

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **040469**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.06.07

(21) Номер заявки
202091718

(22) Дата подачи заявки
2019.01.09

(51) Int. Cl. **C07D 487/10** (2006.01)
A61K 31/407 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)

(54) **1,2,3',5'-ТЕТРАГИДРО-2'Н-СПИРО[ИНДОЛ-3,1'-ПИРРОЛО[3,4-С]ПИРРОЛ]-2,3'-ДИОНОВЫЕ СОЕДИНЕНИЯ В КАЧЕСТВЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ, АКТИВИРУЮЩИХ TP53**

(31) **18461506.0**

(32) **2018.01.16**

(33) **EP**

(43) **2020.10.30**

(86) **PCT/EP2019/050370**

(87) **WO 2019/141549 2019.07.25**

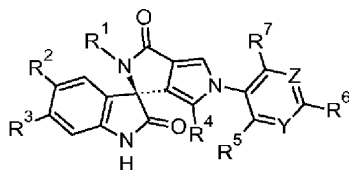
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
АДАМЕД ФАРМА С.А. (PL)

(56) WO-A1-2015189799
WO-A2-2012155066
WO-A1-2011134925

(72) Изобретатель:
**Федер Марцин, Мазур Мария,
Калиновская Ивона, Ящевская-
Адамчак Йоанна, Левандовски
Войцех, Витковский Якуб, Елен
Сабина, Вос-Латоси Катажина (PL)**

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

(57) Изобретение относится к соединениям 1,2,3',5'-тетрагидро-2'Н-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-диона, представленным формулой (I), в которой все символы и переменные такие, как определено в описании, а также фармацевтической композиции, содержащей указанные соединения и фармацевтически приемлемый эксципиент. Соединения могут найти применение в качестве лекарственного средства, в частности для профилактики и/или лечения заболеваний, выбранных из группы, состоящей из рака, иммунных заболеваний, воспалительных состояний, аллергических заболеваний кожи, связанных с чрезмерной пролиферацией, ослепляющего заболевания и вирусных инфекций.



Формула (I)

B1**040469****040469****B1**

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к новым 1,2,3',5'-тетрагидро-2'-Н-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дионовым соединениям и данным соединениям для применения в качестве лекарственного средства, в особенности для лечения заболеваний, при которых нарушены p53-Mdm2 белок-белковые взаимодействия и/или которые чувствительны к ингибированию p53-Mdm2 взаимодействий, включая пролиферативные заболевания, такие как рак. Кроме того, настоящее изобретение предоставляет фармацевтические композиции, содержащие вышеупомянутые соединения.

Уровень техники

p53 представляет собой транскрипционный фактор, который отвечает на клеточный стресс, регулируя транскрипцию многочисленных генов, которые определяют судьбу клеток. В стрессовых условиях p53 может вызвать остановку клеточного цикла и процессы восстановления ДНК или программы гибели клеток, такие как апоптоз или старение. Выбор между данными реакциями зависит от типа и интенсивности стрессовых сигналов. В клетках человека активность p53 строго контролируется его негативным регулятором - белком под названием Mdm2. Mdm2 образует плотный комплекс с транс-активационным доменом p53, блокируя его способность регулировать гены-мишени и оказывать антипролиферативное действие. Кроме того, Mdm2 способствует ядерному экспорту и быстрой деградации p53 с помощью убиквитин-протеасомной системы.

Играя важную роль в клеточном ответе на стресс, p53 служит основным препятствием для онкогенеза. Пациенты с синдромом Ли-Фраумени, которые наследуют мутированный p53, очень восприимчивы к раку. Мыши с поврежденным геном p53 выглядят нормальными, но к 6-месячному возрасту склонны к самопроизвольному развитию различных новообразований. Эта значительная роль p53 в подавлении опухоли приводит к тому, что его функция отключается практически во всех раковых опухолях человека, или посредством мутации гена p53, или посредством aberrантной экспрессии белков, действующих в качестве его негативных регуляторов, таких как Mdm2.

Об амплификации гена Mdm2 сообщается в более чем 10% из 8000 различных видов рака человека, включая саркомы, опухоли легких и желудка, в которых ген p53 не поврежден. Несколько других опухолей приобретают однонуклеотидный полиморфизм в промоторе Mdm2, что приводит к 2-3-кратному увеличению экспрессии Mdm2, что коррелирует с ускоренным образованием опухоли. Данные изменения воспринимаются как основные механизмы ингибирования функции p53 при раковых заболеваниях, сохраняющих p53 дикого типа.

Функциональные генетические исследования на мышах показали, что восстановление инактивированного p53 достаточно, чтобы вызвать быструю регрессию нескольких различных типов опухолей. Используя данный подход, нацеливание на взаимодействие p53-Mdm2 малыми молекулами для высвобождения и реактивации p53 стало перспективной терапевтической стратегией для лечения раковых заболеваний человека, которые являются p53 дикого типа. В последние годы было зарегистрировано несколько групп низкомолекулярных непептидных ингибиторов взаимодействия p53-Mdm2, включая нутлины, пиперазин-4-фенильные производные, халконы, сульфонамиды, бензодиазепиндионы, спирооксиндолы. Ингибиторы MDM2 дают как общие, так и различные клеточные ответы в нормальных и опухолевых клетках, что согласуется с предыдущими результатами генетических исследований. В нормальных клетках активация p53 ингибиторами MDM2 вызывает остановку клеточного цикла, но не гибель клетки. В опухолевых клетках активация p53 ингибиторами вызывает не только остановку клеточного цикла, но и гибель клеток. Данный профиль обеспечивает перспективы высокой селективности и низкой токсичности потенциальной терапии. Тем не менее, ни один из этих антагонистов Mdm2 не доказал свою эффективность в клинических испытаниях на людях. Таким образом, все еще существует потребность в новых соединениях с повышенной активностью, благоприятной фармакокинетикой и профилем токсичности.

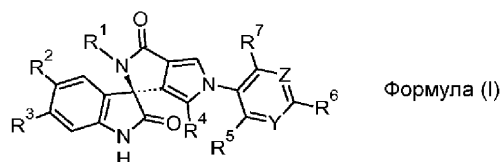
Предыдущая заявка авторов изобретения WO 2015/189799 раскрывает соединения, содержащие 1,1',2,5'-тетрагидроспиро[индол-3,2'-пиррол]-2,5'-дионовую систему, которые проявляют высокую и специфическую противоопухолевую активность в исследованиях *in vitro*. Однако дальнейшие исследования показали, что их эффективность *in vivo* является умеренной и наиболее эффективные соединения демонстрируют недопустимо высокий клиренс в микросомах человека, что исключает их клиническую эффективность.

Следовательно, все еще существует потребность в соединениях с превосходной активностью *in vitro*, обладающих улучшенной фармакокинетикой и, таким образом, демонстрирующих выраженную противоопухолевую эффективность как у мышей на моделях *in vivo*, так и в будущих клинических испытаниях.

Настоящее изобретение решает проблему, предоставляя новые соединения, содержащие 1,2,3',5'-тетрагидро-2'-Н-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дионовую систему.

Сущность изобретения

В первом аспекте настоящее изобретение предоставляет соединение, имеющее следующую структуру



в которой

R^1 представляет собой мета-галогенфенил, который необязательно дополнительно замещен одним-двумя заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из галогена, -OH, -NH₂, -NO₂, -CN, -C₁-C₆-алкила, -O-(C₁-C₆-алкил), -S-(C₁-C₆-алкил), -C(O)O-(C₁-C₆-алкил), -NH(C₁-C₆-алкил) и -N(C₁-C₆-алкил)₂;

R^2 и R^3 представляют собой независимо Н или галоген;

R^4 представляет собой -C₁-C₆-алкил;

R^7 представляет собой -OCH₃;

R^5 , R^6 , R^8 , R^9 представляют собой независимо Н, галоген, -OCH₃, -NH(CH₃) или -N(CH₃)₂.

Z представляет собой C-R⁸ или N, Y представляет собой C-R⁹ или N при условии, что Z не представляет собой C-R⁸ и Y не представляет собой C-R⁹ одновременно.

Предпочтительно в формуле (I) R^1 представляет собой мета-галогенфенил, который необязательно дополнительно замещен одним-двумя заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из галогена, -C₁-C₆-алкила, -O-(C₁-C₆-алкил), -NH(C₁-C₆-алкил) и -N(C₁-C₆-алкил)₂. Более предпочтительно в определении R^1 -заместителя в формуле (I) C₁-C₆-алкил представляет собой C₁-C₃-алкил.

Еще более предпочтительно в формуле (I) R^1 представляет собой мета-галогенфенил, который необязательно дополнительно замещен одним-двумя заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из галогена, -CH₃, -OCH₃, -NH(CH₃) и -N(CH₃)₂. Еще более предпочтительно R^1 представляет собой мета-галогенфенил, который необязательно дополнительно замещен одним-двумя заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из галогена, -CH₃ и -OCH₃. Наиболее предпочтительно R^1 представляет собой мета-галогенфенил, который необязательно дополнительно замещен одним-двумя заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из галогена.

Предпочтительно в формуле (I) R^2 представляет собой Н и R^3 представляет собой Cl.

Предпочтительно в формуле (I) R^4 представляет собой изопропил или изобутил.

Предпочтительно в формуле (I) Z и Y оба представляют собой N. Более предпочтительно в таком варианте осуществления R^5 и R^6 оба представляют собой -OCH₃.

Предпочтительно в формуле (I) Z представляет собой C-R⁸ и Y представляет собой N. Более предпочтительно в таком варианте осуществления R^8 представляет собой Н, и по меньшей мере один из R^5 и R^6 представляет собой -OCH₃ и второй выбран из Н, -N(CH₃)₂ и -OCH₃.

В качестве определенного соединения изобретения можно упомянуть одну из следующих групп:

- (1) (3S)-6-хлор-2'-(3-хлорфенил)-5'-(2,4-диметоксиимидин-5-ил)-6'-(пропан-2-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'H-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион
- (2) (3S)-6-хлор-2'-(5-хлор-2-фторфенил)-5'-(2,4-диметоксиимидин-5-ил)-6'-(пропан-2-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'H-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион
- (3) (3S)-6-хлор-2'-(5-хлор-2-метилфенил)-6'-(пропан-2-ил)-5'-(2,4,6-

триметоксипиримидин-5-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'H-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион

(4) (3S)-6-хлор-2'-(3-хлор-4-фторфенил)-5'-(2,4-диметоксипиримидин-5-ил)-6'-(пропан-2-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'H-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион

(5) (3S)-6-хлор-2'-(5-хлор-2-фторфенил)-6'-(пропан-2-ил)-5'-(2,4,6-триметоксипиримидин-5-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'H-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион

(5) (3S)-6-хлор-2'-(5-хлор-2-фторфенил)-5'-[6-(диметиламино)-4-метоксипиридин-3-ил]-6'-(пропан-2-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'H-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион

(6) (3S)-6-хлор-2'-(3,4-дифторфенил)-5'-(2,4-диметоксипиримидин-5-ил)-6'-(пропан-2-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'H-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион

(7) (3S)-6-хлор-2'-(3,4-дифторфенил)-5'-(4,6-диметоксипиридин-3-ил)-6'-(пропан-2-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'H-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион

(8) (3S)-6-хлор-2'-(5-хлор-2-фторфенил)-5'-(4,6-диметоксипиридин-3-ил)-6'-(пропан-2-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'H-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион

(9) (3S)-6-хлор-2'-(5-хлор-2,4-дифторфенил)-5'-(2,4-диметоксипиримидин-5-ил)-6'-(пропан-2-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'H-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион

(10) (3S)-6'-(бутан-2-ил)-6-хлор-2'-(5-хлор-2-фторфенил)-5'-(2,4-диметоксипиримидин-5-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'H-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион

В качестве более определенного соединения изобретения можно упомянуть одну из следующих групп:

(1) (3S)-6-хлор-2'-(3-хлорфенил)-5'-(2,4-диметоксипиримидин-5-ил)-6'-пропан-2-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'H-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион

(2) (3S)-6-хлор-2'-(5-хлор-2-фторфенил)-5'-(2,4-диметоксипиримидин-5-ил)-6'-(пропан-2-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'H-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион

(3) (3S)-6-хлор-2'-(5-хлор-2-метилфенил)-6'-(пропан-2-ил)-5'-(2,4,6-триметоксипиримидин-5-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'H-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион

(4) (3S)-6-хлор-2'-(3-хлор-4-фторфенил)-5'-(2,4-диметоксипиримидин-5-ил)-6'-(пропан-2-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'H-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион

(5) (3S)-6-хлор-2'-(5-хлор-2-фторфенил)-6'-(пропан-2-ил)-5'-(2,4,6-триметоксипиримидин-5-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'H-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион

(7) (3S)-6-хлор-2'-(3,4-дифторфенил)-5'-(2,4-диметоксипиримидин-5-ил)-6'-(пропан-2-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'H-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион

(10) (3S)-6-хлор-2'-(5-хлор-2,4-дифторфенил)-5'-(2,4-диметоксипиримидин-5-ил)-6'-(пропан-2-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'H-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион

(11) (3S)-6'-(бутан-2-ил)-6-хлор-2'-(5-хлор-2-фторфенил)-5'-(2,4-диметоксипиримидин-5-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'H-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион

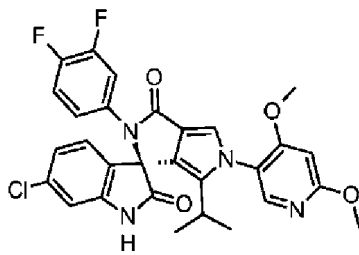
Альтернативно, в качестве более определенного соединения изобретения можно упомянуть одну из следующих групп:

(6) (3*S*)-6-хлор-2'-(5-хлор-2-фторфенил)-5'-[6-(диметиламино)-4-метоксипиридин-3-ил]-6'-(пропан-2-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'*H*-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион

(8) (3*S*)-6-хлор-2'-(3,4-дифторфенил)-5'-(4,6-диметоксипиридин-3-ил)-6'-(пропан-2-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'*H*-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион

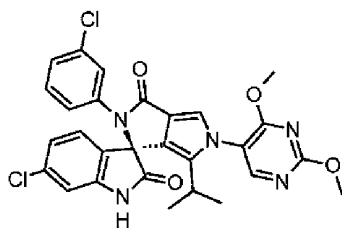
(9) (3*S*)-6-хлор-2'-(5-хлор-2-фторфенил)-5'-(4,6-диметоксипиридин-3-ил)-6'-(пропан-2-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'*H*-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион

Наиболее предпочтительным соединением изобретения является соединение, представленное следующей структурой



которое представляет собой (3*S*)-6-хлор-2'-(3,4-дифторфенил)-5'-(4,6-диметоксипиридин-3-ил)-6'-(пропан-2-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'*H*-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион.

Вторым наиболее предпочтительным соединением изобретения является соединение, представленное следующей структурой



которое представляет собой (3*S*)-6-хлор-2'-(3-хлорфенил)-5'-(2,4-диметоксипиримидин-5-ил)-6'-(пропан-2-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'*H*-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион.

Другой аспект изобретения относится к соединению формулы (I) для применения в качестве лекарственного препарата.

Предпочтительно лекарственный препарат является пригодным для профилактики и/или лечения заболеваний, выбранных из группы, состоящей из рака, иммунных заболеваний, воспалительных состояний, аллергических заболеваний кожи, связанных с чрезмерной пролиферацией, ослепляющего заболевания и вирусных инфекций.

Следующий аспект изобретения относится к фармацевтической композиции, содержащей в качестве активного ингредиента соединение формулы (I) в комбинации по меньшей мере с одним фармацевтически приемлемым эксципиентом.

Последний аспект изобретения относится к способу лечения и/или профилактики заболеваний, выбранных из группы, состоящей из рака, иммунных заболеваний, воспалительных состояний, аллергических заболеваний кожи, связанных с чрезмерной пролиферацией, ослепляющего заболевания и вирусных инфекций, включающему введение терапевтически эффективного количества соединения формулы (I) или фармацевтической композиции, как определено выше.

Краткое описание чертежей

На фиг. 1 показана эффективность *in vivo* для соединения 107 из международной публикации WO 2015/189799 в качестве эталонного соединения на мышинной модели остеосаркомы человека (SJSA-1). Клетки SJSA-1 инокулировали подкожно (п/к) в количестве 3×10^6 /мышь; исследуемое соединение вводили перорально (п/о) по схеме q1d×14; 7 мышей в группе.

На фиг. 2 показана эффективность *in vivo* для соединения 7, 8 и 11 настоящего изобретения на мышинной модели остеосаркомы человека (SJSA-1). Клетки SJSA-1 инокулировали подкожно (п/к) в количестве 3×10^6 /мышь; исследуемые соединения вводили перорально (п/о) по схеме q1d×14; 8 мышей в группе.

Подробное описание изобретения

Когда соединения изобретения могут существовать в одной или более таутомерных формах, все такие формы, хотя это явно не указано в вышеприведенной формуле, входят в объем настоящего изобретения. Соответственно соединения могут присутствовать в виде смеси таутомеров или в виде отдельного таутомера.

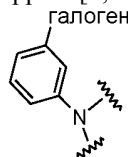
Термины, используемые в настоящем изобретении, имеют следующие значения. Другие термины,

не определенные ниже, имеют значения, как понятно специалисту в данной области техники.

Термин "C₁-C₆-алкил" представляет собой насыщенный углеводород с прямой или разветвленной цепью, содержащий от 1 до 6 атомов углерода. Примеры C₁-C₆-алкила представляют собой метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, трет-бутил, втор-бутил, н-пентил и н-гексил. Более предпочтительно C₁-C₆-алкил представляет собой C₁-C₄-алкил, C₁-C₃-алкил или C₁-C₂-алкил. Обозначение C₁-C₄-алкил, C₁-C₃-алкил, C₁-C₂-алкил представляет собой насыщенный углеводород с прямой или разветвленной цепью, содержащий от 1 до 4, 3 или 2 атома углерода соответственно. Наиболее предпочтительно C₁-C₆-алкил представляет собой C₁-алкил, который представляет собой метильную группу (сокращенно Me).

Термин "галоген" выбран из F, Cl, Br и I. Предпочтительно галоген выбран из F и Cl.

Термин "м-галогенфенил", который присутствует в определении группы R¹, означает фенильную группу, которая замещена галогеном, как определено выше в мета-положении относительно точки присоединения фенильной группы к атому азота пирроло[3,4-с]пиррольной кольцевой системы.



Выражение "Z представляет собой C-R⁸ или N, Y представляет собой C-R⁹ или N при условии, что Z не представляет собой C-R⁸ и Y не представляет собой C-R⁹ одновременно" означает, что в соединении изобретения Z представляет собой C-R⁸ и Y представляет собой N, или Z представляет собой N и Y представляет собой C-R⁹, или Z представляет собой N и Y представляет собой N.

Поскольку соединения изобретения могут быть кислотными или основными, они могут образовывать подходящие кислотно-аддитивные соли с основанием или кислотой соответственно.

Фармацевтически приемлемая кислотно-аддитивная соль относится к тем солям, которые сохраняют биологическую эффективность свободных оснований и которые не являются биологически нежелательными. Кислотно-аддитивные соли могут быть образованы с неорганическими (минеральными) кислотами или органическими кислотами. В качестве примеров кислот можно упомянуть хлористоводородную, бромистоводородную, иодистоводородную, фосфорную, серную, азотную, угольную, янтарную, малеиновую, муравьиную, уксусную, пропионовую, фумаровую, лимонную, винную, молочную, бензойную, салициловую, глутаминовую, аспарагиновую, п-толуолсульфоновую, бензолсульфоновую, метансульфоновую, этансульфоновую, нафталинсульфоновую, такую как 2-нафталинсульфоновая, памовую, ксинафоевую, гексановую кислоту.

