=12 Гц, 1H), 2,24 (s, 3H), 2,21 (s, 3H), 1,99 (шир. d, J=12,1 Гц, 1H), 1,93 (dd, J=13,8, 2,4 Гц, 1H), 1,88-1,69 (m, 5H), 1,63 (td, J=14, 4 Гц, 1H), 1,47 (d, J=7,1 Гц, 3H).	
131	3	¹ H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d ₆) δ 11,88 (s, 1H), 9,51 (s, 1H), 9,12 (d, J=1,4 Гц, 1H), 8,73 (d, J=4,4 Гц, 1H), 8,51 (d, J=1,4 Гц, 1H), 8,41 (d, J=8,0 Гц, 1H), 8,02 (d, J=4,1 Гц, 1H), 6,85 (s, 1H), 6,18 (s, 1H), 5,18-5,07 (m, 1H), 3,17 (s, 3H), 2,64-2,52 (m, 1H), 2,23 (s, 3H), 2,19 (s, 3H), 2,02-1,91 (m, 2H), 1,89-1,61 (m, 6H), 1,49 (d, J=7,1 Гц, 3H).	535
135	1	¹ H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d ₆) δ 14,58 (m, 1H), 12,89 (m, 2H), 11,52 (s, 1H), 8,69 (t, J=4,3 Гц, 1H), 8,43 (d, J=2,0 Гц, 1H), 8,27 (m, 1H), 7,97 (m, 4H), 7,59 (m, 1H), 7,06 (s, 1H), 6,95 (s, 1H), 5,98 (s, 1H), 5,91 (s, 1H), 5,06 (dd, J=13,5, 7,0 Гц, 1H), 2,46 (s, 3H), 2,27 (s, 3H), 2,17 (s, 2H), 1,83 (d, J=29,4 Гц, 2H), 1,62 (s, 2H), 1,52 (d, J=7,0 Гц, 1H), 1,44 (d, J=7,1 Гц, 3H), 1,16 (s, 1H), 1,04 (s, 2H), 1,02 (s, 1H), 0,88 (s, 2H).	547
136	3	¹ H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d ₆) δ 11,89 (s, 1H), 9,53 (s, 1H), 8,67 (d, J=4,4 Гц, 1H), 8,41 (d, J=2,2 Гц, 1H), 8,28 (d, J=8,2 Гц, 1H), 7,98 (dd, J=8,5, 2,3 Гц, 1H), 7,93-7,80 (m, 2H), 6,74 (s, 1H), 6,28 (s, 1H), 5,09-4,95 (m, 1H),	548

		3,28-3,20 (m, 2H), 2,61-2,51 (m, 1H), 2,22 (s, 3H), 2,19 (s, 3H), 2,02-1,91 (m, 2H), 1,90-1,78 (m, 2H), 1,71 (d, $J=10,4$ Гц, 3H), 1,63-1,51 (m, 1H), 1,45 (d, $J=7,1$ Гц, 3H), 1,21 (t, $J=6,9$ Гц, 3H).	
137	1	^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 11,71 (s, 1H), 8,91 (s, 1H), 8,64 (d, $J=4,5$ Гц, 1H), 8,48-8,36 (m, 2H), 7,97 (dd, $J=8,5$, 2,3 Гц, 1H), 7,89 (d, $J=4,2$ Гц, 1H), 7,83 (d, $J=8,5$ Гц, 1H), 6,70 (s, 1H), 6,68 (s, 1H), 6,17 (s, 1H), 5,17-5,08 (m, 1H), 4,88 (s, 1H), 3,08 (s, 3H), 2,25-2,15 (m, 7H), 2,02-1,73 (m, 6H), 1,59-1,48 (m, 2H), 1,45 (d, $J=7,0$ Гц, 3H).	549
138	1	^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 11,67 (s, 1H), 8,96 (s, 1H), 8,68 (d, $J=4,5$ Гц, 1H), 8,48 (d, $J=8,3$ Гц, 1H), 8,43 (d, $J=2,2$ Гц, 1H), 7,99 (dd, $J=8,6$, 2,3 Гц, 1H), 7,94-7,81 (m, 2H), 6,77 (s, 1H), 6,67 (s, 1H), 6,39 (s, 1H), 5,09-5,01 (m, 1H), 4,84 (s, 1H), 3,18 (s, 3H), 2,29-2,03 (m, 9H), 1,97 (td, $J=13,7$, 3,5 Гц, 1H), 1,72 (dd, $J=20,5$, 14,9 Гц, 2H), 1,46 (d, $J=7,0$ Гц, 3H), 1,40-1,26 (m, 2H).	549
141	1	^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 11,64 (s, 1H), 9,01 (s, 1H), 8,64 (d, $J=4,5$ Гц, 1H), 8,55 (d, $J=8,3$ Гц, 1H), 8,40 (d, $J=2,3$ Гц, 1H), 7,97 (dd, $J=8,5$, 2,4 Гц, 1H), 7,89 (d, $J=4,2$ Гц, 1H), 7,84 (d, $J=8,5$ Гц, 1H), 6,78 (s, 1H), 6,66 (s, 1H), 6,27 (s, 1H), 5,14 (t, $J=7,5$ Гц, 1H), 3,10 (s, 3H), 2,45-2,29 (m,	551