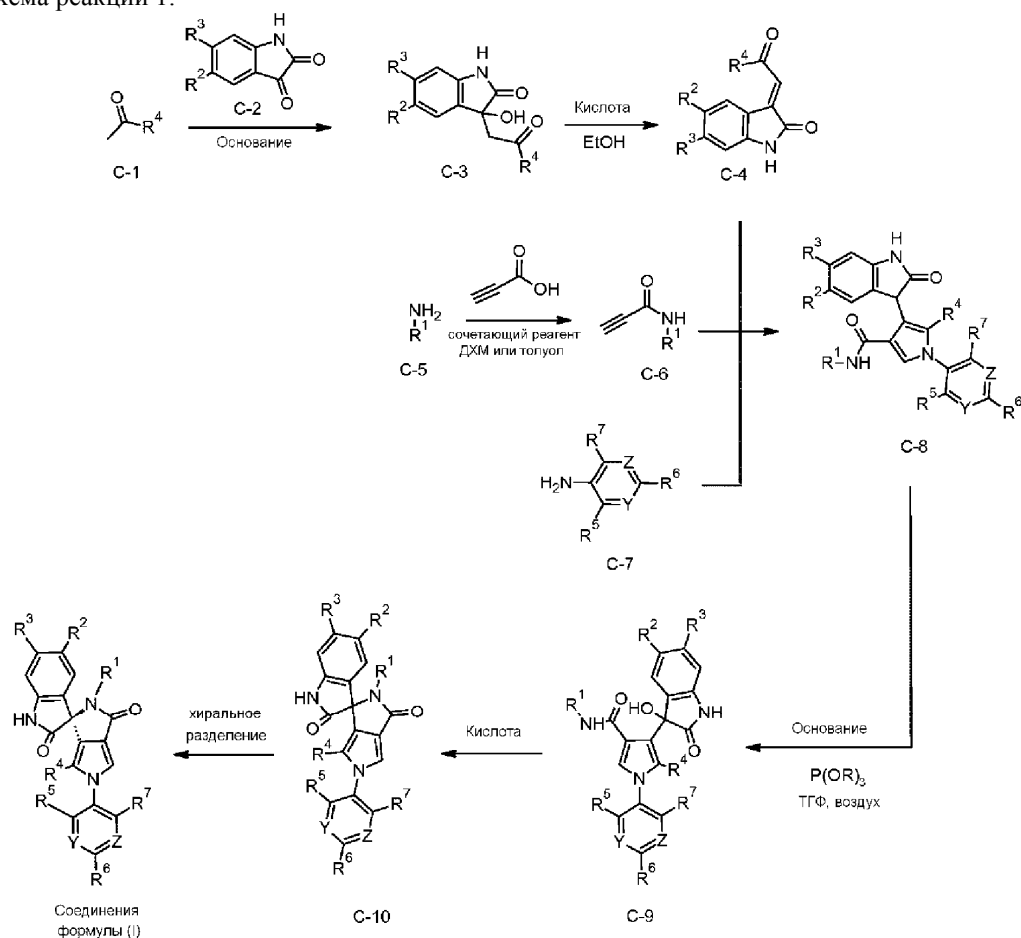
Кислотно-аддитивная соль может быть получена простым способом путем взаимодействия соединения формулы (I) с подходящей неорганической или органической кислотой в количестве, по существу эквивалентном соединению формулы (I), необязательно в подходящем растворителе, таком как органический растворитель для образования соли, которая обычно выделяется, например, путем кристаллизации и фильтрации. Например, свободные основания соединений могут быть превращены в соответствующие гидрохлоридные соли путем обработки раствора соединения, например, в метаноле стехиометрическим количеством хлористоводородной кислоты или хлороводорода в метаноле, этаноле или диэтиловом эфире с последующим испарением растворителей.

Подобным образом фармацевтически приемлемые основно-аддитивные соли включают соли, полученные из неорганических оснований, таких как натрий, калий, литий, аммоний, кальций, магний, железо, цинк, медь, марганец, алюминий и подобные. Соли, полученные из фармацевтически приемлемых нетоксичных органических оснований, включают соли первичных, вторичных и третичных аминов, включая встречающиеся в природе замещенные амины, циклические амины и основные ионообменные смолы, такие как изопропиламин, триметиламин, диэтиламин, триэтиламин, трипропиламин, и этаноламин, и триэтанолламин.

Соединения формулы (I) могут быть получены с использованием следующих способов.

Соединения на основе 1',2,5'-тетрагидропиридо[индол-3,2'-пирроло]-2,5'-диона, конденсированного с пиррольным кольцом (соединения формулы (I)), могут быть получены в соответствии со следующей схемой реакции 1.

Схема реакции 1.



Сначала метилкетон C-1 обрабатывали изатином C-2 в присутствии основания, обычно диэтиламина (ДЭА) или бис(триметилсилил)амида лития (LiHMDS).

Полученный альдол C-3 впоследствии дегидратировали в кислых условиях, используя обычно конц. хлористоводородную кислоту (12 M), обеспечивая ненасыщенное соединение C-4.

Параллельно амид C-6 получали сочетанием амина C-5 с проп-2-иновой кислотой, предпочтительно с использованием реагентов сочетания, обычно карбодиимидных реагентов, таких как дициклогексилкарбодиимид (ДЦК) или (3-диметиламинопропил)-N'-этилкарбодиимида гидрохлорид (EDC·HCl).

Гидроаминирование алкина C-6 с амином C-7 и последующее взаимодействие с еноном C-4 приводит к замещенному пирролу C-8. Данную реакцию в одном сосуде можно проводить обычно в уксусной кислоте при микроволновом облучении.

Интермедиат C-8 может быть окислен до производного 3-гидрокси-2-оксидола в присутствии избытка основания, обычно трет-бутоксид натрия, подходящего триалкилфосфита, обычно триметил или триэтилфосфита и атмосферного кислорода.

Такие полученные соединения C-9 были циклизованы в кислой среде, обычно в трифторуксусной кислоте, предоставляя желательные рацемические конденсированные спироциклические оксидолы.

Наконец, желаемый S-энантиомер был отделен с использованием условий хиральной ВЭЖХ.

Более подробная информация о получении 1,1',2,5'-тетрагидроспиро[индоло-3,2'-пирроло]-2,5'-дионового ядра была описана в нашей предыдущей патентной заявке WO 2015/189799 A1.

Соответствующие кетоны C-1, изатины C-2 и амины являются коммерчески доступными или могут быть получены с использованием следующих способов.

Схема 2 иллюстрирует один типичный способ получения 5-амино-2,4-диметокси-5-нитропиридина (C-7A) посредством нуклеофильного замещения хлора в положениях 2 и 4 в 2,4-дихлор-5-нитропиримидине (C-7A1) метоксигруппой и последующее восстановление нитрогруппы в 2,4-диметокси-5-нитропиридине (C-7A2).

Схема реакции 2.

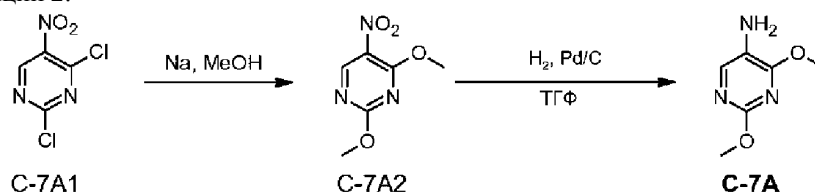


Схема 3 иллюстрирует типичный способ получения 3-амино-4,6-диметоксипиридина (C-7B) посредством нуклеофильного замещения хлора в положениях 2 и 4 в 2,4-дихлор-5-нитропиридине (C-7B1) метоксигруппой с последующим восстановлением нитрогруппы в 2,4-диметокси-5-нитропиридине (C-7B2).

Схема реакции 3.

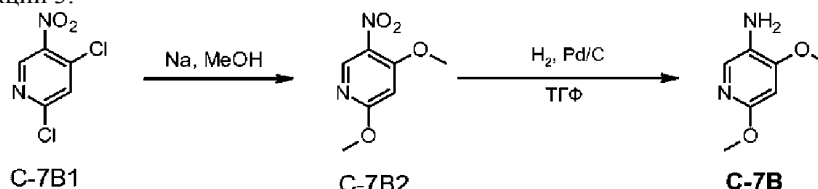


Схема 4 иллюстрирует типичный способ получения 5-амино-4-метокси-2-(диметиламино)пиридина (C-7C) посредством нуклеофильного замещения хлора в положении 2 в 2-хлор-4-метокси-5-нитропиридине (C-7C1) метоксигруппой и последующее восстановление нитрогруппы в 4-метокси-2-(диметиламино)-5-нитропиридине (C-7C2).

Схема реакции 4.

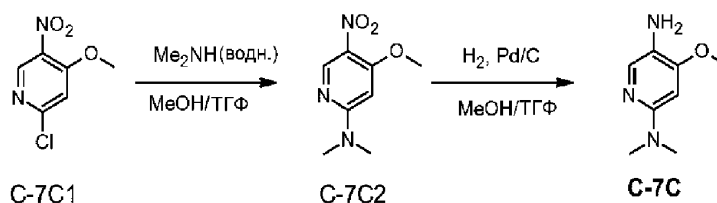
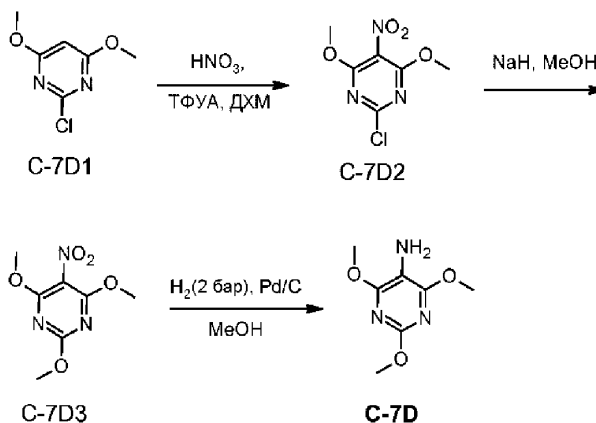


Схема 5 иллюстрирует типичный способ получения 5-амино-2,4,6-триметоксипиримидина (C-7D) посредством нитрования 2-хлор-4,6-диметоксипиримидина (C-7D1) в положении 5 после нуклеофильного замещения хлора в положении 2 в 2-хлор-4,6-диметокси-5-нитропиримидине (C-7D2) метоксигруппой. Последней стадией было восстановление нитрогруппы в 2,4,6-триметокси-5-нитропиримидине (C-7D3).

Схема реакции 5.



Как упоминалось выше, соединения изобретения предназначены для применения в качестве лекарственного средства, которое является пригодным для профилактики и/или лечения заболеваний, выбранных из группы, состоящей из рака, иммунных заболеваний, воспалительных состояний, аллергических заболеваний кожи, связанных с чрезмерной пролиферацией, ослепляющим заболеванием и вирусными инфекциями.

В частности, соединения в соответствии с изобретением являются пригодными для профилактики и/или лечения заболеваний, связанных с нарушением регуляции клеточного цикла и апоптозом, то есть иммунных заболеваний, таких как, например, аутоиммунные заболевания и состояния, связанные с отторжением трансплантата ткани/органа, таких как ревматоидный артрит, реакция "трансплантат против хозяина", системная красная волчанка, синдром Шегрена, рассеянный склероз, тиреоидит Хашимото, полимиозит; хронические воспалительные состояния представляют собой астму, остеоартроз, атеросклероз, болезнь Крона; воспалительные или аллергические состояния кожи представляют собой псориаз, контактный дерматит, атопический дерматит, очаговую алопецию, мультиформную эритему, герпетиформный дерматит, склеродермию, витилиго, гиперчувствительный ангиит, крапивницу, буллезный

пемфигоид, пемфигус, приобретенный буллезный эпидермолиз; гиперпролиферативное расстройство представляет собой синдром Ли-Фраумени; рак или опухолевые заболевания представляют собой доброкачественные или злокачественные опухоли, саркомы, такие как рабдомиосаркома, рак костей, например, остеосаркомы, карциному головного мозга, например, опухоль головного мозга мягких тканей, почек, печени, надпочечников, мочевого пузыря, молочной железы, желудка, желудочные опухоли, яичников, толстой кишки, прямой кишки, простаты, поджелудочной железы, легкого, влагалища или щитовидной железы, глиобластомы, множественную миелому, рак желудочно-кишечного тракта, в частности карциному толстой кишки или колоректальную аденому, опухоль шеи и головы, меланому, гиперплазию предстательной железы, неоплазию, неоплазию эпителиального характера, карциному молочной железы, лейкоз, такой как В- или Т-клеточные лимфомы, истинную полицитемию, тромбоцитемию, адренокортикальную карциному, включая метастазирование в другие органы, соответственно; пролиферативную витреoretинопатию, вирусные инфекции представляют собой герпес, папиллому, ВИЧ, гепатит.

При лечении вышеупомянутых заболеваний соединения изобретения можно вводить в виде химического соединения, но обычно их используют в форме фармацевтических композиций, содержащих соединение в соответствии с изобретением или его фармацевтически приемлемую соль, как определено выше, в качестве активного ингредиента в комбинации с фармацевтически приемлемыми носителями и эксципиентами.

При лечении вышеупомянутых заболеваний фармацевтические композиции изобретения могут быть введены любым путем, предпочтительно перорально или парентерально, и они будут иметь форму препарата, предназначенного для применения в медицине в зависимости от предполагаемого пути введения.

Твердые препараты могут принимать форму, например, таблеток или капсул, приготовленных стандартными способами с фармацевтически приемлемыми неактивными ингредиентами, такими как связующие агенты (например, предварительно желатинизированный кукурузный крахмал, поливинилпирролидон или гидроксипропилметилцеллюлоза); наполнители (например, лактоза, сахароза, карбоксиметилцеллюлоза, микрокристаллическая целлюлоза или гидрофосфат кальция); скользящие вещества (например, стеарат магния, тальк или диоксид кремния); дезинтегранты (например, кроссповидон, картофельный крахмал или натрия крахмала гликолят); смачивающие агенты (например, лаурилсульфат натрия). Таблетки могут быть покрыты в соответствии со способами, хорошо известными в данной области техники, стандартными оболочками, оболочками для замедленного/контролируемого высвобождения или энтеросолубильными оболочками. Жидкие препараты для перорального введения могут принимать форму, например, растворов, сиропов или суспензий или могут быть представлены в виде сухого продукта для разведения водой или другим подходящим носителем перед применением. Такие жидкие препараты могут быть получены стандартными способами с фармацевтически приемлемыми неактивными ингредиентами, такими как суспендирующие агенты (например, сироп сорбита, производные целлюлозы или гидрогенизированные пищевые жиры); эмульгирующие агенты (например, лецитин или акация); неводные носители (например, миндальное масло, масляные сложные эфиры, этиловый спирт или фракционированные растительные масла); и консерванты (например, метил *p*- или пропилгидроксibenzoат или сорбиновая кислота). Препараты также могут содержать подходящие буферы, ароматизаторы, красители и подсластители.

Препараты для перорального введения могут быть подходящим образом составлены способами, известными специалисту в данной области техники, для получения контролируемого высвобождения активного соединения.

Парентеральное введение включает введение посредством внутримышечной и внутривенной инъекции и инфузии (инфузия) внутривенно. Составы для парентерального введения могут быть в стандартной лекарственной форме, например в ампулах или в контейнерах для многодозового введения с добавлением консерванта. Композиции могут принимать формы суспензий, растворов или эмульсий в масляных или водных носителях и могут содержать составляющие агенты, такие как суспендирующие, стабилизирующие и/или диспергирующие агенты.

Альтернативно активный ингредиент может быть в форме порошка для восстановления подходящим носителем, например стерильной апиrogenной водой.

Способ лечения с использованием соединений данного изобретения будет включать введение терапевтически эффективного количества соединения изобретения, предпочтительно в форме фармацевтической композиции объекту, нуждающемуся в таком лечении.

Предлагаемая доза соединений настоящего изобретения составляет от приблизительно 0,1 до приблизительно 1000 мг в день, в разовой или разделенных дозах. Специалист поймет, что выбор дозы, необходимой для достижения желаемого биологического эффекта, будет зависеть от ряда факторов, например от определенного соединения, применения, способа введения, возраста и состояния пациента, и точная дозировка будет в конечном итоге определяться по усмотрению лечащего врача.

Примеры

Следующие примеры не предназначены для ограничения изобретения, а просто служат иллюстрацией настоящего изобретения.

Сокращения. AcOEt	этилацетат		
AcOH	уксусная кислота		
уш.с	уширенный синглет		
CaCl ₂	хлорид кальция		
CHCl ₃	хлороформ		
д	дублет		
дд	дублет дублетов		
ддд	дублет дублетов дублетов		
дк	дублет квартетов		
ДЭА	<i>N,N'</i> -диэтиламин		
ДЦК	<i>N,N'</i> -дициклогексилкарбодиимид		
ДХМ	дихлорметан		
EDC·HCl	<i>N</i> -(3-диметиламинопропил)- <i>N'</i> -этилкарбодиимида гидрохлорид		
EtOH	этанол		
экв.	эквиваленты		
ESI	ионизация электрораспылением		
ч	час(ы)		
HCl	хлорид водорода		
ВЭЖХ	высокоэффективная жидкостная хроматография		
л	литр		
LiHMDS	бис(триметилсилил)амид лития		
м	мультиплет		
MeOH	метанол		
MgSO ₄	сульфат магния		
мл	миллилитр(ы)		
MsOH	метансульфоновая кислота		
MW	микроволновой		
NaHCO ₃	бикарбонат натрия		
NaOH	гидроксид натрия		
Na ₂ SO ₄	сульфат натрия		
ЯМР	ядерный магнитный резонанс		
НФ ВЭЖХ	нормально-фазовая	высокоэффективная	жидкостная
	хроматография		
-OMe	метоксигруппа		
-OEt	этоксигруппа		
ч.д.а.	чистый для анализа		
PTSA·H ₂ O	п-толуолсульфоновой кислоты моногидрат		
кв	квартет		
ОФ-ВЭЖХ	обращенно-фазовая	высокоэффективная	жидкостная
	хроматография		
с	синглет		
сеп	септет		

СФХ	сверхкритическая флюидная хроматография
SQD MS	масс-спектрометр с одиночным квадрупольным детектором
т	триплет
ТФУК	трифторуксусная кислота
ТФУА	трифторуксусный ангидрид
ТГФ	тетрагидрофуран
ТСХ	тонкослойная хроматография
УЭЖХМС	ультраэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрией
мкл	микролитр

ТСХ проводили с силикагелем 60 F₂₅₄ на алюминиевой фольге (Sigma-Aldrich, Merck) с использованием соответствующих систем растворителей. Визуализацию обычно осуществляли с помощью УФ-излучения (254 нм).

Метод УФЖХ-МС.

Анализ УЭЖХМС проводили на жидкостном хроматографе УФЖХ, оборудованном детектором ФДМ и детектором SQD MS, работающем в режиме ESI(+) или ESI(-) с использованием колонки C18, 2,1 мм×100 мм, 1,7 мкм (AQUITY UPLC VEN или эквивалент). ВЭЖХ или ЖХ/МС степени чистоты метанол, ВЭЖХ степени чистоты воду, ВЭЖХ или ЖХ/МС степени чистоты муравьиную кислоту, ч.д.а. степени чистоты 25%-ный раствор аммиака и их смесь использовали в качестве подвижной фазы. Рабочие условия были следующими: поток подвижной фазы 0,45 мл/мин, длина волны 210-400 нм, объем вводимой пробы 1 мкл, температура колонки 60°C, температура автодозатора 5°C. Анализ проводили 5,5 мин+1,5 мин на "задержку следующей инъекции".

Градиентное элюирование с линейным ходом:

Время [мин]	% А	% В	Градиентная кривая
0,0	80,0	20,0	-
4,0	0,1	99,9	линейная (6)
5,5	80,0	20,0	прямая (11)

Растворы готовили следующим образом.

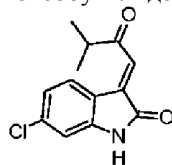
Получение подвижной фазы А1 - основной градиент: 25 мкл муравьиной кислоты и 250 мкл 25% раствора аммиака добавляли к 250 мл воды. Ультразвуковая баня с применением дегазации в течение 10 мин.

Получение подвижной фазы А2 - кислотный градиент: 50 мкл муравьиной кислоты добавляли к 250 мл воды. Ультразвуковая баня с применением дегазации в течение 10 мин.

Подвижная фаза В: суперградиент метанол.

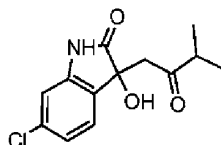
Методики синтеза.

Интермедиат С-4А: 6-хлор-3-(3-метил-2-оксобутилен)-1Н-индол-2-он.



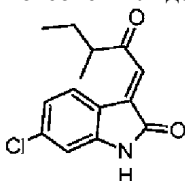
В 5 л реакционный сосуд загружали альдол С-3А (1015 г, 3,79 моль, 1 экв.) и добавляли EtOH (2,85 л). Суспензию нагревали до 55°C и одной порцией добавляли 12 М HCl (202 мл, 2,42 моль, 0,64 экв.). Затем нагревание продолжали до температуры кипения этанола. Было обнаружено, что требуется больше EtOH (500 мл) вследствие быстрого осаждения продукта С-4А. Через 1 ч анализ УЭЖХМС показал 98% площади пика продукта. Нагревание прекращали и начинали охлаждение реакционной смеси. Когда температура реакционной смеси достигала 50°C, всю смесь переносили в химический стакан и охлаждали до 0-5°C. Твердый остаток отфильтровывали и промывали 1,3 л холодного EtOH. Твердый продукт высушивали в лабораторной сушилке (40°C) в течение 3 ч и затем высушивали на воздухе в течение ночи. В результате соединение С-4А получали в виде оранжевого твердого вещества (692 г, выход 73%, чистота 98,1% в соответствии с анализом УЭЖХМС).

Интермедиат С-3А: 6-хлор-3-гидрокси-3-(3-метил-2-оксобутил)-2,3-дигидро-1Н-индол-2-он.



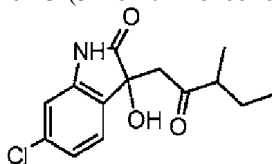
В 15 л реакционный сосуд загружали 6-хлоризатин (1000 г, 5,5 моль, 1 экв.) и EtOH (7 л) и затем добавляли одной порцией 3-метилбутанон (2,94 л, 27,5 моль, 5 экв.). Реакционную смесь нагревали до 40°C и добавляли одной порцией ДЭА (250 мл, 2,41 моль, 0,44 экв.). Затем нагревание продолжали до температуры кипения этанола. Через 1 ч анализ УЭЖХМС показал 71% продукта в реакционной смеси. Нагревание продолжали в течение дополнительного 1 ч, и после этого времени анализ УЭЖХМС показал 93% продукта. Реакционную смесь охлаждали до 50°C, затем всю смесь переносили в круглодонную колбу и все жидкие ингредиенты удаляли. Остаток суспендировали в ДХМ (3,4 л) и нагревали с обратным холодильником в течение 1 ч. После этого времени нагревание прекращали и добавляли одной порцией н-гексан (2 л). Содержимое колбы охлаждали до приблизительно 5°C и перемешивали в течение 1,5 ч при этой температуре. Полученную смесь отфильтровывали и такое полученное твердое вещество промывали 500 мл смеси ДХМ/н-гексан (1:1) с последующей сушкой на воздухе в течение ночи. В результате ожидаемый альдольный продукт С-3А получали в виде серого твердого вещества (965 г, чистота 98,5% в соответствии с анализом УЭЖХМС). Смесь растворителей после фильтрования сокращали под вакуумом до приблизительно 1,5 л, добавляли н-гексан (700 мл) и полученную суспензию перемешивали в течение 0,5 ч при комнатной температуре. Другое фильтрование с последующим двойным промыванием смесью ДХМ/н-гексан (150 мл, 1:1 для каждого промывания) и сушка на воздухе предоставляла вторую часть альдольного продукта С-3А (50 г, чистота 99,1%). Общий выход альдола С-3А составил 69% (1015 г, чистота 98,5% в соответствии с анализом УЭЖХМС).

Интермедиат С-4В: 6-хлор-3-(3-метил-2-оксопентилиден)-2,3-дигидро-1Н-индол-2-он.



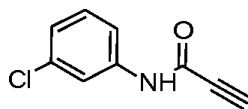
В 250 мл реакционную колбу загружали альдол С-3В (11 г, 39 ммоль, 1 экв.) и добавляли одной порцией EtOH (32 мл). Суспензию нагревали до 55°C и добавляли одной порцией 12 М HCl (1,63 мл, 19,5 ммоль, 0,5 экв.). Затем нагревание продолжали до температуры кипения этанола. Через 1 ч анализ УЭЖХМС показал 98% продукта. Реакционную смесь охлаждали до 0-5°C и перемешивали в течение 0,5 ч. Твердый остаток отфильтровывали и промывали небольшой порцией холодного EtOH. Твердый продукт высушивали на воздухе в течение ночи. В результате соединение С-4В получали в виде оранжевого твердого вещества (5 г, выход 49%, чистота 99% в соответствии с анализом УЭЖХМС).

Интермедиат С-3В: 6-хлор-3-гидрокси-3-(3-метил-2-оксопентил)-2,3-дигидро-1Н-индол-2-он.



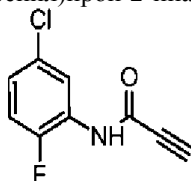
В круглодонной колбе (250 мл) 6-хлоризатин (15 г, 83 ммоль, 1 экв.) суспендировали в EtOH (70 мл) и затем добавляли одной порцией 3-метилпент-2-он (51,3 мл, 415 ммоль, 5 экв.). Реакционную смесь нагревали до 40°C и добавляли одной порцией ДЭА (4,34 мл, 42 моль, 0,5 экв.). Затем нагревание продолжали до температуры кипения этанола. Через 1 ч анализ УЭЖХМС показал 60% продукта. Нагревание продолжали в течение дополнительных 2 ч, и после этого времени анализ УЭЖХМС показал 99% продукта. После охлаждения до комнатной температуры все жидкие ингредиенты удаляли под вакуумом. Остаток суспендировали в AcOEt (50 мл) и перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. После этого времени содержимое колбы охлаждали до приблизительно 5°C и перемешивали в течение 1,5 ч при данной температуре. Полученную смесь отфильтровывали и такое полученное твердое вещество промывали небольшим количеством холодного EtOH с последующей сушкой на воздухе в течение ночи. В результате ожидаемый альдольный продукт С-3В получали в виде светло-коричневого твердого вещества (5,1 г, чистота 98,5% в соответствии с анализом УЭЖХМС). После фильтрования остаток предварительно адсорбировали на силикагеле и очищали с помощью флэш-хроматографии (от 30 до 60% AcOEt в н-гексане). После хроматографии вторую часть продукта С-3В получали в виде светло-коричневого твердого вещества (5,9 г) с чистотой 97% (в соответствии с анализом УЭЖХМС). Общий выход альдола С-3В составил 47% (11 г, чистота 98% в соответствии с анализом УЭЖХМС).

Интермедиат С-6А: N-(3-хлорфенил)проп-2-инамид.



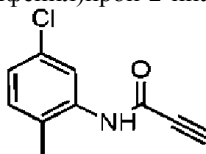
В 2 л двугорлой круглодонной колбе, снабженной механической мешалкой 3-хлоранилин (75 г, 590 ммоль, 1 экв.) растворяли в 500 мл ДХМ (ВЭЖХ степени чистоты). Затем добавляли по каплям проп-2-иновую кислоту (53,5 г, 760 ммоль, 1,3 экв.), растворенную в 100 мл ДХМ (появлялась соль амина). На следующей стадии EDC·HCl (145 г, 760 ммоль, 1,3 экв.) добавляли несколькими порциями (во время добавления реакционную колбу охлаждали на ледяной бане, чтобы избежать дефлегмации ДХМ). После полного добавления EDC·HCl реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч при комнатной температуре и затем смесь медленно переносили в химический стакан, содержащий 500 мл воды и 250 г льда. Перемешивание продолжали при 0-5°C в течение приблизительно 15 мин и затем белый осадок отфильтровывали, промывали 100 мл холодной воды и высушивали на воздухе. В результате ожидаемый амид С-6А получали в виде белого твердого вещества (102 г, выход 96,6%, чистота 96,3% в соответствии с анализом УЭЖХМС).

Интермедиат С-6В: N-(5-хлор-2-фторфенил)проп-2-инамид.



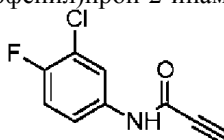
Проп-2-иновую кислоту (15,16 г, 216,4 ммоль, 1,05 экв.) добавляли одной порцией к перемешиваемому раствору 5-хлор-2-фторанилина (30 г, 206,1 ммоль, 1 экв.) в толуоле (400 мл), который охлаждали на ледяной/водяной бане. Смесь перемешивали в течение 15 мин, затем порциями добавляли ДЦК (44,65 г, 216,4 ммоль, 1,05 экв.), поддерживая температуру ниже 10°C. Перемешивание продолжали при 5°C в течение 2 ч, затем твердый DCU собирали фильтрованием и промывали толуолом (150 мл) и окончательно смесью AcOEt/н-гексан (150 мл, 1:9). Фильтрат концентрировали до объема приблизительно 100 мл и перемешивали в течение 15 мин при комнатной температуре. Полученный осадок собирали фильтрованием, промывали смесью толуол/н-гексан (20 мл, 1:1), н-гексаном (20 мл) и высушивали на воздухе в течение 16 ч с получением 15,29 г целевого продукта в виде белого твердого вещества. Фильтрат помещали в холодильник на 3 ч и полученный осадок собирали фильтрованием, промывали смесью толуол/н-гексан (20 мл, 1:1), н-гексаном (20 мл) и высушивали на воздухе в течение 16 ч с получением 13,29 г амида С-6В. Фильтрат концентрировали до объема приблизительно 20 мл и затем при перемешивании медленно добавляли гексан (400 мл). Смесь нагревали с обратным холодильником в течение 30 мин и горячий раствор отфильтровывали, концентрировали до приблизительно 100 мл и помещали в холодильник на 18 ч. Полученный осадок собирали фильтрованием, промывали н-гексаном (2×20 мл) и высушивали на воздухе в течение 16 ч с получением дополнительно 7,19 г амида С-6В. Общий выход продукта С-6В составил 88% (35,77 г).

Интермедиат С-6С: N-(5-хлор-2-метилфенил)проп-2-инамид.



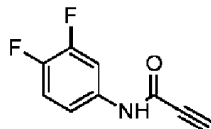
В 2 л двугорлой круглодонной колбе, снабженной механической мешалкой 5-хлор-2-метиланилин (75 г, 530 ммоль, 1 экв.) растворяли в 1000 мл ДХМ (ВЭЖХ степени чистоты). Затем по каплям добавляли проп-2-иновую кислоту (49 г, 690 ммоль, 1,3 экв.), растворенную в 100 мл ДХМ (ВЭЖХ степени чистоты) (появлялась соль амина). На следующей стадии EDC·HCl добавляли несколькими порциями (во время добавления реакционную колбу охлаждали на ледяной бане, чтобы избежать дефлегмации ДХМ). После полного добавления EDC·HCl реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч при комнатной температуре. Всю смесь переносили в химический стакан, содержащий 750 мл воды и 250 г льда. Перемешивание продолжали при 0-5°C в течение приблизительно 15 мин и затем белый осадок отфильтровывали, промывали 100 мл холодной воды и высушивали на воздухе. В результате ожидаемый амид С-6С получали в виде белого твердого вещества (81 г, выход 80%, чистота 99,1% в соответствии с анализом УЭЖХМС).

Интермедиат С-6D: N-(3-хлор-4-фторфенил)проп-2-инамид.



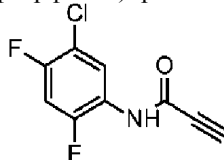
В 1 л двугорлую круглодонную колбу, снабженную магнитной мешалкой и термометром, добавляли 3-хлор-4-фторанилин (14,8 г, 100 ммоль, 1 экв.) с последующим добавлением ДХМ (200 мл, ВЭЖХ степени чистоты) и проп-2-иновой кислоты (9,1 г, 130 ммоль, 1,3 экв.). Реакционную смесь охлаждали до 0°C и добавляли EDC·HCl (25,2 г, 130 ммоль, 1,3 экв.) несколькими порциями. Реакция является экзотермической, и следует избегать превышения +5°C во время добавления. После полного добавления EDC·HCl смесь перемешивали в течение 1 ч при 5°C. После этого времени ледяную баню удаляли и к реакционной смеси добавляли 200 мл холодной воды. Реакционную смесь перемешивали в течение приблизительно 0,5 ч, полученный осадок отфильтровывали и промывали 100 мл холодной воды. Полученное таким образом твердое вещество повторно растворяли в хлороформе и раствор промывали водой, высушивали над Na₂SO₄ и растворитель испаряли досуха. Полученный продукт высушивали под вакуумом. В результате ожидаемый амид С-6D получали в виде светло-желтого твердого вещества (19,2 г, выход 98%, чистота 98% в соответствии с анализом УЭЖХМС).

Интермедиат С-6Е: N-(3,4-дифторфенил)проп-2-инамид.



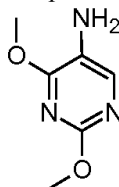
В 1 л двугорлую круглодонную колбу, снабженную магнитной мешалкой и термометром, добавляли 3,4-дифторанилин (12,9 г, 9,9 ммоль, 1 экв.) с последующим добавлением ДХМ (300 мл, ВЭЖХ степени чистоты) и проп-2-иновой кислоты (9,1 г, 130 ммоль, 1,3 экв.). Реакционную смесь охлаждали до 0°C и добавляли EDC·HCl (24,9 г, 130 ммоль, 1,3 экв.) несколькими порциями. Реакция является экзотермической, и следует избегать превышения +5°C во время добавления. После полного добавления EDC·HCl смесь перемешивали в течение 1 ч при 5°C. После этого времени ледяную баню удаляли и к реакционной смеси добавляли 300 мл холодной воды. Реакционную смесь перемешивали в течение приблизительно 0,5 ч, полученный осадок отфильтровывали и промывали 100 мл холодной воды. Полученное таким образом твердое вещество повторно растворяли в AcOEt и раствор промывали водой, высушивали над Na₂SO₄ и растворитель испаряли досуха. Затем продукт промывали 10 мл холодного ДХМ и высушивали под вакуумом. В результате ожидаемый амид С-6Е получали в виде белого с сероватым или желтоватым оттенком твердого вещества (17,3 г, выход 96%, чистота 100% в соответствии с анализом УЭЖХМС).

Интермедиат С-6F: N-(5-хлор-2,4-дифторфенил)проп-2-инамид.



В 500 мл двугорлой круглодонной колбе, снабженной магнитной мешалкой, 5-хлор-2,4-дифторанилин (10 г, 61 ммоль, 1 экв.) растворяли в ДХМ (150 мл, ВЭЖХ степени чистоты). Затем по каплям добавляли проп-2-иновую кислоту (5,5 г, 78 ммоль, 1,3 экв.) (появлялась соль амина). Затем добавляли несколько порций EDC·HCl (14 г, 78 ммоль, 1,3 экв.). (Во время добавления реакционную колбу охлаждали на ледяной бане для поддержания комнатной температуры.) После полного добавления EDC·HCl реакционную смесь перемешивали в течение еще 1 ч при комнатной температуре. После этого времени добавляли 150 мл воды и смесь переносили в делительную воронку. Фазы разделяли. Водную фазу дважды экстрагировали ДХМ (2×100 мл). Органические фракции объединяли, промывали солевым раствором, высушивали над MgSO₄ и концентрировали до приблизительно 50 мл под вакуумом с получением густой суспензии. Твердые вещества отфильтровывали и высушивали с получением 8 г кремовых кристаллов. Фильтрат концентрировали и затем очищали с помощью флэш-хроматографии (н-гексан/AcOEt; 8:1→5:1) с получением дополнительных 4,4 г амида С-6F. В результате ожидаемый амид С-6F получали в виде кремового твердого вещества (12,4 г, выход 94%, чистота 100% в соответствии с анализом УЭЖХМС).

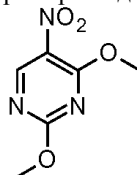
Интермедиат С-7А: 5-амино-2,4-диметоксипиримидин.



В стеклянный реактор QianCap (1850 мл), снабженный магнитной мешалкой, добавляли С-7А2 (100 г, 540 ммоль) с последующим добавлением ТГФ (800 мл). Затем 10% палладий на угле (2 г) добавляли одной порцией и реактор соединяли с источником водорода. Давление водорода устанавливали на уровне

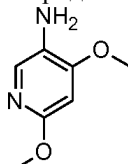
2 бар и реакционную смесь тщательно перемешивали в течение 16 ч при непрерывном потоке водорода. После этого времени анализ УЭЖХМС показал полное превращение исходного материала. Реакционную смесь отфильтровывали через слой целита и фильтрат концентрировали под вакуумом до приблизительно 150-200 мл. Затем по каплям добавляли н-гексан (500 мл) и суспензию перемешивали в течение 2 ч при комнатной температуре. Осадок отфильтровывали, дважды промывали н-гексаном (2×50 мл) и высушивали под вакуумом. В результате получали амин С-7А в виде желтого/зеленого твердого вещества (77,94 г, выход 93%, чистота 99% в соответствии с анализом УЭЖХМС).

Интермедиат С-7А2: 2,4-диметокси-5-нитропиримидин.



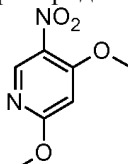
В 2 л трехгорлую круглодонную колбу, содержащую термометр, конденсатор воды, соединение с источником инертного газа (аргона) и механическую мешалку, добавляли метанол (1 л, ВЭЖХ степени чистоты) и в атмосфере аргона небольшие кусочки натрия (65 г, 2,83 моль, 2,2 экв.) медленно добавляли в течение приблизительно 1 ч при хорошем перемешивании (реакция является экзотермической, но реакционную смесь не охлаждали; обычно добавляли другой кусочек натрия, когда первый израсходовали). После растворения всей порции натрия реакционную смесь охлаждали до -5°C и осторожно добавляли (приблизительно 40 мин) свежеприготовленную суспензию С-7А1 (250 г, 1,29 моль, 1 экв.) в метаноле (500 мл, ВЭЖХ степени чистоты) небольшими порциями при тщательном перемешивании. (Внимание: реакция является очень экзотермической), следует избегать превышения +10°C во время добавления. Кроме того, в ходе реакции образовывалось много твердого продукта. После добавления всего количества суспензии субстрата реакционную смесь выдерживали при 0-5°C в течение приблизительно 0,5 ч и затем ее оставляли нагреваться до комнатной температуры (обычно это занимало приблизительно 2 ч). После этого времени анализ УЭЖХМС показал полное расходование субстрата. Затем реакционную смесь охлаждали до приблизительно 5°C, твердый продукт отфильтровывали и промывали небольшим количеством (100 мл) холодного метанола. Неочищенный продукт помещали в химический стакан с водой (1 л) и тщательно суспендировали механической мешалкой (приблизительно 10 мин тщательного перемешивания). Затем суспензию отфильтровывали и полученное твердое вещество промывали водой (500 мл), н-гексаном (200 мл) и сушили на воздухе в течение ночи. В результате получали 211,5 г соединения С-7А2 в виде светлого-желтого твердого вещества (выход 88%, чистота 99% в соответствии с анализом УЭЖХМС).

Интермедиат С-7В: 5-амино-2,4-диметоксипиридин.



В стеклянный реактор QianCap (1850 мл), снабженный магнитной мешалкой, добавляли С-7В2 (40 г, 217 ммоль) с последующим добавлением ТГФ (500 мл). Затем 10% палладий на угле (1,5 г) добавляли одной порцией и реактор соединяли с источником водорода. Давление водорода устанавливали на уровне 2 бар и реакционную смесь тщательно перемешивали в течение 7 ч при непрерывном потоке водорода. После этого времени анализ УЭЖХМС показал полное превращение исходного материала. Реакционную смесь отфильтровывали через слой целита и фильтрат концентрировали под вакуумом. В результате получали амин С-7В в виде коричневого твердого вещества (33 г, выход 99%).

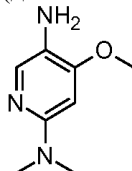
Интермедиат С-7В2: 2,4-диметокси-5-нитропиридин.