		2H), 2,20 (s, 3H), 2,16 (s, 3H), 2,14-2,01 (m, 2H), 1,91-1,68 (m, 4H), 1,46 (d, J=7,1 Гц, 3H).	
142	1	¹ H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d ₆) δ 11,71 (s, 1H), 9,11 (s, 1H), 8,67 (d, J=4,5 Гц, 1H), 8,56 (d, J=8,3 Гц, 1H), 8,43 (d, J=2,2 Гц, 1H), 7,99 (dd, J=8,5, 2,3 Гц, 1H), 7,93-7,84 (m, 2H), 6,77 (s, 1H), 6,63 (s, 1H), 6,32 (s, 1H), 5,10-5,13 (m, 1H), 3,20 (s, 3H), 2,43-2,15 (m, 8H), 2,06-1,81 (m, 4H), 1,78-1,61 (m, 2H), 1,47 (d, J=7,1 Гц, 3H).	551
144	2	¹ H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d ₆) δ 11,89 (s, 1H), 9,48 (s, 1H), 8,67 (d, J=4,5 Гц, 1H), 8,49-8,30 (m, 2H), 7,96-7,77 (m, 3H), 7,09 (d, J=7,4, 1H), 6,81 (s, 1H), 6,19 (s, 1H), 5,01 (q, J=7,0 Гц, 1H), 3,16 (d, J=4,9 Гц, 1H), 2,75 (t, J=18,9 Гц, 1H), 2,41-2,28 (m, 2H), 2,25 (d, J=1,9 Гц, 3H), 2,20 (s, 3H), 2,10-1,87 (m, 1H), 1,65 -1,49 (m, 2H), 1,41 (dd, J=7,0, 2,0 Гц, 3H).	502
146	1	¹ H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d ₆) δ 11,68 (s, 1H), 8,91 (s, 1H), 8,69 (d, J=4,4 Гц, 1H), 8,44 (d, J=2,3 Гц, 1H), 8,18 (d, J=8,2 Гц, 1H), 7,99 (dd, J=8,6, 2,4 Гц, 1H), 7,93-7,87 (m, 2H), 6,90 (s, 1H), 6,84 (s, 1H), 6,12 (s, 1H), 5,22 (s, 1H), 5,08 (dt, J=14,5, 7,2 Гц, 1H), 3,93-3,81 (m, 2H), 3,72-3,63 (m, 1H), 2,30-2,23 (m, 1H), 2,21 (s, 3H), 2,19 (s,	521