В 2 л трехгорлую круглодонную колбу, содержащую термометр, конденсатор воды, соединение с источником инертного газа (аргона) и механическую мешалку, добавляли метанол (900 мл, ВЭЖХ степени чистоты) и в атмосфере аргона небольшие кусочки натрия (26,7 г, 1,16 моль, 2,1 экв.) медленно добавляли в течение приблизительно 1 ч при тщательном перемешивании (внимание: реакция является экзотермической, но реакционную смесь не охлаждали; обычно добавляли другой кусочек натрия, когда первый израсходовали). После растворения всей порции натрия реакционную смесь охлаждали до -5°C и осторожно добавляли (приблизительно 30 мин) свежеприготовленную суспензию соединения С-7В1 (106,25 г, 0,55 моль, 1 экв.) в метаноле (100 мл, ВЭЖХ степени чистоты) небольшими порциями при

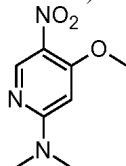
тщательном перемешивании (внимание: реакция является сильно экзотермической, следует избегать превышения $+10^{\circ}\text{C}$ во время добавления). После добавления всего количества суспензии субстрата С-7В1 реакционную смесь выдерживали при $0-5^{\circ}\text{C}$ в течение приблизительно 40 мин, затем нагревали до комнатной температуры и перемешивали при 40°C в течение 3,5 ч. После этого времени анализ УЭЖХМС показал полное расходование субстрата. Затем реакционную смесь охлаждали до температуры ниже 10°C , твердый продукт отфильтровывали, промывали небольшим количеством (50 мл) холодного метанола, воды (100 мл), н-гексана (100 мл) и высушивали на воздухе в течение ночи. В результате получали 99,3 г соединения С-7В2 в виде светло-желтого твердого вещества (выход 98%, чистота 97% в соответствии с анализом УЭЖХМС).

Интермедиат С-7С: 5-амино-4-метокси-2-(диметиламино)пиридин.



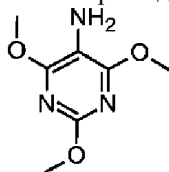
В стеклянный реактор QianCar (500 мл), снабженный магнитной мешалкой, добавляли С-7С2 (4,5 г, 22,8 моль) с последующим добавлением ТГФ (70 мл) и метанола (70 мл). Затем одной порцией добавляли 10% палладий на угле (0,48 г), реактор соединяли с источником водорода. Давление водорода устанавливали на уровне 2 бар и реакционную смесь тщательно перемешивали в течение 17 ч при непрерывном потоке водорода при комнатной температуре. После этого времени анализ УЭЖХМС показал полное превращение исходного материала. Реакционную смесь отфильтровывали через слой целита и фильтрат концентрировали под вакуумом досуха. В результате получали амин С-7С в виде темного твердого вещества (3,9 г; выход 96%; чистота 95% в соответствии с анализом УЭЖХМС).

Интермедиат С-7С2: 4-метокси-2-(диметиламино)-5-нитропиридин.



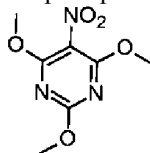
В 0,5 л трехгорлую круглодонную колбу, содержащую термометр, водный конденсатор и капельную воронку, загружали С-7С1 (10 г, 50,4 ммоль, 1 экв.), ТГФ (50 мл) и метанол (200 мл). Всю смесь перемешивали при 22°C в течение 10 мин и затем по каплям добавляли диметиламин (13,7 мл, 60% раствор в воде). Через 1 ч бледно-желтое твердое вещество начало выпадать в осадок. Добавляли следующую порцию диметиламина (2 мл, 60% раствор в воде) и реакцию продолжали в течение еще 24 ч. После этого времени реакционную смесь концентрировали под вакуумом и неочищенный материал суспендировали в метаноле (70 мл) и воде (140 мл). После интенсивного перемешивания в течение 1 ч при 0°C бледно-желтое твердое вещество отфильтровывали, промывали небольшим количеством раствора метанол-вода и высушивали под вакуумом. В результате соединение С-7С2 получали в виде бледно-желтого твердого вещества (10 г; выход 100%; чистота 99% в соответствии с анализом УЭЖХМС).

Интермедиат С-7D: 5-амино-2,4,6-триметоксипиримидин.



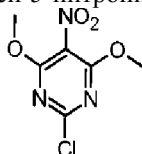
В стеклянный реактор QianCar (1850 мл), снабженный магнитной мешалкой, добавляли С-7D3 (46 г, 231 ммоль) с последующим добавлением MeOH (750 мл). Затем одной порцией добавляли 10% палладий на угле (2,5 г) и реактор соединяли с источником водорода. Давление водорода устанавливали на уровне 2 бар и реакционную смесь тщательно перемешивали в течение 24 ч при непрерывном потоке водорода. После этого времени анализ ТСХ показал полное превращение исходного материала. Реакционную смесь отфильтровывали через слой целита и фильтрат концентрировали под вакуумом досуха. В результате амин С-7D получали в виде бежевого твердого вещества (38,3 г, выход 97%, чистота 99% в соответствии с анализом УЭЖХМС).

Интермедиат С-7D3: 2,4,6-триметокси-5-нитропиримидин.



Метанол (1000 мл) добавляли в 2 л круглодонную колбу, содержащую термометр и магнитную мешалку, и все это охлаждали до 0°C на бане вода/лед. Затем добавляли гидрид натрия (13 г, 327 ммоль, 1,2 экв., 60% в минеральном масле) небольшими порциями в течение 30 мин (внимание: реакция является экзотермической). После 30 мин перемешивания субстрат С-7D2 (60 г, 272 ммоль, 1 экв.) добавляли небольшими порциями. Реакция является сильно экзотермической, и во время добавления реакционную колбу охлаждали на бане вода/лед. Во время реакции наблюдали образование твердого желтого продукта. Реакционную смесь оставляли нагреваться до комнатной температуры (1 ч), и после этого времени анализ ТСХ (ДХМ в качестве элюента) показал полное превращение исходного материала. В реакционную смесь добавляли 1 л воды и метанол испаряли. Осадок отфильтровывали, промывали 200 мл н-гексана и высушивали на воздухе. В результате соединение С-7D3 получали в виде желтого твердого вещества (46,5 г, выход 79%, чистота 100% в соответствии с анализом УЭЖХМС).

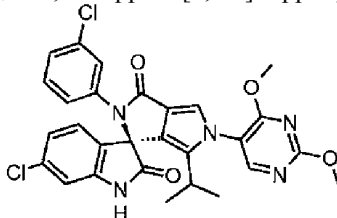
Интермедиат С-7D2: 2-хлор-4,6-диметокси-5-нитропиримидин.



В 0,5 л двухгорлую круглодонную колбу, содержащую термометр и снабженную магнитной мешалкой, добавляли соединение С-7D1 (50 г, 286 ммоль, 1 экв.) с последующим добавлением ТФУА (80 мл, 572 ммоль, 2 экв.)/ДХМ смесь (1:1). Затем смесь охлаждали на бане солевой раствор-лед до -5°C. Концентрированную дымящую азотную кислоту (14,3 мл, 343 ммоль, 1,2 экв.) добавляли по каплям к тщательно перемешиваемой смеси (внимание: реакция является сильно экзотермической) при такой температуре, чтобы не превышать +40°C. В ходе реакции образовывалось много твердого продукта. После добавления всего количества азотной кислоты реакционную смесь оставляли до достижения комнатной температуры. После этого времени анализ ТСХ показал полное расходование субстрата (аликвота, которую гасили водой и экстрагировали ДХМ; планшет элюировали ДХМ). Полученный густой белый осадок выливали на лед и перемешивание продолжали в течение 10 мин. Водный раствор экстрагировали ДХМ (3×100 мл).

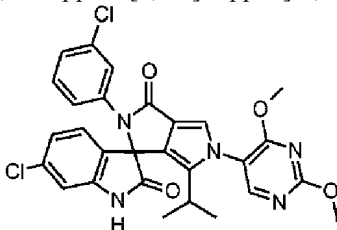
Объединенные органические слои затем промывали насыщенным водным раствором NaHCO₃ до тех пор, пока промывные растворы не оставались при pH 7. Раствор высушивали над MgSO₄ и растворитель удаляли под вакуумом с получением желто-белого кристаллического соединения С-7D2 (61 г, выход 97%, чистота 99% в соответствии с анализом УЭЖХМС).

Соединение (1), C1: (3S)-6-хлор-2'-(3-хлорфенил)-5'-(2,4-диметоксипиримидин-5-ил)-6'-(пропан-2-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'H-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион.



Указанное в заголовке соединение получали после разделения с помощью препаративной хиральной СФХ (способ А) или хиральной ОФ-ВЭЖХ (способ R) рацемического соединения С-10.C1; >99% э.и.; t_r: 7,77 мин (способ R); ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 11,18 (с, 1H), 8,55-8,42 (м, 1H), 7,37 (с, 1H), 7,36-7,27 (м, 2H), 7,14 (с, 1H), 7,08 (дд, J=8,1, 1,9 Гц, 1H), 6,98 (д, J= 7,8 Гц, 1H), 6,93 (д, J= 1,9 Гц, 1H), 3,98 (с, 3H), 3,94 (уш.с, 3H), 2,43 (сеп, J= 7,0 Гц, 1H), 0,86 (д, J= 7,0 Гц, 3H), 0,43 (д, J= 7,0 Гц, 3H); ¹³C ЯМР (126 МГц, DMSO-d₆) δ 175,42, 166,58, 164,87, 164,85, 157,89, 144,17, 138,80, 135,26, 134,00, 133,38, 130,76, 127,52, 127,42, 127,30, 126,96, 126,02, 123,70, 123,04, 120,65, 118,41, 116,45, 111,18, 70,20, 55,52, 54,85, 25,47, 21,41, 21,25.

Соединение С-10.C1: 6-хлор-2'-(3-хлорфенил)-5'-(2,4-диметоксипиримидин-5-ил)-6'-(пропан-2-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'H-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион.

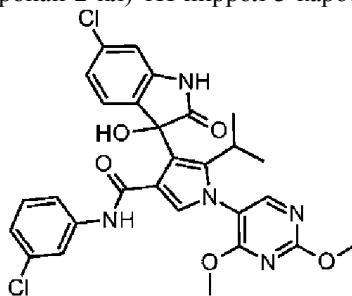


50 мл ТФУК помещали в 100 мл колбу, снабженную магнитной мешалкой. Затем добавляли несколькими порциями интермедиат С-9.C1 (17,8 г, 30,6 ммоль) и реакционную смесь энергично переме-

шивали в течение 3 ч при 40°C. После этого времени анализ УЭЖХМС показал 89% пика продукта с некоторыми незначительными пиками от примесей. Большую часть кислоты затем испаряли и остаток растворяли в ДХМ (100 мл). Добавляли 100 мл воды и смесь обрабатывали 3 М NaOH до pH 8. Фазы разделяли и водную фазу экстрагировали ДХМ (2×100 мл). Объединенные органические фазы промывали соевым раствором (30 мл), высушивали над MgSO₄ и испаряли досуха с получением 18 г бежевого твердого соединения C-10.C1 с чистотой 90%. Неочищенный продукт C-10.C1 растворяли в 50 мл метанола (ВЭЖХ степени чистоты). Затем по каплям добавляли 25% раствор метоксида натрия (10 мл) в течение 10 мин и смесь перемешивали при комнатной температуре. Через 24 ч анализ УЭЖХМС показал 97% ожидаемого продукта C-10.C1. Смесь концентрировали до половины объема, медленно переносили в перемешиваемую смесь льда (100 г) и затем подкисляли 3 М HCl до нейтрального pH. Осадок отфильтровывали, промывали 50 мл воды и высушивали под вакуумом с получением соединения C-10.C1 в виде бежево-оранжевого твердого вещества (14,5 г, выход 84%, чистота 98% в соответствии с анализом УЭЖХМС).

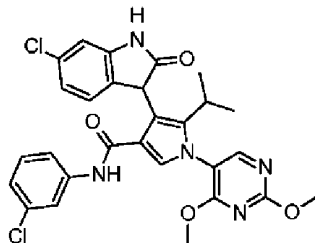
Альтернативная методика для получения C-10.C1: 12,0 г (19 ммоль) интермедиата C-9.C1 растворяли в 50 мл ледяной AcOH. Добавляли MeOH (1 экв.) и смесь перемешивали при 40°C. Через 16 ч смесь переносили в химический стакан, содержащий 100 г льда и 100 мл 25% аммиака. Твердый продукт отфильтровывали, промывали 50 мл воды и высушивали на воздухе. Очистка с помощью флэш-хроматографии (ДХМ/MeOH, 100:0→98:2) приводила к 9,6 г бежево-оранжевого твердого вещества с чистотой 94% (в соответствии с анализом УЭЖХМС). Выход 78%.

Соединение C-9.C1: 4-(6-хлор-3-гидрокси-2-оксо-2,3-дигидро-1H-индол-3-ил)-N-(3-хлорфенил)-1-(2,4-диметоксипиримидин-5-ил)-5-(пропан-2-ил)-1H-пиррол-3-карбоксамид.



В 500 мл колбу, снабженную магнитной мешалкой, добавляли соединение C-8.C1 (15 г, 26,6 ммоль, 1 экв.) и ТГФ (200 мл) с последующим добавлением триэтилфосфита (6,81 мл, 39,8 ммоль, 1,5 экв.). Затем несколькими порциями добавляли трет-бутоксид натрия (5,11 г, 53,2 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 3 ч при комнатной температуре в атмосфере воздуха (колба была снабжена трубкой с CaCl₂). После этого времени анализ УЭЖХМС показал 82% целевого продукта и 10% основной примеси. Реакционную смесь медленно переносили в охлажденную (0-5°C) смесь воды (150 мл) и 12 М HCl (5 мл). После добавления AcOEt (100 мл) всю смесь переносили в делительную воронку. Слои разделяли и водную фазу еще раз экстрагировали AcOEt (100 мл). Объединенные органические фазы промывали соевым раствором, высушивали над MgSO₄ и растворитель удаляли под вакуумом. Неочищенные продукты очищали с помощью флэш-хроматографии (CHCl₃/MeOH 100:0→98:2). В результате получали 5,86 г C-9.C1 с чистотой 93,7%. Выход 38%.

Соединение C-8.C1: 4-(6-хлор-2-оксо-2,3-дигидро-1H-индол-3-ил)-N-(3-хлорфенил)-1-(2,4-диметоксипиримидин-5-ил)-5-(пропан-2-ил)-1H-пиррол-3-карбоксамид.

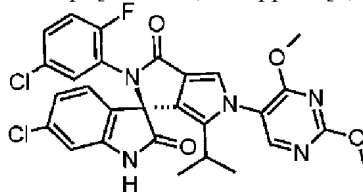


В 500 мл круглодонной колбе, снабженной магнитной мешалкой, соединения C-4A (21 г, 117 ммоль, 1 экв.), C-6A (29,25 г, 117 ммоль, 1 экв.) и C-7A (20 г, 130 ммоль, 1,1 экв.) суспендировали в 90% водном AcOH и колбу плотно закрывали пластиковой пробкой. Смесь нагревали до 70°C и перемешивали при данной температуре в течение 24 ч. После этого времени анализ УЭЖХМС показал 60% ожидаемого продукта. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и испаряли досуха. Реакцию повторяли и остаток из двух партий объединяли, и очищали в соответствии со следующей методикой.

Твердый остаток предварительно адсорбировали на силикагеле и очищали с помощью флэш-хроматографии (от 30% до 50% AcOEt в n-гексане). Все фракции, которые содержали продукт, концентрировали до 500 мл и оставляли при комнатной температуре. Через 24 ч розовое твердое вещество от-

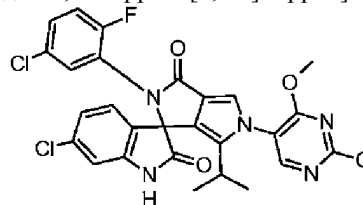
фильтровывали, промывали 50 мл н-гексана и высушивали на воздухе (40,8 г, чистота 96,5% в соответствии с анализом УЭЖХМС). Фильтрат испаряли досуха с получением дополнительных 6,6 г продукта С-8 С1 с чистотой 50%. Выход 33%.

Соединение (2), С2: (3S)-6-хлор-2'-(5-хлор-2-фторфенил)-5'-(2,4-диметоксиимиридин-5-ил)-6'-(пропан-2-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'Н-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион.



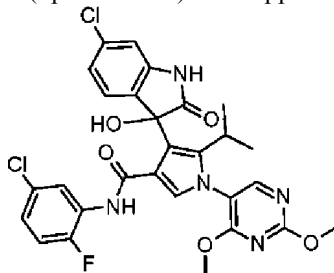
Указанное в заголовке соединение получали после разделения с помощью препаративной хиральной СФХ (способ В) или хиральной ОФ-ВЭЖХ (способ N) рацемического соединения С-10 С2, >99%, э.и., t_r 9,31 мин (способ N'), ^1H ЯМР (500 МГц, DMCO-d_6) δ 11,23 (уш с, 1H), 8,50 (уш с, 1H), 7,45 (ддд, $J=8,9, 4,1, 2,7$ Гц, 1H), 7,39 (с, 1H), 7,32 (т, $J=9,1$ Гц, 1H), 7,21-7,13 (м, 1H), 7,08 (дд, $J=8,1, 1,9$ Гц, 1H), 7,05 (дд, $J=6,3, 2,7$ Гц, 1H), 6,90 (д, $J=1,9$ Гц, 1H), 3,98 (с, 3H), 3,94 (уш с, 3H), 2,48-2,39 (м, 1H), 0,85 (д, $J=7,0$ Гц, 3H), 0,44 (д $J=7,0$ Гц, 3H), ^{13}C ЯМР (125 МГц, DMCO-d_6) δ 175,51, 166,44, 164,70, 164,24, 158,75, 157,96, 156,74, 144,03, 135,39, 134,14, 130,82, 130,75, 129,58, 128,33, 127,30, 125,99, 125,66, 125,54, 123,64, 123,04, 119,63, 118,75, 118,68, 118,57, 116,25, 111,12, 70,04, 55,67, 55,01, 49,04, 25,34, 22,00, 21,50-20,80.

Соединение С-10.С2: 6-хлор-2'-(5-хлор-2-фторфенил)-5'-(2,4-диметоксиимиридин-5-ил)-6'-(пропан-2-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'Н-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион.



В 100 мл колбу, снабженную магнитной мешалкой, добавляли соединение С-9.С2 (2,86 г, 4,76 ммоль) и колбу охлаждали на ледяной бане. Затем добавляли ТФУК (25 мл) (приблизительно 2 мл/мин). Охлаждающую баню убирали и реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч при комнатной температуре. После этого времени анализ УЭЖХМС показал 72% площади пика продукта. Затем смесь выливали в лед (приблизительно 100 г) и разбавляли ДХМ (50 мл). Фазы разделяли и водную фазу трижды экстрагировали ДХМ. Объединенные органические фазы промывали водой и солевым раствором и растворитель удаляли под вакуумом. Неочищенную смесь предварительно адсорбировали на силикагеле и очищали с помощью флэш-хроматографии (AcOEt /гексан 40%→60%). Коричневое твердое вещество, полученное после хроматографии (1,51 г), перемешивали в 60% AcOEt в н-гексане (10 мл) в течение 0,5 ч и затем отфильтровывали, промывали 60% AcOEt в н-гексане и высушивали на воздухе. В результате соединение С-10.С2 получали в виде светло-коричневого твердого вещества (1,35 г, выход 46%) с чистотой 96% в соответствии с анализом УЭЖХМС.

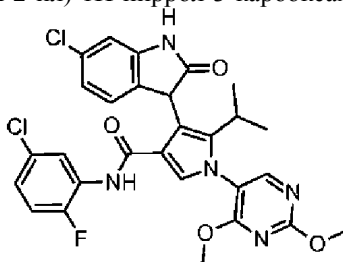
Соединение С-9.С2: N-(5-хлор-2-фторфенил)-4-(6-хлор-3-гидрокси-2-оксо-2,3-дигидро-1Н-индол-3-ил)-1-(2,4-диметоксиимиридин-5-ил)-5-(пропан-2-ил)-1Н-пиррол-3-карбоксамид.



В 500 мл колбу, снабженную магнитной мешалкой, добавляли соединение С-8.С2 (5 г, 8,6 ммоль, 1 экв.) и ТГФ (80 мл) с последующим добавлением триметилфосфита (2 мл, 17,2 ммоль, 2 экв.). Затем реакционную смесь охлаждали на ледяной бане и одной порцией добавляли трет-пентоксид натрия (3,79 г, 34,4 ммоль, 4 экв.). Охлаждающую баню убирали и реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч при комнатной температуре (колба была снабжена трубкой с CaCl_2). После этого времени анализ УЭЖХМС показал 91% площади пика продукта. Приблизительно 90% растворителя удаляли и такую полученную смесь разбавляли 100 мл воды. Полученную суспензию подкисляли 3 М HCl до $\text{pH} \sim 5$ и разбавляли 100 мл ДХМ. Фазы разделяли и водную фазу трижды экстрагировали ДХМ. Объединенные органические фазы промывали водой, солевым раствором, высушивали над Na_2SO_4 и растворитель удаляли под вакуумом. Неочищенный продукт С-9.С2 получали в виде красно-коричневого твердого вещества/пены (чистота

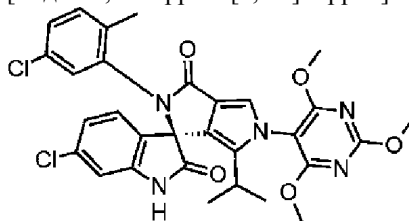
72% в соответствии с анализом УЭЖХМС) и использовали в следующей стадии без какой-либо дополнительной очистки.

Соединение С-8.С2: N-(5-хлор-2-фторфенил)-4-(6-хлор-2-оксо-2,3-дигидро-1H-индол-3-ил)-1-(2,4-диметоксиимидин-5-ил)-5-(пропан-2-ил)-1H-пиррол-3-карбоксамид.



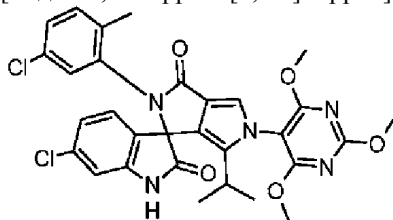
В 500 мл колбу, снабженную магнитной мешалкой, добавляли соединения С-4А (12,48 г, 50 ммоль, 1 экв.), С-7А (7,76 г, 50 ммоль, 1 экв.) и С-6В (9,88 г, 50 ммоль, 1 экв.) с последующим добавлением ледяной АсОН (125 мл) и колбу плотно закрывали пластиковой пробкой. Смесь нагревали до 90°C (температура нагревательной бани) и перемешивали при данной температуре в течение 16 ч. После этого времени анализ УЭЖХМС показал почти полное расходование исходных материалов (что составляет 40% площади пика продукта). Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и АсОН испаряли досуха. Остаток предварительно адсорбировали на силикагеле и очищали с помощью флэш-хроматографии (от 30 до 60% АсОEt в н-гексане). После удаления растворителей продукт С-8.С2 получали в виде темно-красного твердого вещества/пены (8,7 г, выход 30%) с чистотой 84% в соответствии с анализом УЭЖХМС.

Соединение (3), С3: (3S)-6-хлор-2'-(5-хлор-2-метилфенил)-6'-(пропан-2-ил)-5'-(триметоксиимидин-5-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'H-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион.



Указанное в заголовке соединение получали после разделения с помощью препаративной хиральной СФХ (способ С) или хиральной ОФ-ВЭЖХ (способ Т) рацемического соединения С-10.С3; >99% э.и.; t_r : 16,7 мин (способ Т'). ^1H ЯМР (600 МГц, DMSO-d_6) смесь ротамеров: δ 11,31 (уш.с, 1H), 10,90 (уш.с, 1H), 7,35 (д, $J = 8,1$ Гц, 1H), 7,33-7,18 (м, 4H), 7,02 (дд, $J = 8,1, 2,0$ Гц, 1H), 6,91 (д, $J = 1,9$ Гц, 1H), 6,86 (д, $J = 1,9$ Гц, 1H), 6,44 (д, $J = 2,2$ Гц, 1H), 3,97 (д, $J = 1,4$ Гц, 3H), 3,93 (д, $J = 4,3$ Гц, 3H), 3,90 (д, $J = 2,4$ Гц, 3H), 2,38-2,32 (м, 1H), 2,24 (с, 1H), 2,07 (с, 2H), 0,80 (дд, $J = 13,5, 7,0$ Гц, 3H), 0,41 (дд, $J = 10,0, 7,0$ Гц, 3H); ^{13}C ЯМР (151 МГц, DMSO-d_6) смесь ротамеров: δ 176,16, 174,19, 167,19, 167,05, 166,99, 166,89, 163,67, 163,37, 162,67, 143,81, 137,44, 136,75, 136,68, 136,17, 134,82, 134,74, 133,24, 133,19, 132,37, 132,31, 129,95, 129,22, 128,11, 127,96, 127,92, 127,45, 127,11, 127,05, 125,63, 122,64, 122,44, 122,19, 119,53, 119,28, 117,89, 110,67, 110,59, 99,16, 70,13, 69,70, 55,04, 54,78, 54,74, 54,71, 40,41, 40,03, 39,89, 24,99, 24,97, 21,84, 21,06, 21,02, 20,85, 20,78, 17,97, 17,82.

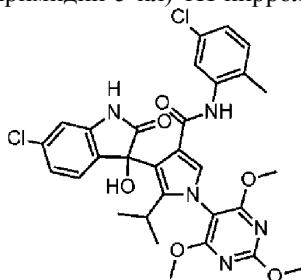
Соединение С-10.С3: 6-хлор-2'-(5-хлор-2-метилфенил)-6'-(пропан-2-ил)-5'-(триметоксиимидин-5-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'H-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион.



В 25 мл колбу, снабженную магнитной мешалкой, при комнатной температуре добавляли соединения С-9.С3 (6,7 г, 1,19 ммоль) и АсОН (10 мл). Затем добавляли МсОН (0,077 мл, 1,19 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение 3 ч при 80°C. Через 1 ч анализ УЭЖХМС показал 93% площади пика продукта. АсОН испаряли и остаток растворяли в АсОEt, промывали насыщенным NaHCO_3 , соевым раствором и высушивали над MgSO_4 . Смесь концентрировали до приблизительно 5 мл АсОEt и суспензию отфильтровывали. Собранное твердое вещество промывали 5 мл АсОEt и высушивали под вакуумом. Целевой продукт С-10.С3 получали в виде белого твердого вещества (0,31 г, выход 43%, чистота 98% в соответствии с анализом УЭЖХМС).

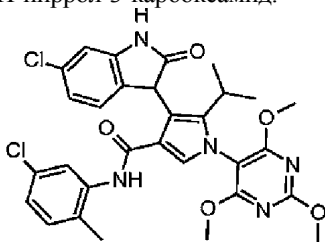
Соединение С-9.С3: N-(5-хлор-2-метилфенил)-4-(6-хлор-3-гидрокси-2-оксо-2,3-дигидро-1H-индол-

3-ил)-5-(пропан-2-ил)-1-(триметоксиимиридин-5-ил)-1Н-пиррол-3-карбоксамид.



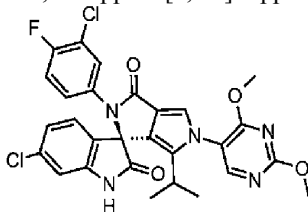
В 50 мл колбу, снабженную магнитной мешалкой, добавляли соединение С-8.С3 (0,8 г, 1,3 ммоль, 1 экв.) и ТГФ (15 мл). Затем реакционную смесь охлаждали на ледяной бане до 0°C и добавляли триэтилфосфит (0,45 мл, 2,6 ммоль, 2 экв.). Через 10 мин при 0°C добавляли несколькими порциями трет-пентоксид натрия (0,6 г, 5,2 ммоль, 4 экв.). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре (колба была снабжена трубкой с CaCl₂) и контролировали с помощью ТСХ (5% MeOH в CHCl₃). Через 24 ч смесь выливали на лед и реакционную смесь подкисляли 1 М HCl до pH 5. После добавления AcOEt (50 мл) смесь переносили в делительную воронку. Слои разделяли и водную фазу снова экстрагировали AcOEt (25 мл). Объединенные органические фазы промывали солевым раствором, высушивали над Na₂SO₄ и растворитель удаляли под вакуумом. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии, используя 1% MeOH в CHCl₃ в качестве элюента. Целевой продукт С-9.С3 получали в виде розового твердого вещества (0,8 г, выход 90%, чистота 93% в соответствии с анализом УЭЖХМС).

Соединение С-8.С3: N-(5-хлор-2-метилфенил)-4-(6-хлор-2-оксо-2,3-дигидро-1Н-индол-3-ил)-5-(пропан-2-ил)-1-(триметоксиимиридин-5-ил)-1Н-пиррол-3-карбоксамид.



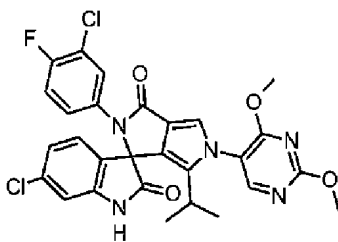
В 25 мл круглодонную колбу, снабженную магнитной мешалкой, добавляли соединения С-4А (0,67 г, 2,7 ммоль, 1 экв.), С-7D (0,5 г, 2,7 ммоль, 1 экв.) и С-6С (0,52 г, 2,7 ммоль, 1 экв.) с последующим добавлением ледяной AcOH (10 мл) и колбу плотно закрывали пластиковой пробкой. Смесь нагревали до 90°C и перемешивали при данной температуре в течение ночи. После этого времени анализ УЭЖХМС показал почти полное расходование исходных материалов (что составляет 45% площади пика продукта). AcOH затем испаряли под вакуумом. Остаток очищали с помощью флэш-хроматографии (н-гексан/AcOEt, 4:1→1:1) с получением ожидаемого продукта С-8.С3 в виде красного твердого вещества (0,8 г, выход 40%, чистота 82% в соответствии с анализом УЭЖХМС).

Соединение (4), С4: (3S)-6-хлор-2'-(3-хлор-4-фторфенил)-5'-(2,4-диметоксиимиридин-5-ил)-6'-(пропан-2-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'Н-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион.



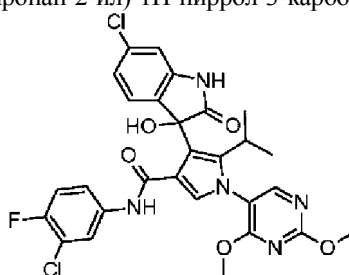
Указанное в заголовке соединение получали после разделения с помощью препаративной хиральной СФХ (способ D) или хиральной ОФ-ВЭЖХ (способ К) рацемического соединения С-10.С4; >99% э.и.; t_r: 3,79 мин (способ К'). ¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 8,47 (уш.с, 1H), 8,23 (с, 1H), 7,24-7,19 (м, 1H), 7,18-7,12 (м, 1H), 7,12-7,06 (м, 1H), 7,05-6,96 (м, 2H), 6,96-6,86 (м, 2H), 4,07 (с, 3H), 3,99 (с, 3H), 2,49-2,38 (м, 1H), 0,90 (д, J = 7,0 Гц, 3H), 0,52 (д, J = 7,0 Гц, 3H); ¹³C ЯМР (125 МГц, CDCl₃) δ 175,2, 166,5, 165,6, 164,9, 158,5, 157,0, 156,5, 142,0, 136,4, 134,3, 132,6, 132,5, 131,0, 128,6, 128,5, 126,5, 126,2, 123,8, 122,8, 121,4, 121,3, 120,7, 117,8, 117,0, 116,8, 116,2, 111,6, 70,1, 55,6, 54,7, 25,6, 21,2, 1,9.

Соединение С-10.С4: 6-хлор-2'-(3-хлор-4-фторфенил)-5'-(2,4-диметоксиимиридин-5-ил)-6'-(пропан-2-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'Н-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион.



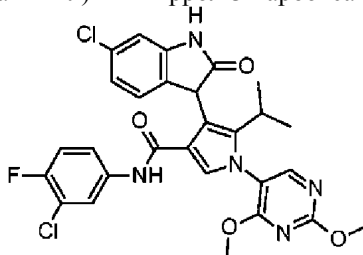
В 250 мл колбу, снабженную магнитной мешалкой, добавляли соединение C-9.C4 (10,34 ммоль) и ТФУК (70 мл) при комнатной температуре (ТФУК добавляли приблизительно 5 мл/мин). Затем реакционную смесь перемешивали в течение 3 ч при 40°C и контролировали с помощью ТСХ. После этого времени анализ УЭЖХМС показал 71% площади пика продукта. Смесь охлаждали до комнатной температуры и испаряли досуха. Неочищенный продукт очищали с помощью колоночной хроматографии (10%-50% AcOEt/н-гексан). После удаления растворителей продукт C-10.C4 получали в виде светло-коричневого твердого вещества/пены (5,44 г, выход 80% после двух стадий, исходя из C-8.C4) с чистотой 88% в соответствии с анализом УЭЖХМС.

Соединение C-9.C4: 4-(6-хлор-3-гидрокси-2-оксо-2,3-дигидро-1Н-индол-3-ил)-N-(3-хлор-4-фторфенил)-1-(2,4-диметоксипиримидин-5-ил)-5-(пропан-2-ил)-1Н-пиррол-3-карбоксамид.



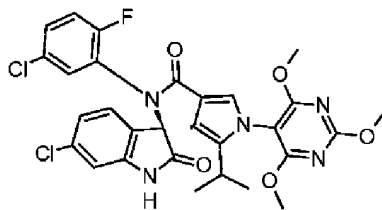
В 500 мл колбу, снабженную магнитной мешалкой, добавляли соединение C-8.C4 (6,04 г, 10,34 ммоль, 1 экв.) и ТГФ (140 мл). Затем реакционную смесь охлаждали на ледяной бане до 0°C и одной порцией добавляли триметилфосфит (1,83 мл, 15,51 ммоль, 1,5 экв.), трет-пептоксид натрия (2,28 г, 20,68 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 4 ч при данной температуре (колба была снабжена трубкой с CaCl₂) и контролировали с помощью ТСХ. После этого времени анализ УЭЖХМС показал 87% площади пика целевого продукта. Затем к смеси добавляли холодную воду (50 мл) и реакционную смесь подкисляли 5% HCl до pH~5. Реакционную смесь перемешивали в течение приблизительно 0,5 ч при комнатной температуре и полученный осадок отфильтровывали, промывали 100 мл холодной воды. Полученное таким образом твердое вещество повторно растворяли в AcOEt, промывали водой, высушивали над Na₂SO₄ и растворитель испаряли. Неочищенный продукт C-9.C4 получали в виде коричневого твердого вещества (чистота 85% в соответствии с анализом УЭЖХМС) и использовали в следующей стадии без какой-либо дополнительной очистки.

Соединение C-8.C4: 4-(6-хлор-2-оксо-2,3-дигидро-1Н-индол-3-ил)-N-(3-хлор-4-фторфенил)-1-(2,4-диметоксипиримидин-5-ил)-5-(пропан-2-ил)-1Н-пиррол-3-карбоксамид.



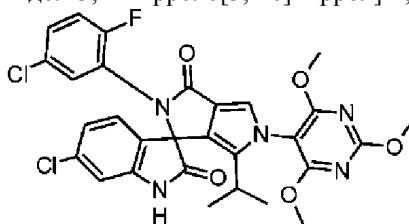
В 250 мл микроволновый реактор, снабженный магнитной мешалкой, добавляли соединения C-4A (12,48 г, 50 ммоль, 1 экв.), C-7A (8,5 г, 55 ммоль, 1,1 экв.) и C-6D (9,9 г, 50 ммоль, 1 экв.) с последующим добавлением ледяной AcOH и MB реактор плотно закрывали. Смесь нагревали до 90°C (300 Вт) и перемешивали в течение 5 ч при данной температуре. После этого времени анализ УЭЖХМС показал почти полное расходование исходных материалов (что составляет 40% площади пика продукта). Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и AcOH испаряли досуха. Остаток предварительно адсорбировали на силикагеле и очищали с помощью колоночной хроматографии (10% ацетон/ДХМ). После удаления растворителей продукт C-8 C4 получали в виде темно-коричневого твердого вещества/пены (6,96 г, выход 20,7%) с чистотой 87% в соответствии с анализом УЭЖХМС.

Соединение (5), C5 (3S)-6-хлор-2'-(5-хлор-2-фторфенил)-6'-(пропан-2-ил)-5'-(триметоксипиримидин-5-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'Н-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион.



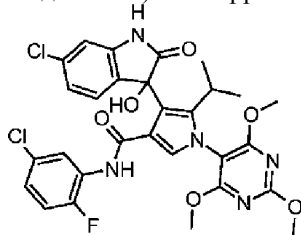
Указанное в заголовке соединение получали после разделения с помощью препаративной хиральной СФХ (способ E) или хиральной ОФ-ВЭЖХ (способ L) рацемического соединения C-10.C5, >99% э.и., t_r 7,18 мин (способ L'), ^1H ЯМР (600 МГц, DMSO-d_6) δ 11,20 (с, 1H), 7,44 (ддд, $J = 8,9, 4,1, 2,7$ Гц, 1H), 7,31 (т, $J = 9,1$ Гц, 1H), 7,25 (с, 1H), 7,15 (дд, $J = 8,1, 1,7$ Гц, 1H), 7,08 (дд, $J = 8,1, 1,9$ Гц, 1H), 7,05 (дд, $J = 6,3, 2,7$ Гц, 1H), 6,89 (д, $J = 1,9$ Гц, 1H), 3,97 (с, 3H), 3,93 (с, 3H), 3,89 (с, 3H), 2,40-2,31 (м, 1H), 0,82 (д, $J = 7,1$ Гц, 3H), 0,41 (д, $J = 7,0$ Гц, 3H), ^{13}C ЯМР (151 МГц, DMSO-d_6) δ 175,64, 167,54, 167,40, 164,33, 163,18, 158,6, 156,93, 144,05, 135,29, 133,95, 130,69, 129,61, 128,30, 127,19, 126,20, 125,74, 125,65, 123,01, 119,35, 118,69, 118,55, 111,07, 99,55, 70,08, 55,50, 55,20, 49,02, 25,42, 21,46, 21,26.

Соединение C-10.C5: 6-хлор-2'-(5-хлор-2-фторфенил)-6'-(пропан-2-ил)-5'-(триметоксиимидин-5-ил)-1,2,3,5'-тетрагидро-2'H-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион.



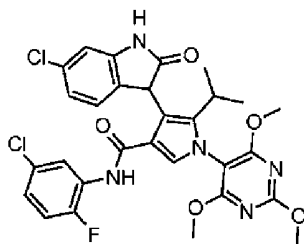
В 100 мл колбу, снабженную магнитной мешалкой, при комнатной температуре добавляли соединение C-9.C5 (6,7 г, 10,6 ммоль) и ТФУК (15 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 3 ч при комнатной температуре. После этого времени анализ УЭЖХМС показал 85% площади пика продукта. Реакционную смесь выливали на лед и дважды экстрагировали ДХМ (2×30 мл). Объединенные органические фазы промывали водой (30 мл), высушивали над Na_2SO_4 и испаряли досуха. AcOEt (50 мл) добавляли к остатку и наблюдали образование розоватого осадка. Твердое вещество отфильтровывали, промывали несколькими порциями холодного AcOEt и высушивали на воздухе. Целевой продукт C-10.C5 получали в виде бледно-розового твердого вещества (5,17 г, выход 80%, чистота 99% в соответствии с анализом УЭЖХМС).

Соединение C-9.C5: N-(5-хлор-2-фторфенил)-4-(6-хлор-3-гидрокси-2-оксо-2,3-дигидро-1H-индол-3-ил)-5-(пропан-2-ил)-1-(триметоксиимидин-5-ил)-1H-пиррол-3-карбоксамид.