		¹ H ЯМР (400 МГц, CD ₃ OD): δ ppm 1,84-1,74 (m, 2H), 1,74-1,65 (m, 1H), 1,47 (d, J=7,0 Гц, 3H).	
147	1	¹ H ЯМР (400 МГц, CD ₃ OD): δ ppm 8,53-8,51 (m, 2H), 8,43 (d, J=7,6 Гц, 1H), 8,04-8,02 (m, 1H), 7,95 (d, J=8,8 Гц, 1H), 7,71 (d, J=4,0 Гц, 1H), 7,01 (s, 1H), 6,72 (s, 1H), 5,91 (s, 1H), 5,18-5,15 (m, 1H), 4,19 (d, J=11,6 Гц, 1H), 3,60 (d, J=12,0 Гц, 1H), 2,38 (s, 3H), 2,38-2,29 (m, 1H), 2,29 (s, 3H), 2,18-2,13 (m, 1H), 1,81-1,78 (m, 1H), 1,59 (d, J=7,2 Гц, 3H), 1,59-1,51 (m, 1H), 1,51 (s, 3H).	535
148	1	¹ H ЯМР (400 МГц, CD ₃ OD): δ ppm 8,52 (d, J=4,4 Гц, 1H), 8,47 (d, J=9,2 Гц, 1H), 7,99-7,93 (m, 2H), 7,71 (d, J=4,0 Гц, 1H), 7,08 (s, 1H), 6,76 (s, 1H), 5,88 (s, 1H), 5,19-5,16 (m, 1H), 4,21 (d, J=12,0 Гц, 1H), 3,70 (d, J=12,0 Гц, 1H), 2,41 (s, 3H), 2,41-2,30 (m, 1H), 2,30 (s, 3H), 2,30-2,22 (m, 1H), 1,92-1,87 (m, 1H), 1,64 (d, J=7,2 Гц, 3H), 1,63-1,46 (m, 1H), 1,46 (s, 3H).	535
149	4	¹ H ЯМР (500 МГц, DMSO-d ₆) δ 11,74 (s, 1H), 9,13 (s, 1H), 8,67 (d, J=4,4 Гц, 1H), 8,47 (d, J=8,3 Гц, 1H), 8,42 (d, J=2,3 Гц, 1H), 7,98 (dd, J=8,5, 2,3 Гц, 1H), 7,90 (d, J=4,2 Гц, 1H), 7,86 (d, J=8,5 Гц, 1H), 6,51 (s, 1H), 6,50 (s, 1H), 5,04 (p, J=7,6 Гц, 1H), 3,13 (s, 3H), 2,27 (s, 3H), 2,19 (s, 3H), 1,95 (dd, J=29,5, 11,6 Гц, 2H), 1,84-1,54 (m, 7H), 1,45 (d, J=7,1 Гц, 3H).	534

150	3	¹ H ЯМР (400 МГц, ДМСО) δ 11,88 (s, 1H), 9,50 (s, 1H), 9,11 (d, J=1,4 Гц, 1H), 8,72 (d, J=4,4 Гц, 1H), 8,64 (t, J=6,0 Гц, 1H), 8,39 (d, J=1,4 Гц, 1H), 8,02 (d, J=4,2 Гц, 1H), 6,85 (s, 1H), 6,17 (s, 1H), 4,48 (d, J=5,9 Гц, 2H), 3,19 (s, 3H), 2,64-2,53 (m, 1H), 2,23 (s, 3H), 2,19 (s, 3H), 1,96 (d, J=14,2 Гц, 2H), 1,86-1,67 (m, 6H).	521
151	3	¹ H ЯМР (400 МГц, ДМСО) δ 11,88 (s, 1H), 9,50 (s, 1H), 8,66 (d, J=4,4 Гц, 1H), 8,46 (d, J=8,3 Гц, 1H), 8,41 (d, J=2,2 Гц, 1H), 7,98 (dd, J=8,5, 2,3 Гц, 1H), 7,92-7,82 (m, 2H), 6,84 (s, 1H), 6,18 (s, 1H), 5,08-5,01 (m, 1H), 3,12 (s, 3H), 2,61-2,51 (m, 1H), 2,22 (s, 3H), 2,19 (s, 3H), 2,00-1,87 (m, 2H), 1,83-1,56 (m, 6H), 1,45 (d, J=7,1 Гц, 3H).	534

Пример 10. Измерение биохимической активности соединений.