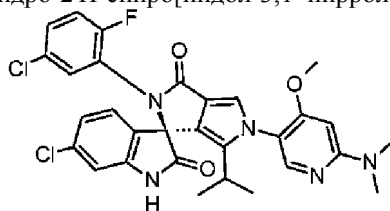
В 500 мл колбу, снабженную магнитной мешалкой, добавляли соединение C-8.C5 (5 г, 8,14 ммоль, 1 экв.) и ТГФ (150 мл). Затем реакционную смесь охлаждали на ледяной бане до 0°C и добавляли триметилфосфит (1,92 мл, 16,3 ммоль, 2 экв.). Через 10 мин при 0°C добавляли несколькими порциями трептоксид натрия (3,6 г, 32,6 ммоль, 4 экв.). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре (колба была снабжена трубкой с CaCl_2) и контролировали с помощью ТСХ (40% AcOEt в н-гексане). Затем смесь выливали на лед и реакционную смесь подкисляли 0,5 М водным раствором HCl до pH 5. После добавления ДХМ (100 мл) смесь переносили в делительную воронку. Слои разделяли и водную фазу снова экстрагировали ДХМ (100 мл). Объединенные органические фазы промывали солевым раствором, высушивали над Na_2SO_4 и растворитель удаляли под вакуумом. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (30%-50% AcOEt /н-гексан). Целевой продукт C-9.C5 получали в виде коричневатого твердого вещества (2,41 г, выход 47%, чистота 96% в соответствии с анализом УЭЖХМС).

Соединение C-8.C5: N-(5-хлор-2-фторфенил)-4-(6-хлор-2-оксо-2,3-дигидро-1H-индол-3-ил)-5-(пропан-2-ил)-1-(триметоксиимидин-5-ил)-1H-пиррол-3-карбоксамид.



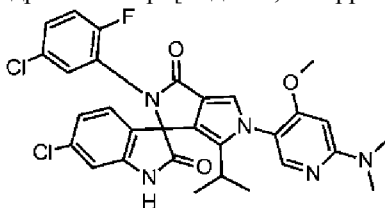
В 150 мл круглодонную колбу, снабженную магнитной мешалкой, добавляли соединения С-4А (6,3 г, 25,3 ммоль, 1 экв.), С-6В (4,7 г, 130 ммоль, 1 экв.) и С-7D (5 г, 117 ммоль, 1 экв.) с последующим добавлением АсОН (40 мл) и колбу плотно закрывали пластиковой пробкой. Смесь нагревали до 80°C и перемешивали при данной температуре в течение ночи. После этого времени анализ УЭЖХМС показал почти полное расходование исходных материалов (что составляет 66% площади пика продукта). Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и красное твердое вещество продукта С-8 С5 отфильтровывали, промывали АсОН и высушивали на воздухе (10 г, выход 64%, чистота 82% в соответствии с анализом УЭЖХМС).

Соединение (6), С6 (3S)-6-хлор-2'-(5-хлор-2-фторфенил)-5'-[6-(диметиламино)-4-метоксипиридин-3-ил]-6'-(пропан-2-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'H-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион.



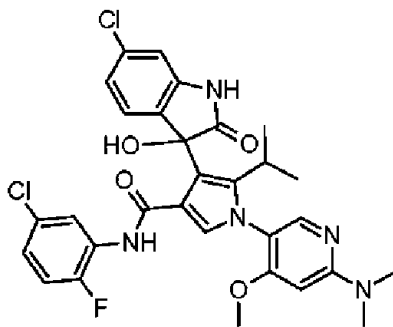
Указанное в заголовке соединение получали после разделения с помощью препаративной хиральной НФ-ВЭЖХ (способ F) или хиральной ОФ-ВЭЖХ (способ J) рацемического соединения С-10 С6, >99% э.и., t_r 14,66 мин (способ J), ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6) δ 11,20 (уш с, 1H), 7,91 (д, $J = 22,0$ Гц, 1H) 7,43 (ддд, $J = 8,9, 4,1, 2,7$ Гц, 1H), 7,30 (т, $J = 9,1$ Гц, 1H), 7,23 (с, 1H), 7,16 (дд, $J = 8,0, 2,1$ Гц, 1H), 7,10-7,03 (м, 2H), 6,89 (д, $J = 1,9$ Гц, 1H), 6,25 (д, $J = 5,6$ Гц, 1H), 3,82 (д, $J = 20,8$ Гц, 3H), 3,09 (с, 6H), 2,47-2,37 (м, 1H), 0,83 (дд, $J = 12,2, 7,0$ Гц, 3H), 0,41 (т, $J = 7,0$ Гц, 3H), ^{13}C ЯМР (126 МГц, DMSO-d_6) δ 175,77, 175,72, 164,50, 162,08, 161,95, 161,08, 158,79, 156,79, 147,23, 144,06, 135,26, 134,43, 134,39, 130,67, 130,60, 129,61, 128,30, 127,36, 127,20, 126,29, 126,23, 125,85, 125,75, 123,20, 122,99, 122,94, 118,84, 118,71, 118,64, 118,53, 115,45, 111,06, 88,48, 70,09, 56,06, 56,03, 38,38, 25,38, 22,01, 21,63, 21,27, 21,04.

Соединение С-10.C6 6-хлор-2'-(5-хлор-2-фторфенил)-5'-[6-(диметиламино)-4-метоксипиридин-3-ил]-6'-(пропан-2-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'H-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион.



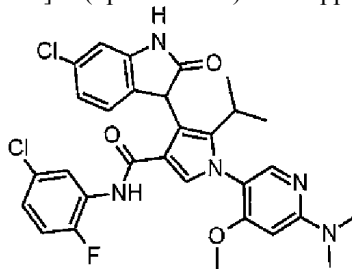
В 100 мл колбу, снабженную магнитной мешалкой, добавляли соединение С-9 С6 (2,96 г, 4,8 ммоль) и ТФУК (30 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч при 40°C. После этого времени анализ УЭЖХМС показал 97% целевого продукта С-10 С6. Реакционную смесь испаряли досуха. К остатку добавляли 20 мл метанола и насыщенный NaHCO_3 (200 мл). Суспензию нагревали с обратным холодильником в течение 2 ч и затем охлаждали до комнатной температуры. Осадок отфильтровывали и вымачивали в метаноле (20 мл). Твердое вещество собирали фильтрованием, промывали небольшим количеством метанола и высушивали под вакуумом с получением целевого продукта С-10 С6 в виде белого с желтоватым или сероватым оттенком твердого вещества (2,3 г, выход 83%, чистота >99% в соответствии с анализом УЭЖХМС).

Соединение С-9.C6: N-(5-хлор-2-фторфенил)-4-(6-хлор-3-гидрокси-2-оксо-2,3-дигидро-1H-индол-3-ил)-1-[6-(диметиламино)-4-метоксипиридин-3-ил]-5-(пропан-2-ил)-1H-пиррол-3-карбоксамид.



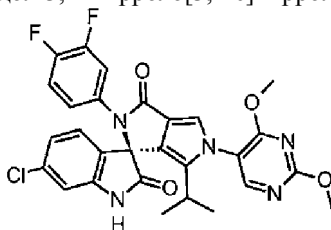
В 100 мл колбу, снабженную магнитной мешалкой, добавляли соединение C-8.C6 (4 г, 6,7 ммоль, 1 экв.) и ТГФ (30 мл) с последующим добавлением триэтилфосфита (1,72 мл, 10,1 ммоль, 1,5 экв.). Затем смесь охлаждали до 3°C и добавляли несколькими порциями трет-пентоксид натрия (1,48 г, 13,4 ммоль, 2 экв.). После нагревания до комнатной температуры реакционную смесь перемешивали в течение 22 ч (колба была снабжена трубкой с CaCl₂). После этого времени анализ УЭЖХМС показал 94% целевого продукта C-9.C6. К смеси добавляли воду (200 мл) и 1 М НСl до достижения pH 8. Водную фазу экстрагировали АсОEt (3×150 мл). Органические фазы объединяли и высушивали над MgSO₄. После концентрирования неочищенный материал дополнительно очищали с помощью хроматографии (10-30% изо-PrOH/н-гексан) с получением соединения C-9.C6 (3 г, выход 72%, чистота 94% в соответствии с анализом УЭЖХМС).

Соединение C-8.C6: N-(5-хлор-2-фторфенил)-4-(6-хлор-2-оксо-2,3-дигидро-1H-индол-3-ил)-1-[6-(диметиламино)-4-метоксипиридин-3-ил]-5-(пропан-2-ил)-1H-пиррол-3-карбоксамид.



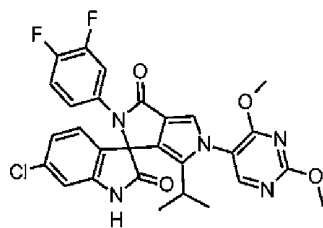
В круглодонной колбе под давлением (250 мл), снабженной магнитной мешалкой, соединения C-4A (5,37 г, 21,5 ммоль, 1 экв.), C-7C (3,6 г, 21,5 ммоль, 1 экв.), C-6B (4,25 г, 21,5 ммоль, 1 экв.) и PTSA·H₂O (4,09 г, 21,5 ммоль, 1 экв.) суспендировали в воде (9 мл) и метаноле (36 мл). Колбу плотно закрывали, затем смесь нагревали до 60°C и перемешивали при данной температуре в течение 23 ч. После этого времени анализ УЭЖХМС показал 17% ожидаемого продукта C-8.C6. Затем добавляли дополнительную порцию соединения C-6B (1,06 г, 5,4 ммоль), смесь нагревали до 75°C и перемешивали при данной температуре в течение 42 ч. Образец собирали, и анализ УЭЖХМС показал 58% ожидаемого продукта C-8.C6. Реакционную смесь испаряли досуха. К остатку добавляли ДХМ (200 мл), 5% раствор NaHCO₃ (150 мл) и смесь перемешивали в течение 20 мин. Водную фазу экстрагировали ДХМ (4×200 мл). Органические фазы объединяли и высушивали над MgSO₄. После концентрирования неочищенный материал очищали с помощью колоночной хроматографии (20-50% АсОEt/н-гексан) с получением соединения C-8.C6 (4,1 г, выход 32%, чистота 90% в соответствии с анализом УЭЖХМС).

Соединение (7), C7: (3S)-6-хлор-2'-(3,4-дифторфенил)-5'-(2,4-диметоксиимидин-5-ил)-6'-(пропан-2-ил)-1,2,3,5'-тетрагидро-2'H-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион.



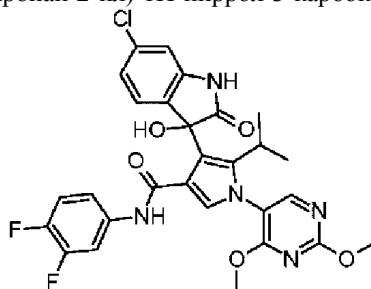
Указанное в заголовке соединение получали после разделения с помощью препаративной хиральной СФХ (способ G) или хиральной ОФ-ВЭЖХ (способ O) рацемического соединения C-10.C7; >99% э.и.; t_r: 5,61 мин (способ O). ¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 8,76 (уш.с, 1H), 8,23 (с, 1H), 7,23-7,18 (м, 1H), 7,11-7,06 (м, 1H), 7,06-6,98 (м, 2H), 6,98-6,90 (м, 1H), 6,90-6,85 (м, 1H), 6,83-6,76 (м, 1H), 4,06 (с, 3H), 3,99 (с, 3H), 2,49-2,39 (м, 1H), 0,90 (д, J= 7,0 Гц, 3H), 0,51 (д, J= 7,0 Гц, 3H); ¹³C ЯМР (125 МГц, CDCl₃) δ 175,3, 166,5, 165,7, 164,9, 157,0, 150,9, 149,0, 148,9, 148,8, 142,2, 136,4, 134,3, 132,3, 126,5, 126,2, 124,9, 123,7, 122,9, 120,6, 118,1, 118,0, 117,8, 117,5, 117,4, 116,1, 111,7, 77,3, 77,0, 76,7, 70,2, 55,6, 54,7, 25,6, 21,3.

Соединение C-10.C7: 6-хлор-2'-(3,4-дифторфенил)-5'-(2,4-диметоксиимидин-5-ил)-6'-(пропан-2-ил)-1,2,3,5'-тетрагидро-2'H-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион.



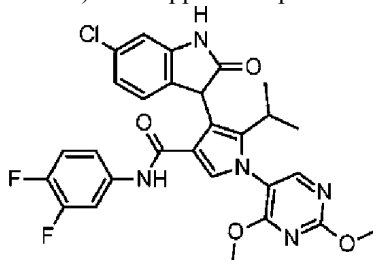
В 250 мл колбу, снабженную магнитной мешалкой, добавляли соединение C-9.C7 (7,34 г, 15,57 ммоль) и ТФУК (80 мл) при комнатной температуре (ТФУК добавляли приблизительно 5 мл/мин). Затем реакционную смесь перемешивали в течение 3 ч при 40°C. После этого времени анализ УЭЖХМС показал 84% площади пика продукта. Смесь охлаждали до комнатной температуры и испаряли досуха. Неочищенный продукт очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (20%-50% AcOEt/н-гексан). После удаления растворителей продукт C-10.C7 получали в виде светло-коричневого твердого вещества/пены (4,45 г, 63% выход после двухстадийного синтеза) с чистотой 93% в соответствии с анализом УЭЖХМС.

Соединение C-9.C7: 4-(6-хлор-3-гидрокси-2-оксо-2,3-дигидро-1Н-индол-3-ил)-N-(3,4-дифторфенил)-1-(2,4-диметоксипиримидин-5-ил)-5-(пропан-2-ил)-1Н-пиррол-3-карбоксамид.



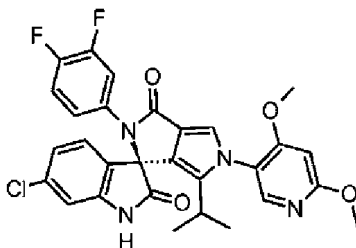
В 500 мл колбу, снабженную магнитной мешалкой, добавляли соединение C-8.C7 (7,14 г, 12,57 ммоль, 1 экв.) и ТГФ (140 мл). Затем реакционную смесь охлаждали на ледяной бане до 0°C и одной порцией добавляли триметилфосфит (2,25 мл, 18,86 ммоль, 1,5 экв.) с последующим добавлением трепентоксида натрия (2,77 г, 25,14 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 1,5 ч при 0°C (колба была снабжена трубкой с CaCl₂). После этого времени анализ УЭЖХМС показал 88% площади пика продукта. Добавляли холодную воду (50 мл) и реакционную смесь подкисляли 5% HCl до pH~5. Реакционную смесь перемешивали в течение приблизительно 0,5 ч при комнатной температуре и полученный осадок отфильтровывали и промывали 100 мл холодной воды. Полученное таким образом твердое вещество повторно растворяли в AcOEt, промывали водой, высушивали над Na₂SO₄ и растворитель испаряли. Неочищенный продукт C-9.C7 получали в виде коричневого твердого вещества (чистота 83% в соответствии с анализом УЭЖХМС) и использовали в следующей стадии без какой-либо дополнительной очистки.

Соединение C-8.C7: 4-(6-хлор-2-оксо-2,3-дигидро-1Н-индол-3-ил)-N-(3,4-дифторфенил)-1-(2,4-диметоксипиримидин-5-ил)-5-(пропан-2-ил)-1Н-пиррол-3-карбоксамид.



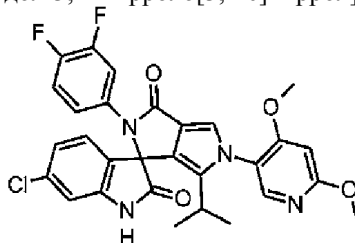
В 250 мл герметичную пробирку, снабженную магнитной мешалкой, добавляли соединения C-4A (12,48 г, 50 ммоль, 1 экв.), C-7A (7,76 г, 50 ммоль, 1 экв.) и C-6E (9,06 г, 50 ммоль, 1 экв.) с последующим добавлением AcOH (100 мл) и пробирку плотно закрывали пластиковой пробкой. Смесь нагревали до 80°C (температура нагревательной бани) и перемешивали при данной температуре в течение ночи. После этого времени анализ УЭЖХМС показал почти полное расходование исходных материалов (что составляет 40% площади пика продукта). Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и AcOH испаряли досуха. Остаток предварительно адсорбировали на силикагеле и очищали с помощью хроматографии (50% AcOEt/н-гексан). После удаления растворителей продукт C-8.C7 получали в виде темно-коричневого твердого вещества/пены (7,63 г, выход 24,9%, чистота 84% в соответствии с анализом УЭЖХМС).

Соединение (8), C8: (3S)-6-хлор-2'-(3,4-дифторфенил)-5'-(4,6-диметоксипиримидин-3-ил)-6'-(пропан-2-ил)-1,2,3,5'-тетрагидро-2'H-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион.



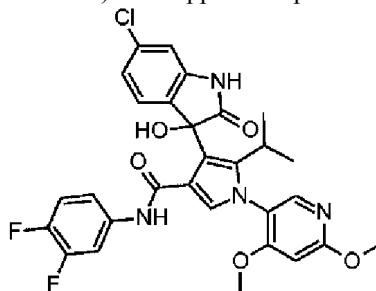
Указанное в заголовке соединение получали после разделения с помощью препаративной хиральной СФХ (способ Н) или хиральной ОФ-ВЭЖХ (способ N) рацемического соединения C-10.C8; >99% э.и.; t_r : 6,2 мин (способ N'); ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6) δ 11,15 (уш.с, 1H), 8,07 (д, $J=34,9$ Гц, 1H), 7,46-7,37 (м, 1H), 7,37-7,27 (м, 2H), 7,15 (м, 1H), 7,08 (дд, $J=8,0, 1,9$ Гц, 1H), 6,92 (м, $J=2,2$ Гц, 1H), 6,85 (м, 1H), 6,64 (д, $J=4,0$ Гц, 1H), 3,90 (с, 3H), 3,83 (д, $J=23,6$ Гц, 3H), 2,37 (м, 1H), 0,85 (дд, $J=13,0, 7,0$ Гц, 3H), 0,41 (дд, $J=9,4, 6,9$ Гц, 3H); ^{13}C ЯМР (125 МГц, DMSO-d_6) δ 175,18, 175,05, 165,31, 164,56, 162,80, 162,74, 149,75, 149,64, 147,79, 147,68, 147,33, 147,24, 145,92, 145,79, 143,48, 143,43, 134,62, 134,59, 133,42, 127,08, 126,18, 126,10, 122,71, 122,67, 122,58, 120,23, 119,41, 117,79, 117,70, 117,55, 117,23, 117,09, 110,62, 93,37, 93,29, 69,61, 56,21, 53,64, 24,90, 21,39, 21,08, 20,64, 20,50.

Соединение C-10.C8: 6-хлор-2'-(3,4-дифторфенил)-5'-(4,6-диметоксипиридин-3-ил)-6'-(пропан-2-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'H-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион.



В 100 мл колбу, снабженную магнитной мешалкой, добавляли соединение C-9.C8 (2 г, 3,5 ммоль) и колбу охлаждали на ледяной бане. Затем медленно добавляли ТФУК (20 мл) (приблизительно 2 мл/мин). Охлаждающую баню убирали и реакционную смесь перемешивали 1 ч при комнатной температуре. После этого времени анализ УЭЖХМС показал 75% площади пика продукта. Реакционную смесь перемешивали еще 1 ч, смесь выливали в лед (приблизительно 50 г) и разбавляли ДХМ (50 мл). Фазы разделяли и водную фазу трижды экстрагировали ДХМ (3×50 мл). Объединенные органические фазы промывали водой, соевым раствором и растворитель удаляли под вакуумом. Остаток предварительно адсорбировали на силикагеле и очищали с помощью флэш-хроматографии (50% AcOEt в н-гексане). После удаления растворителей продукт C-10.C8 получали в виде красно-коричневого твердого вещества/пены (815 мг, выход 41%) с чистотой 98% в соответствии с анализом УЭЖХМС. Вышеуказанную реакцию повторяли еще три раза, все полученные образцы (5,76 г) соединения C-10.C8 объединяли и перемешивали в 25 мл смеси AcOEt /н-гексан (1:5). Смесь нагревали до температуры кипения с обратным холодильником и добавляли AcOEt до тех пор, пока все оставшееся твердое вещество не растворилось. Затем по каплям добавляли 75 мл н-гексана и смесь перемешивали 16 ч при комнатной температуре. Твердое вещество отфильтровывали, промывали AcOEt /н-гексаном (1:10, 25 мл) и высушивали под высоким вакуумом. В результате конечный продукт C-10.C8 получали в виде светло-красного твердого вещества (4,77 г, чистота 98% в соответствии с анализом УЭЖХМС).