Для оценки активности химических соединений в отношении соответствующей исследуемой киназы использовали платформу Caliper LifeSciences, основанную на технологии измерения сдвига электрофоретической подвижности. Содержащий флуоресцентную метку пептидный субстрат инкубировали в присутствии киназы и АТФ, таким образом происходило фосфорилирование только отражающей части пептида. После завершения взаимодействия смесь фосфорилированных (продукт) и нефосфорилированных (субстрат) пептидов пропускали через микроструйную систему анализатора Caliper EZ Reader 2, прилагая разность потенциалов. Наличие фосфатной группы в пептидном продукте определяет разницу массы и заряда по сравнению с пептидным субстратом, это позволяет разделять фракции субстрата и продукта в образце. По мере того как фракции проходят через LEDS внутри оборудования, происходит их обнаружение и разделение в виде отдельных пиков. Таким образом, отношение указанных пиков отражает активность химического вещества в данной концентрации в данной лунке в данных условиях.

А. Исследование RET дикого типа в КМ.

В каждой лунке 384-луночного планшета 7,5-10 нМ RET дикого типа (ProQinase 1090-0000-1) инкубировали в 12,5 мкл буфера (100 мМ HEPES pH 7,5, 0,015% Brij 35, 10 мМ MgCl₂, 1 мМ DTT) с 1 мкМ CSKtide (FITC-АНА-KKKKD DIYFFFG-NH₂) и 25 мкМ АТФ при 25°C в течение 120 мин в присутствии соединения, имеющего серию дозируемых концентраций (конечная концентрация ДМСО 1%), или без него. Реакцию останавливали путем добавления 70 мкл останавливающего буфера (100 мМ HEPES pH 7,5, 0,015% Brij 35, 35 мМ ЭДТА и 0,2% агента для нанесения покрытий Coating Reagent 3 (Caliper Lifesciences)). Затем анализировали планшет на Caliper EZReader 2 (параметры протокола: -1,7 psi (-11,7 кПа), напряжение на верхнем электроде -500, напряжение на нижнем электроде -3000, время после подачи образца 35 с). Данные нормировали по контрольным опытам с 0 и 100% ингибированием и вычисляли значения IC₅₀ с использованием 4-параметровой подстановки в CORE LIMS.

В. Исследование мутанта привратника RET V806L в КМ.

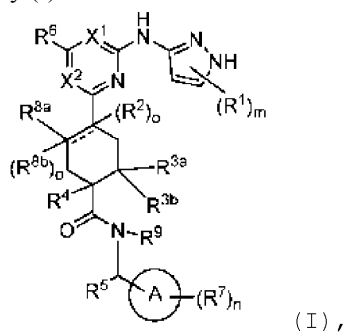
В каждой лунке 384-луночного планшета 7,5-10 нМ мутанта RET (ProQinase 1096-0000-1) инкубировали в 12,5 мкл буфера (100 мМ HEPES pH 7,5, 0,015% Brij 35, 10 мМ MgCl₂, 1 мМ DTT) с 1 мкМ CSKtide (FITC-АНА-KKKKD DIYFFFG-NH₂) и 10 мкМ АТФ при 25°C в течение 120 мин в присутствии соединения, имеющего серию дозируемых концентраций (конечная концентрация ДМСО 1%), или без него. Реакцию останавливали путем добавления 70 мкл останавливающего буфера (100 мМ HEPES pH 7,5, 0,015% Brij 35, 35 мМ ЭДТА и 0,2% агента для нанесения покрытий Coating Reagent 3 (Caliper Lifesciences)). Затем анализировали планшет на Caliper EZReader 2 (параметры протокола: -1,7 psi (-11,7 кПа), напряжение на верхнем электроде -500, напряжение на нижнем электроде -3000, время после подачи образца 35 с). Данные нормировали по контрольным опытам с 0 и 100% ингибированием и вычисляли значения IC₅₀ с использованием 4-параметровой подстановки в CORE LIMS.

Ниже в таблице используют следующие обозначения: <10,00 нМ=А; 10,01-100,0 нМ=В; и >100 нМ=С

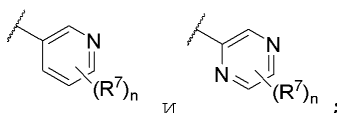
Номер соединения	RET дикого типа	V804L Мутант
100	C	C
101	A	A
102	C	C
103	A	A
104	C	C
105	B	B
106	A	B
107	A	A
109	A	A
110	B	B
111	B	A
112	A	A
113	A	A
114	A	A
116	C	B
119	C	C
120	A	A
121	A	A
122	B	B
124	C	B
128	A	A
129	C	C
130	A	A
131	A	A
135	B	B
136	A	A
137	C	C
138	A	A
141	B	B
142	A	A
144	A	A
146	A	A
147	B	B
148	A	A
149	B	B
150	A	A
151	A	A