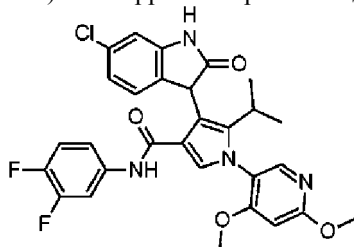
Соединение C-9.C8: 4-(6-хлор-3-гидрокси-2-оксо-2,3-дигидро-1H-индол-3-ил)-N-(3,4-дифторфенил)-1-(4,6-диметоксипиридин-3-ил)-5-(пропан-2-ил)-1H-пиррол-3-карбоксамид.



В 100 мл колбу, снабженную магнитной мешалкой, добавляли соединение C-8.C8 (2 г, 3,5 ммоль, 1 экв.) и ТГФ (35 мл) с последующим добавлением триметилфосфита (0,83 мл, 7 ммоль, 2 экв.). Затем реакционную смесь охлаждали на ледяной бане и одной порцией добавляли трет-пептоксид натрия (1,54 г, 14 ммоль, 4 экв.). Охлаждающую баню убирали и реакционную смесь перемешивали 1 ч при комнатной температуре (колба была снабжена трубкой с CaCl_2). После этого времени анализ УЭЖХМС показал

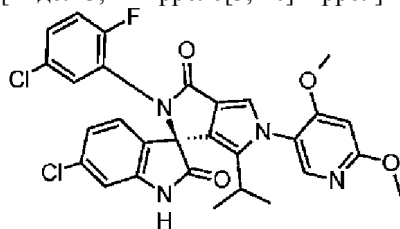
80% площади пика продукта. После еще одного часа перемешивания приблизительно 90% растворителя удаляли и такую полученную смесь разбавляли 50 г льда. Полученную суспензию подкисляли 1 М HCl до pH~5 и дополнительно разбавляли 50 мл ДХМ. Фазы разделяли и водную фазу экстрагировали ДХМ (2×30 мл). Объединенные органические фазы промывали водой, солевым раствором, высушивали над Na₂SO₄ и растворитель удаляли под вакуумом. Неочищенный продукт С-9.С8 получали в виде красно-черного твердого вещества/пены (чистота 70% в соответствии с анализом УЭЖХМС) и использовали в следующей стадии без какой-либо дополнительной очистки (выход был превышен 100%).

Соединение С-8.С8: 4-(6-хлор-2-оксо-2,3-дигидро-1Н-индол-3-ил)-N-(3,4-дифторфенил)-1-(4,6-диметоксипиридин-3-ил)-5-(пропан-2-ил)-1Н-пиррол-3-карбоксамид.



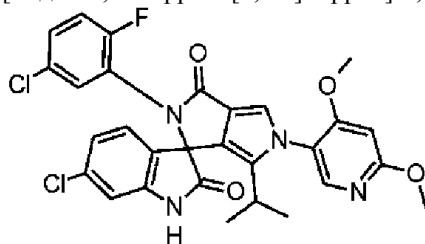
В 500 мл колбу, снабженную магнитной мешалкой, добавляли соединения С-4А (8,1 г, 32,4 ммоль, 1 экв.), С-7В (5 г, 32,4 ммоль, 1 экв.) и С-6Е (5,9 г, 32,4 ммоль, 1 экв.) с последующим добавлением AcOH (80 мл) и колбу плотно закрывали пластиковой пробкой. Смесь нагревали до 85°C (температура нагревательной бани) и перемешивали при данной температуре в течение 16 ч. После этого времени анализ УЭЖХМС показал почти полное расходование исходных материалов (что составляет 55% площади пика продукта). Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и AcOH испаряли досуха. Остаток предварительно адсорбировали на силикагеле и очищали с помощью флэш-хроматографии (от 30% до 60% AcOEt в н-гексане). После удаления растворителей продукт С-8.С8 получали в виде светло-красного твердого вещества (8 г, выход 44%) с чистотой 87% в соответствии с анализом УЭЖХМС.

Соединение (9), С9: (3S)-6-хлор-2'-(5-хлор-2-фторфенил)-5'-(4,6-диметоксипиридин-3-ил)-6'-(пропан-2-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'Н-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион.



Указанное в заголовке соединение получали после разделения с помощью препаративной хиральной СФХ (способ I) или хиральной ОФ-ВЭЖХ (способ S) рацемического соединения С-10.С9; >99% э.и.; t_r: 8,85 мин (способ S'). ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 11,23 (уш.с, 1H), 8,10 (д, J= 26,0 Гц, 1H), 7,44 (дд, J= 8,9, 4,1, 2,7 Гц, 1H), 7,35-7,27 (м, 2H), 7,17 (дд, J= 8,1, 1,8 Гц, 1H), 7,10-7,02 (м, 2H), 6,90 (д, J= 1,9 Гц, 1H), 6,64 (д, J= 2,1 Гц, 1H), 3,90 (с, 3H), 3,83 (д, J= 20,7 Гц, 3H), 2,45-2,32 (м, 1H), 0,84 (дд, J= 9,4, 7,0 Гц, 3H), 0,42 (дд, J= 7,1, 4,0 Гц, 3H); ¹³C ЯМР (126 МГц, DMSO-d₆) δ 175,68, 165,85, 164,38, 163,36, 163,24, 158,77, 156,77, 146,44, 144,17, 135,31, 134,21, 130,70, 129,60, 128,33, 127,33, 126,18, 125,78, 125,66, 123,46, 122,92, 120,71, 119,27, 118,72, 118,54, 111,11, 93,90, 70,08, 56,78, 54,18, 25,42, 22,00, 21,64, 21,24, 21,04.

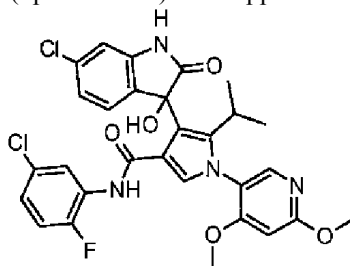
Соединение С-10.С9: 6-хлор-2'-(5-хлор-2-фторфенил)-5'-(4,6-диметоксипиридин-3-ил)-6'-(пропан-2-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'Н-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион.



В 100 мл колбе, снабженной магнитной мешалкой, соединение С-9.С9 (5,8 г, 9,68 ммоль) растворяли в 30 мл безводного ДХМ и одной порцией добавляли 10 мл ТФУК. Реакционную смесь перемешивали 3 ч при комнатной температуре. После этого времени анализ УЭЖХМС показал 54% площади пика продукта. Реакционную смесь испаряли досуха. Остаток перемешивали в 30 мл AcOEt в течение 1 ч и бледно-серое твердое вещество осаждали из смеси. Твердое вещество отделяли фильтрованием и высушивали на воздухе. В результате получали продукт С-10.С9 (2,2 г, выход 34,1% после 2 стадий, исходя из С-8.С9,

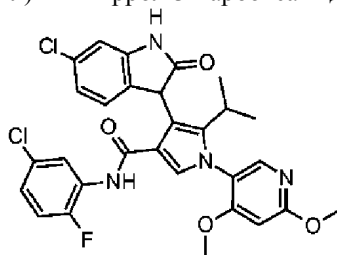
чистота 94% в соответствии с анализом УЭЖХМС).

Соединение С-9.С9: N-(5-хлор-2-фторфенил)-4-(6-хлор-3-гидрокси-2-оксо-2,3-дигидро-1H-индол-3-ил)-1-(4,6-диметоксипиридин-3-ил)-5-(пропан-2-ил)-1H-пиррол-3-карбоксамид.



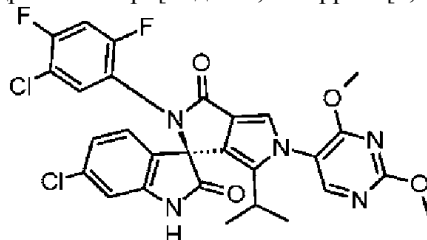
В 100 мл колбу, снабженную магнитной мешалкой, добавляли соединение С-8.С9 (6,08 г, 10,5 ммоль, 1 экв.) и ТГФ (62 мл) с последующим добавлением триметилфосфита (2,47 мл, 21 ммоль, 2 экв.). Затем реакционную смесь охлаждали на ледяной бане и одной порцией добавляли трет-пентоксид натрия (3,47 г, 31,5 ммоль, 3 экв.). Охлаждающую баню убирали и реакционную смесь перемешивали 1 ч при комнатной температуре (колба была снабжена трубкой с CaCl_2). После этого времени анализ УЭЖХМС показал 94% площади пика продукта. Реакционную смесь охлаждали до приблизительно -10°C , затем выливали на лед и реакционную смесь подкисляли 0,5 М HCl до pH 5. Водную фазу экстрагировали AcOEt (3×100 мл), высушивали над Na_2SO_4 и растворитель испаряли под вакуумом. Неочищенный продукт С-9.С9 получали в виде красно-черного твердого вещества/пены (чистота 68% в соответствии с анализом УЭЖХМС) и использовали в следующей стадии без какой-либо дополнительной очистки (выход был превышен 100%).

Соединение С-8.С9: N-(5-хлор-2-фторфенил)-4-(6-хлор-2-оксо-2,3-дигидро-1H-индол-3-ил)-1-(4,6-диметоксипиридин-3-ил)-5-(пропан-2-ил)-1H-пиррол-3-карбоксамид.



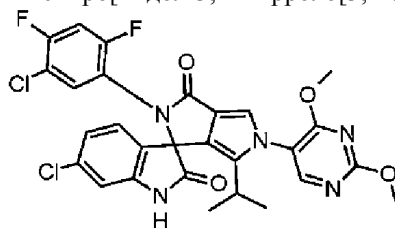
В 100 мл колбу, снабженную магнитной мешалкой, добавляли соединения С-4А (7,79 г, 30 ммоль, 1 экв.), С-7В (4,68 г, 30 ммоль, 1 экв.) и С-6В (6 г, 30 ммоль, 1 экв.) с последующим добавлением AcOH (60 мл) и колбу плотно закрывали пластиковой пробкой. Смесь нагревали до 85°C (температура нагревательной бани) и перемешивали при данной температуре в течение 16 ч. После этого времени анализ УЭЖХМС показал почти полное расходование исходных материалов (что составляет 40% площади пика продукта). Реакционную смесь охлаждали до приблизительно 15°C и обильный красный твердый осадок отделяли фильтрованием от реакционной смеси. Фильтрат испаряли досуха. Остаток предварительно адсорбировали на силикагеле и очищали с помощью флэш-хроматографии (от 10% до 60% AcOEt в н-гексане). После удаления растворителей продукт С-8.С9 получали в виде светло-красного твердого вещества (5,58 г, выход 31,5%) с чистотой 93% в соответствии с анализом УЭЖХМС.

Соединение (10), С10: (3S)-6-хлор-2'-(5-хлор-2,4-дифторфенил)-5'-(2,4-диметоксипиримидин-5-ил)-6'-(пропан-2-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'H-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион.



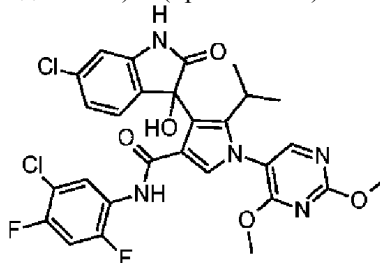
Указанное в заголовке соединение получали после разделения с помощью препаративной хиральной ОФ-ВЭЖХ рацемического соединения С-10.С10 с использованием способа Р; >99% э.и.; t_r : 9,96 мин (способ Р); ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6) δ 11,22 (уш.с, 1H), 8,50 (уш.с, 1H), 7,64 (т, $J = 9,4$ Гц, 1H), 7,40 (с, 1H), 7,20 (т, $J = 7,5$ Гц, 2H), 7,10 (дд, $J = 8,0, 2,0$ Гц, 1H), 6,91 (д, $J = 1,9$ Гц, 1H), 3,98 (с, 3H), 3,95 (с, 3H), 2,47-2,41 (м, 1H), 0,85 (д, $J = 7,0$ Гц, 3H), 0,44 (д, $J = 6,9$ Гц, 3H); ^{13}C ЯМР (126 МГц, DMSO-d_6) δ 175,36, 170,76, 166,43, 164,71, 164,35, 159,05, 158,96, 158,36, 158,26, 157,95, 157,03, 156,93, 156,36, 156,26, 144,01, 135,46, 134,20, 131,13, 127,41, 125,84, 123,55, 123,09, 121,72, 121,63, 119,46, 118,77, 116,23, 115,59, 115,44, 111,19, 107,31, 107,10, 106,90, 70,05, 60,19, 55,66, 55,01, 25,34, 22,31-20,83.

Соединение С-10.С10: 6-хлор-2'-(5-хлор-2,4-дифторфенил)-5'-(2,4-диметоксипиримидин-5-ил)-6'-(пропан-2-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'H-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион.



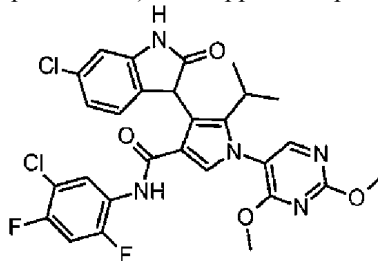
АсОН (25 мл) помещали в 100 мл колбу, снабженную магнитной мешалкой. Затем одной порцией добавляли С-9.С10 (2,3 г, 4 ммоль, 1 экв.). По каплям добавляли МсОН (0,25 мл, 4,85 ммоль, 1,2 экв.) и смесь перемешивали в течение 2 ч при 45°C. Большую часть АсОН испаряли и остаток растворяли в ДХМ (100 мл), затем добавляли 100 мл воды и смесь обрабатывали 3 М NaOH до достижения pH~8. Фазы разделяли и водную фазу экстрагировали ДХМ (2×100 мл). Объединенные органические фазы промывали соевым раствором (50 мл), высушивали над MgSO₄ и концентрировали. Остаток очищали с помощью флэш-хроматографии (CHCl₃:MeOH; 100:0→98:2) с получением 1,7 г продукта С-10.С10 с чистотой 91% в соответствии с анализом УЭЖХМС.

Соединение С-9.С10: N-(5-хлор-2,4-дифторфенил)-4-(6-хлор-3-гидрокси-2-оксо-2,3-дигидро-1H-индол-3-ил)-1-(2,4-диметоксипиримидин-5-ил)-5-(пропан-2-ил)-1H-пиррол-3-карбоксамид.



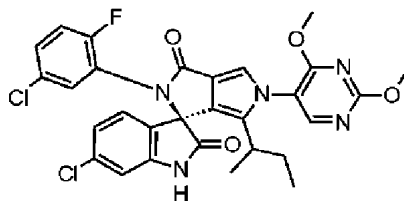
В 100 мл колбу, снабженную магнитной мешалкой, добавляли соединение С-8.С10 (8,9 г, 14,8 ммоль, 1 экв.) и ТГФ (50 мл) с последующим добавлением триэтилфосфита (3,8 мл, 22,2 ммоль, 1,5 экв.). Раствор охлаждали до 0°C и затем добавляли несколькими порциями трет-бутоксид натрия (2,85 г, 29,6 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 3 ч при комнатной температуре (колба была снабжена трубкой с CaCl₂). После этого времени анализ УЭЖХМС показал 82% целевого продукта. Реакционную смесь медленно выливали в охлажденную (0-5°C) смесь воды (150 мл) и 36% HCl (5 мл). После добавления этилацетата (100 мл) смесь переносили в делительную воронку. Слои разделяли и водную фазу еще раз экстрагировали АсОEt (100 мл). Объединенные органические фазы промывали соевым раствором, высушивали над MgSO₄ и концентрировали под вакуумом. Масляный остаток предварительно адсорбировали на силикагеле и очищали с помощью флэш-хроматографии (ДХМ/MeOH 100:0→98:2). Выделяли две фракции продукта С-9.С10: 3 г с чистотой 85% и 3 г с чистотой 41% в соответствии с анализом УЭЖХМС. Выход: 50% (включая обе фракции).

Соединение С-8.С10: N-(5-хлор-2,4-дифторфенил)-4-(6-хлор-2-оксо-2,3-дигидро-1H-индол-3-ил)-1-(2,4-диметоксипиримидин-5-ил)-5-(пропан-2-ил)-1H-пиррол-3-карбоксамид.



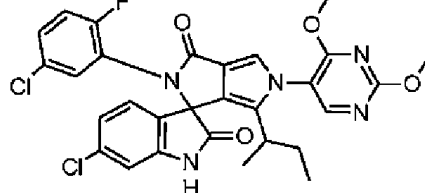
В 250 мл круглодонной колбе, снабженной магнитной мешалкой, соединения С-4А (11,6 г, 47 ммоль, 1 экв.), С-7А (8,7 г, 56 ммоль, 1,2 экв.) и С-6F (10 г, 47 ммоль, 1 экв) суспендировали в 75 мл АсОН и колбу плотно закрывали пластиковой пробкой. Смесь нагревали до 70°C и перемешивали при данной температуре в течение 24 ч. После этого времени анализ УЭЖХМС показал 47% ожидаемого продукта. Реакционную смесь испаряли досуха. Твердый остаток предварительно адсорбировали на силикагеле и очищали с помощью флэш-хроматографии (от 20% до 50% АсОEt в н-гексане). Все фракции, которые содержали продукт, испаряли досуха с получением 6,6 г целевого продукта С-8.С10 с чистотой 83% в соответствии с анализом УЭЖХМС. Выход: 32%.

Соединение (11), С11: (3S)-6'-(бутан-2-ил)-6-хлор-2'-(5-хлор-2-фторфенил)-5'-(2,4-диметоксипиримидин-5-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'H-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион.



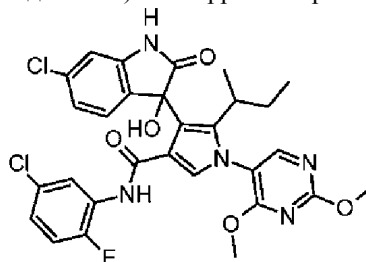
Указанное в заголовке соединение (диастереомерная смесь) получали после разделения с помощью препаративной хиральной ВЭЖХ-ОФ рацемического соединения C-10.C11 с использованием способа М; >99% э.и.; t_r : 9,96 мин (способ М'); ^1H ЯМР (500 МГц, DMCO-d_6) δ 11,24 (с, 1H), 8,50 (уш.с, 1H), 7,44 (ддд, $J=8,9, 4,2, 2,7$ Гц, 1H), 7,38 (с, 1H), 7,31 (т, $J=9,1$ Гц, 1H), 7,23-7,14 (м, 1H), 7,03 (дд, $J=6,4, 2,7$ Гц, 1H), 6,84 (ддд, $J=10,5, 8,4, 2,4$ Гц, 1H), 6,72 (дд, $J=8,9, 2,4$ Гц, 1H), 3,98 (с, 3H), 3,95 (уш.с, 3H), 3,09 (кв, $J=7,3$ Гц, 2H), 2,48-2,39 (м, 1H), 1,18 (т, $J=7,2$ Гц, 3H), 0,85 (д, $J=7,0$ Гц, 2H), 0,44 (д, $J=7,0$ Гц, 3H); ^{13}C ЯМР (126 МГц, DMCO-d_6) δ 175,83, 166,45, 164,83, 164,70, 164,26, 162,87, 158,76, 157,95, 156,76, 144,36, 144,26, 134,08, 130,72, 130,66, 129,55, 128,30, 128,28, 127,61, 127,53, 125,73, 125,61, 123,86, 122,88, 119,71, 118,70, 118,59, 118,52, 116,26, 109,68, 109,50, 99,43, 99,21, 70,02, 55,66, 55,01, 46,14, 25,33, 21,51, 11,45, 9,08.

Соединение C-10.C11: 6'-(бутан-2-ил)-6-хлор-2'-(5-хлор-2-фторфенил)-5'-(2,4-диметоксипиримидин-5-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'H-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион.