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

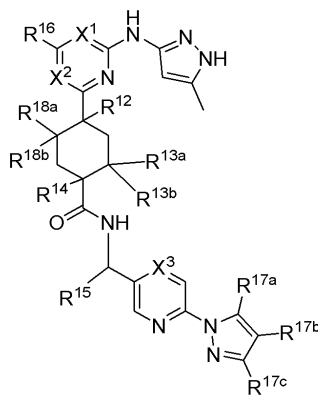
1. Соединение, имеющее формулу (I)



или его фармацевтически приемлемая соль, где кольцо А выбрано из



- каждый из X^1 и X^2 независимо выбран из N и C(R^6);
 R^1 расположен в положении 5 и представляет собой C_1 - C_4 алкил, замещенный 0-3 R^a ;
 R^7 представляет собой пиразол-1-ил, замещенный 0-3 R^a ;
 R^2 выбран из водорода, гидроксила, галогена и C_1 - C_4 алкокси;
каждый из R^{3a} , R^{3b} , R^{8a} и R^{8b} независимо выбран из водорода и C_1 - C_4 алкила, замещенного 0-3 R^a ;
 R^4 выбран из водорода, C_1 - C_4 алкила и C_1 - C_4 алкокси, где каждый алкильный фрагмент в R^4 замещен 0-3 R^a .
 R^5 представляет собой водород или C_1 - C_4 алкил, замещенный 0-3 R^a ;
 R^9 представляет собой водород;
каждый R^6 независимо выбран из водорода, галогена и C_1 - C_4 алкила, замещенного 0-3 R^a ;
каждый R^a независимо выбран из C_1 - C_6 алкила, галогена, гидроксила, C_1 - C_6 алкокси и циано;
=== представляет собой простую или двойную связь;
m равен 1;
n равен 1; и
каждый o равен 0, если === представляет собой двойную связь; и
каждый o равен 1, если === представляет собой простую связь.
2. Соединение по п.1 или его фармацевтически приемлемая соль, где R^5 представляет собой водород или $-CH_3$.
3. Соединение по п.1 или 2, или его фармацевтически приемлемая соль, где R^4 выбирают из группы, состоящей из водорода, $-CH_3$, $-CH_2CH_3$, $-OCH_3$ и $-OCH_2CH_3$.
4. Соединение по любому из пп.1-3, или его фармацевтически приемлемая соль, где R^6 выбирают из группы, состоящей из водорода, хлора и $-CH_3$.
5. Соединение по любому из пп.1-4 или его фармацевтически приемлемая соль, где по меньшей мере одна пара R^{3a} и R^{3b} или R^{8a} и R^{8b} одновременно представляет собой водород.
6. Соединение, имеющее формулу (II)



(II),

- или его фармацевтически приемлемая соль, где
 X^1 выбран из N, CH и C(галоген);
 X^2 выбран из N и CH;
 X^3 выбран из N и CH;
 R^{12} выбран из водорода, гидроксила, галогена и O- C_1 - C_4 алкила;
каждый из R^{13a} , R^{13b} , R^{18a} и R^{18b} независимо выбран из водорода и C_1 - C_4 алкила;
 R^{14} выбран из водорода, $-C_1$ - C_4 алкила и O- C_1 - C_4 алкила;
 R^{15} выбран из водорода и $-C_1$ - C_4 алкила;
 R^{16} выбран из водорода и $-C_1$ - C_4 алкила;
 R^{17b} выбран из водорода и галогена; и
каждый из R^{17a} и R^{17c} независимо выбран из водорода и C_1 - C_4 алкила.
7. Соединение по п.6 или его фармацевтически приемлемая соль, где X^1 выбран из N, CH и C(Cl).
8. Соединение по п.6 или 7 или его фармацевтически приемлемая соль, где R^{12} выбран из группы, состоящей из водорода, гидроксила, фтора и $-OCH_3$.
9. Соединение по любому из пп.6-8 или его фармацевтически приемлемая соль, где каждый из R^{13a} , R^{13b} , R^{18a} и R^{18b} независимо выбирают из группы, состоящей из водорода, метила и этила, где по меньшей мере одна пара R^{13a} и R^{13b} или R^{18a} и R^{18b} одновременно представляет собой водород.

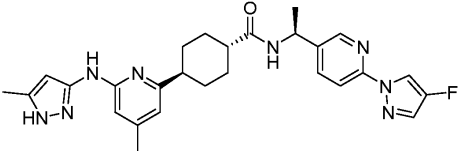
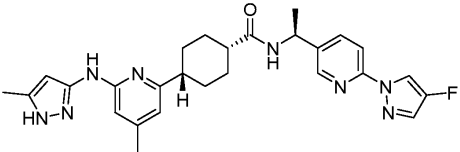
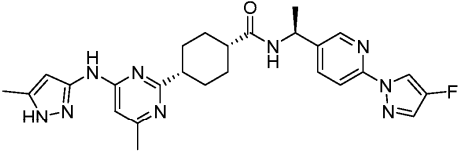
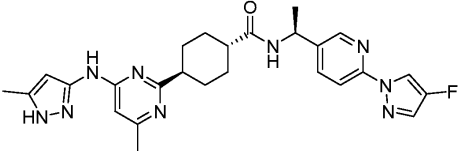
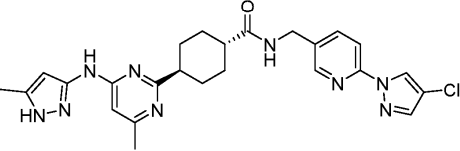
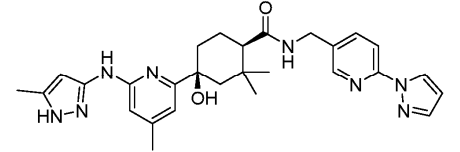
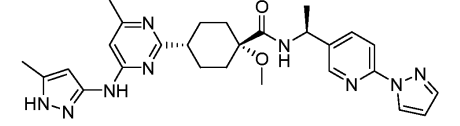
10. Соединение по любому из пп.6-9 или его фармацевтически приемлемая соль, где R^{14} выбирают из группы, состоящей из водорода, $-CH_3$, $-CH_2CH_3$, $-OCH_3$ и $-OCH_2CH_3$.

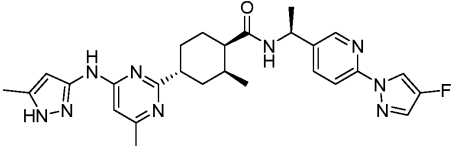
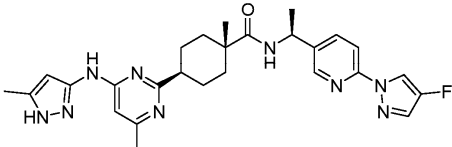
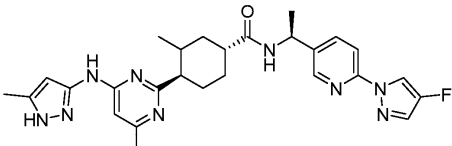
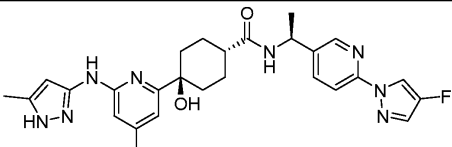
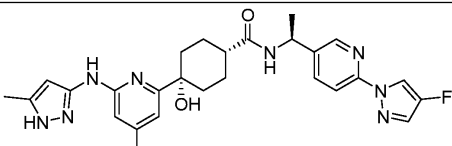
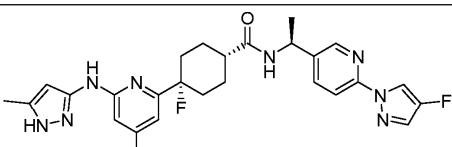
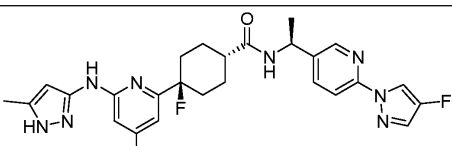
11. Соединение по любому из пп.6-10 или его фармацевтически приемлемая соль, где R^{15} выбирают из водорода и $-CH_3$.

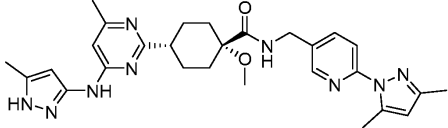
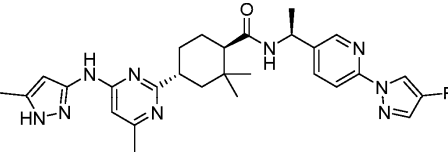
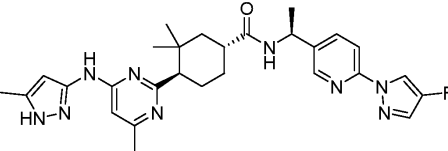
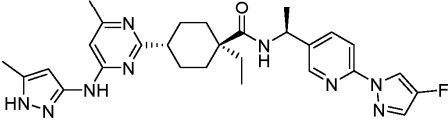
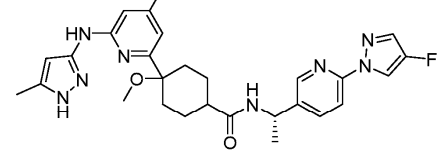
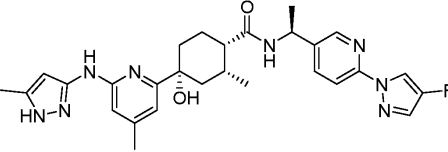
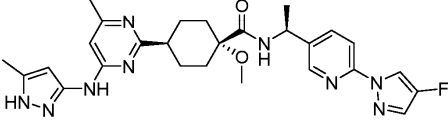
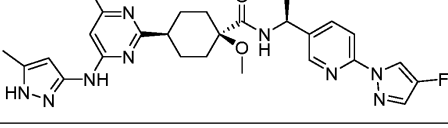
12. Соединение по любому из пп.6-11 или его фармацевтически приемлемая соль, где R^{16} выбирают из водорода и $-CH_3$.

13. Соединение, выбранное из

Соединение	Структура
100	
101	
102	
103	
104	
105	
106	
107	
108	

109	
110	
111	
112	
113	
114	
115	

116	
117	
118	
119	
120	
121	
122	

123	
124	
125	
126	
127	
128	
129	
130	

131	
132	
133	
134	
135	
136	
137	
138	
139	

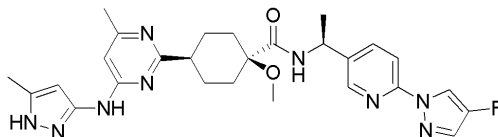
140	
141	
142	
143	
144	
145	
146	
147	
148	
149	
150	
151	

или его фармацевтически приемлемая соль.

14. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по любому из пп.1-13 или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель.

15. Способ лечения субъекта, страдающего от заболевания, выбранного из немелкоклеточного рака легкого, папиллярной карциномы щитовидной железы, медуллярной карциномы щитовидной железы, колоректального рака и множественной эндокринной неоплазии, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества соединения по любому из пп.1-13 или его фармацевтически приемлемой соли или фармацевтической композиции по п.14.

16. Соединение, выбранное из

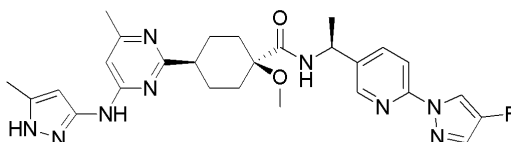


и его фармацевтически приемлемой соли.

17. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по п.16 или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель.

18. Способ лечения субъекта, страдающего от заболевания, выбранного из немелкоклеточного рака легкого, папиллярной карциномы щитовидной железы, медуллярной карциномы щитовидной железы, колоректального рака и множественной эндокринной неоплазии, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества соединения по п.16, или его фармацевтически приемлемой соли, или фармацевтической композиции по п.17.

19. Соединение



20. Способ лечения рака, опосредованного RET гибридацией или RET мутацией у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества соединения по любому из пп.1-13, 16 или его фармацевтически приемлемой соли или фармацевтической композиции по п.14 или 17.



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

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