В 250 мл колбу, снабженную магнитной мешалкой, добавляли соединение C-9.C11 (2,8 г, 4,56 ммоль) вместе с ДХМ (60 мл). Затем добавляли ТФУК (30 мл) (приблизительно 2 мл/мин). Реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч при комнатной температуре. После этого времени анализ УЭЖХМС показал 65% площади пика ожидаемого продукта. Затем смесь выливали на лед (приблизительно 200 мл) и разбавляли ДХМ (100 мл). Фазы разделяли и водную фазу трижды экстрагировали ДХМ (3×50 мл). Объединенные органические фазы промывали водой, солевым раствором, высушивали над MgSO_4 и концентрировали под вакуумом. Неочищенный продукт C-10.C11 очищали с помощью колоночной хроматографии (от 10 до 40% ацетона в н-гексане). В результате получали 1,5 г коричневого твердого вещества C-10.C11. Данное твердое вещество перемешивали в AcOEt (5 мл), отделяли фильтрованием, промывали 20 мл AcOEt и высушивали на воздухе. В результате продукт C-10.C11 получали в виде белых твердых частиц (1,4 г, чистота 98% в соответствии с анализом УЭЖХМС).

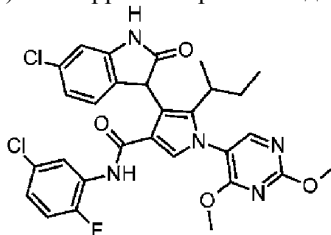
Соединение C-9.C11: 5 -(бутан-2-ил)-N-(5-хлор-2-фторфенил)-4-(6-хлор-3-гидрокси-2-оксо-2,3-дигидро-1H-индол-3-ил)-1-(2,4-диметоксипиримидин-5-ил)-1H-пиррол-3-карбоксамид.



В 250 мл колбу, снабженную магнитной мешалкой, добавляли соединение C-8.C11 (3 г, 5 ммоль, 1 экв.) и ТГФ (80 мл) с последующим добавлением триметилфосфита (1,21 мл, 10 ммоль, 2 экв.). Затем реакционную смесь охлаждали на ледяной бане и добавляли небольшими порциями трет-пентоксид натрия (2,2 г, 20 ммоль, 4 экв.). Охлаждающую баню убирали и реакционную смесь перемешивали в течение 5 ч при комнатной температуре (колба была снабжена трубкой с CaCl_2). После этого времени анализ УЭЖХМС показал 71% двух (диастереомерных) пиков продукта C-9.C11. Реакционную смесь разбавляли 200 мл воды со льдом. Полученную суспензию подкисляли 3 М HCl до pH 5 и разбавляли 100 мл AcOEt . Фазы разделяли и водную фазу трижды экстрагировали AcOEt (3×50 мл). Объединенные органические фазы промывали водой, солевым раствором, высушивали над Na_2SO_4 и растворитель удаляли под вакуумом. Неочищенный продукт C-9.C11 получали в виде темно-красного масла (чистота 72% в соответствии с анализом УЭЖХМС) и использовали в следующей стадии без какой-либо дополнительной очистки.

Соединение C-8.C11: 5-(бутан-2-ил)-N-(5-хлор-2-фторфенил)-4-(6-хлор-2-оксо-2,3-дигидро-1H-индол-

3-ил)-1-(2,4-диметоксипиридин-5-ил)-1Н-пиррол-3-карбоксамид.



В 250 мл колбу, снабженную магнитной мешалкой, добавляли соединения С-4В (4,44 г, 16,8 ммоль, 1 экв.), С-7А (2,87 г, 18,5 ммоль, 1,1 экв.) и С-6F (3,32 г, 16,8 ммоль, 1 экв.) с последующим добавлением АсОН (30 мл) и колбу плотно закрывали пластиковой пробкой. Смесь нагревали до 90°C (температура нагревательной бани) и перемешивали при данной температуре в течение 16 ч. После этого времени анализ УЭЖХМС показал почти полное расходование исходных материалов (что составляет 50% площади пика продукта). Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и испаряли досуха. Остаток предварительно адсорбировали на силикагеле и очищали с помощью флэш-хроматографии (от 30% до 60% АсОEt в н-гексане). После удаления растворителей продукт С-8.С11 получали в виде темно-красного твердого вещества/пены (3,5 г, выход 35%) с чистотой 83% в соответствии с анализом УЭЖХМС.

Получение и анализ энантиомеров

Все энантиомеры разделяли на препаративной СФХ или ВЭЖХ с хиральными колонками.

Условия хиральной очистки - СФХ.

Способ А: колонка: Lux Amylose-1 (21,2 мм×250 мм, 5 мкм), поток 50 мл/мин, изократическое элюирование МеОН:СО₂, 25:75, детектирование: УФ 210 нм.

Способ В: колонка: Lux Cellulose-1 (21,2 мм×250 мм, 5 мкм), поток 50 мл/мин, изократическое элюирование МеОН:СО₂, 25:75, детектирование: УФ 210 нм.

Способ С: колонка: Lux Cellulose-4 (21,2 мм×250 мм, 5 мкм), поток 50 мл/мин, изократическое элюирование МеОН:СО₂, 45:55, детектирование: УФ 215 нм.

Способ D: колонка: Chiralpak IC (20 мм×250 мм, 5 мкм), поток 21 мл/мин, изократическое элюирование EtOH:СО₂, 45:55, детектирование: УФ 210 нм.

Способ Е: колонка: Lux Cellulose-4 (21,2 мм×250 мм, 5 мкм), поток 50 мл/мин, изократическое элюирование МеОН:СО₂, 40:60, детектирование: УФ 210 нм.

Способ F: колонка: Chiralpak AS-H (20 мм×250 мм, 5 мкм), поток 50 мл/мин, изократическое элюирование МеОН:СО₂, 25:75, детектирование: УФ 210 нм.

Способ G: колонка: Chiralpak IC (20 мм×250 мм, 5 мкм), поток 50 мл/мин, изократическое элюирование МеОН:СО₂, 45:55, детектирование: УФ 210 нм.

Способ H: колонка: Lux Cellulose-4 (30 мм×250 мм, 5 мкм), поток 50 мл/мин, изократическое элюирование МеОН:СО₂, 40:60, детектирование: УФ 210 нм.

Условия хиральной очистки - НФ-ВЭЖХ.

Способ I: колонка: Chiralpak IC (20 мм×250 мм, 5 мкм), поток 21 мл/мин, изократическое элюирование МеОН, детектирование: УФ 220 нм.

Условия хиральной очистки - ОФ-ВЭЖХ.

Способ J: колонка: Lux Cellulose-2 (21 мм×150 мм, 5 мкм), поток: 30 мл/мин, изократическое элюирование, АСН:МеОН:Н₂О, 50:20:30, детектирование: УФ 254 нм.

Способ K: колонка: Lux Cellulose-2 (21 мм×150 мм, 5 мкм), поток: 30 мл/мин, изократическое элюирование, АСН:Н₂О, 80:20, детектирование: УФ 254 нм.

Способ L: колонка: Lux Cellulose-2 (21 мм×150 мм, 5 мкм), поток: 30 мл/мин, изократическое элюирование, АСН:Н₂О, 65:35, детектирование: УФ 254 нм.

Способ M: колонка: Lux Cellulose-2 (21 мм×150 мм, 5 мкм), поток: 30 мл/мин, изократическое элюирование, АСН:Н₂О+НСО₂НН₄ (подвижная фаза А1), 90:10, детектирование: УФ 254 нм.

Способ N: колонка: Lux Cellulose-2 (21 мм×150 мм, 5 мкм), поток: 30 мл/мин, изократическое элюирование, АСН:Н₂О, 70:30, детектирование: УФ 254 нм.

Способ O: колонка: Lux Cellulose-2 (21 мм×150 мм, 5 мкм), поток: 30 мл/мин, градиентное элюирование, А=АСН, В=Н₂О, детектирование: УФ 254 нм.

Время[мин]	% А	% В	Градиентная кривая
0,0	60	40	-
1,0	60	40	линейная (6)
5,0	90	10	линейная (6)
10,0	60	40	прямая (11)

Способ Р: колонка: Lux Amylose-2 (21 мм×150 мм, 5 мкм), поток: 30 мл/мин, изократическое элюирование, ACN:H₂O, 50:50, детектирование: УФ 254 нм.

Способ R: колонка: Lux Amylose-2 (21 мм×250 мм, 5 мкм), поток: 30 мл/мин, градиентное элюирование; A=ACN, B=H₂O, детектирование: УФ 254 нм.

Время[мин]	% A	% B	Градиентная кривая
0,0	60	40	-
1,0	60	40	линейная (6)
7,0	90	10	линейная (6)
12,0	60	40	прямая (11)

Способ S: колонка: Lux Amylose-2 (21 мм×250 мм, 5 мкм), поток: 30 мл/мин, изократическое элюирование, ACN:H₂O, 60:40, детектирование: УФ 254 нм.

Способ T: колонка: Lux Cellulose-4 (21 мм×150 мм, 5 мкм), поток: 30 мл/мин, изократическое элюирование, ACN:H₂O, 60:40, детектирование: УФ 254 нм.

Условия анализа хиральной чистоты - СФХ.

Способ A': колонка: Lux Amylose-1 (4,6 мм×250 мм, 5 мкм), температура колонки: 40°C, поток: 4 мл/мин, изократическое элюирование, MeOH:CO₂, 25:75, детектирование: УФ 211 нм и 254 нм.

Способ B': колонка: Lux Cellulose-1 (4,6 мм×250 мм, 5 мкм), температура колонки: 40°C, поток: 4 мл/мин, изократическое элюирование, MeOH:CO₂, 25:75, детектирование: УФ 211 и 254 нм.

Способ C: колонка: Lux Cellulose-4 (4,6 мм×250 мм, 5 мкм), температура колонки: 40°C, поток: 4 мл/мин, изократическое элюирование, MeOH:CO₂, 50:50, детектирование: УФ 210-400 нм.

Способ D': колонка: Chiralpak IC (4,6 мм×250 мм, 5 мкм), температура колонки: 40°C, поток: 4 мл/мин, изократическое элюирование, EtOH:CO₂, 45:55, детектирование: УФ 210-400 нм.

Способ E': колонка: Lux Cellulose-4 (4,6 мм×250 мм, 5 мкм), температура колонки: 40°C, поток: 4 мл/мин, изократическое элюирование, MeOH:CO₂, 40:60, детектирование: УФ 210-400 нм.

Способ F': колонка: AMS (4,6 мм×250 мм, 5 мкм), температура колонки: 40°C, поток: 4 мл/мин, изократическое элюирование, MeOH:CO₂, 30:70, детектирование: УФ 211 и 254 нм.

Способ G': колонка: Chiralpak IC (4,6 мм×250 мм, 5 мкм), температура колонки: 40°C, поток: 4 мл/мин, изократическое элюирование, MeOH:CO₂, 40:60, детектирование: УФ 210-400 нм.

Способ H': колонка: Lux Cellulose-4 (4,6 мм×250 мм, 5 мкм), температура колонки: 40°C, поток: 4 мл/мин, изократическое элюирование, MeOH:CO₂, 40:60, детектирование: УФ 211 и 254 нм.

Анализ хиральной чистоты - НФ-ВЭЖХ.

Способ I': колонка: Lux Cellulose-5 (4,6 мм×150 мм, 5 мкм), температура колонки: окружающая среда, поток: 1 мл/мин, изократическое элюирование, EtOH, детектирование: УФ 254 нм

Условия анализа хиральной чистоты - ОФ-ВЭЖХ.

Способ J': колонка: Lux Cellulose-2 (4,6 мм×150 мм, 5 мкм), температура колонки: окружающая среда, поток: 1,23 мл/мин, изократическое элюирование, ACN:MeOH:H₂O, 50:20:30, детектирование: УФ 254 нм.

Способ K': колонка: Lux Cellulose-2 (4,6 мм×150 мм, 5 мкм), температура колонки: окружающая среда, поток: 1,23 мл/мин, изократическое элюирование, ACN:H₂O, 80:20, детектирование: УФ 254 нм.

Способ L': колонка: Lux Cellulose-2 (4,6 мм×150 мм, 5 мкм), температура колонки: окружающая среда, поток: 1,23 мл/мин, изократическое элюирование, ACN:H₂O, 65:35, детектирование: УФ 254 нм.

Способ M': колонка: Lux Cellulose-2 (4,6 мм×150 мм, 5 мкм), температура колонки: окружающая среда, поток: 1,23 мл/мин, изократическое элюирование, ACN:H₂O+HCO₂NH₄ (подвижная фаза A1), 90:10 детектирование: УФ 254 нм.

Способ N': колонка: Lux Cellulose-2 (4,6 мм×150 мм, 5 мкм), температура колонки: окружающая среда, поток: 1,23 мл/мин, изократическое элюирование, ACN:H₂O, 70:30, детектирование: УФ 254 нм.

Способ O': колонка: Lux Cellulose-2 (4,6 мм×150 мм, 5 мкм), температура колонки: окружающая среда, поток: 1,23 мл/мин, градиентное элюирование, A=ACN, B=H₂O, детектирование: УФ 254 нм.

Время[мин]	% A	% B	Градиентная кривая
0,0	60	40	-
1,0	60	40	линейная (6)
5,0	90	10	линейная (6)
10,0	60	40	прямая (11)

Способ P': колонка: Lux Amylose-2 (4,6 мм×150 мм, 5 мкм), температура колонки: окружающая среда, поток: 1,23 мл/мин, изократическое элюирование, ACN:H₂O, 50:50, детектирование: УФ 254 нм.

Способ R': колонка: Lux Amylose-2 (4,6 мм×250 мм, 5 мкм), температура колонки: окружающая

среда, поток: 1,23 мл/мин, градиентное элюирование; A=ACN, B=H₂O, детектирование: УФ 254 нм.

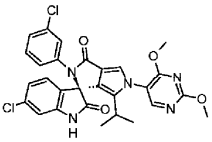
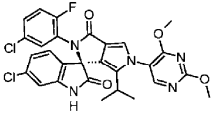
Время[мин]	% А	% В	Градиентная кривая
0,0	60	40	-
1,0	60	40	линейная (6)
7,0	90	10	линейная (6)
12,0	60	40	прямая (11)

Способ S': колонка: Lux Amylose-2 (4,6 мм×250 мм, 5 мкм), температура колонки: окружающая среда, поток: 1,23 мл/мин, изократическое элюирование, ACN:H₂O, 60:40, детектирование: УФ 254 нм.

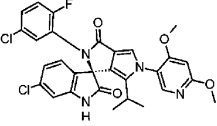
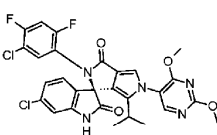
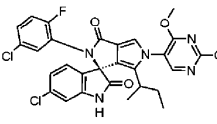
Способ T': колонка: Lux Cellulose-4 (4,6 мм×150 мм, 5 мкм), температура колонки: окружающая среда, поток: 1,23 мл/мин, изократическое элюирование, ACN:H₂O, 60:40, детектирование: УФ 254 нм.

Следующие примеры были синтезированы в соответствии с описанными в настоящей заявке методами или известными литературными способами с использованием соответствующих исходных материалов и способов, известных специалисту в данной области техники.

Таблица 1

Соед. No	Структура	Способ анализа хиральной чистоты	Название	Аналитические данные
1		R'	(3S)-6-хлор-2'-(3-хлорфенил)-5'-(2,4-диметоксипиримидин-5-ил)-6'-(пропан-2-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'H-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион	анализ в кислотном градиенте: 98,08%, 564 [M+H] ⁺ , время удерживания: 3,52 мин.; анализ в основном градиенте: 98,13%, 564 [M+H] ⁺ , время удерживания: 3,52 мин.; хиральный анализ: 99,71%, время удерживания: 7,77 мин.
2		N'	(3S)-6-хлор-2'-(5-хлор-2-фторфенил)-5'-(2,4-диметоксипиримидин-5-ил)-6'-(пропан-2-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'H-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион	анализ в кислотном градиенте: 99,43%, 582 [M+H] ⁺ , время удерживания: 3,48 мин.; анализ в основном градиенте: 99,02%, 582 [M+H] ⁺ , время удерживания: 3,48 мин.; хиральный анализ: 99,44%, время удерживания: 9,31 мин.

3		T'	(3 <i>S</i>)-6-хлор-2'-(5-хлор-2-метилфенил)-6'-(пропан-2-ил)-5'-(2,4,6-триметоксипиримидин-5-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2' <i>H</i> -спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион	анализ в кислотном градиенте: 97,4%, 608 [M+H] ⁺ , время удерживания: 3,71 мин.; анализ в основном градиенте: 97,4%, 608 [M+H] ⁺ , время удерживания: 3,71 мин.; хиральный анализ: 99,7%, время удерживания: 16,70 мин.
4		K'	(3 <i>S</i>)-6-хлор-2'-(3-хлор-4-фторфенил)-5'-(2,4-диметоксипиримидин-5-ил)-6'-(пропан-2-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2' <i>H</i> -спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион	анализ в кислотном градиенте: 98,96%, 582 [M+H] ⁺ , время удерживания: 3,58 мин.; анализ в основном градиенте: 99,08%, 582 [M+H] ⁺ , время удерживания: 3,57 мин.; хиральный анализ: 99,97%, время удерживания: 3,79 мин.
5		L'	(3 <i>S</i>)-6-хлор-2'-(5-хлор-2-фторфенил)-6'-(пропан-2-ил)-5'-(2,4,6-триметоксипиримидин-5-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2' <i>H</i> -спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион	анализ в кислотном градиенте: 99,89%, 612 [M+H] ⁺ , время удерживания: 3,65 мин.; анализ в основном градиенте: 99,95%, 612 [M+H] ⁺ , время удерживания: 3,65 мин.; хиральный анализ: 99,74%, время удерживания: 7,18 мин.
6		J'	(3 <i>S</i>)-6-хлор-2'-(5-хлор-2-фторфенил)-5'-(6-(диметиламино)-4-метоксипиридин-3-ил)-6'-(пропан-2-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2' <i>H</i> -спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион	анализ в кислотном градиенте: 99,88%, 594 [M+H] ⁺ , время удерживания: 3,94 мин.; анализ в основном градиенте: 99,89%, 594 [M+H] ⁺ , время удерживания: 3,58 мин.; хиральный анализ: 100%, время удерживания: 14,66 мин.
7		O'	(3 <i>S</i>)-6-хлор-2'-(3,4-дифторфенил)-5'-(2,4-диметоксипиримидин-5-ил)-6'-(пропан-2-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2' <i>H</i> -спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион	анализ в кислотном градиенте: 98,89%, 566 [M+H] ⁺ , время удерживания: 3,48 мин.; анализ в основном градиенте: 98,79%, 566 [M+H] ⁺ , время удерживания: 3,47 мин.; хиральный анализ: 100%, время удерживания: 5,61 мин.
8		N'	(3 <i>S</i>)-6-хлор-2'-(3,4-дифторфенил)-5'-(4,6-диметоксипиримидин-3-ил)-6'-(пропан-2-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2' <i>H</i> -спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион	анализ в кислотном градиенте: 99,75%, 565 [M+H] ⁺ , время удерживания: 3,57 мин.; анализ в основном градиенте: 99,77%, 565 [M+H] ⁺ , время удерживания: 3,57 мин.

				хиральный анализ: 100%, время удерживания: 6,20 мин.
9		S'	(3 <i>S</i>)-6-хлор-2'-(5-хлор-2-фт орфенил)-5'-(4,6-диметокси пиридин-3-ил)-6'-(пропан-2 -ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2' <i>H</i> -спиро[индол-3,1'-пиррол о[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион	анализ в кислотном градиенте: 99,68%, 581 [M+H] ⁺ , время удерживания: 3,60 мин. анализ в основном градиенте: 99,63%, 581 [M+H] ⁺ , время удерживания: 3,59 мин. хиральный анализ: 100%, время удерживания: 8,85 мин.
10		P'	(3 <i>S</i>)-6-хлор-2'-(5-хлор-2,4-д ифторфенил)-5'-(2,4-димет оксипиримидин-5-ил)-6'-(п ропан-2- ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2' <i>H</i> -спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-дион	анализ в кислотном градиенте: 97,97%, 600 [M+H] ⁺ , время удерживания: 3,59 мин. анализ в основном градиенте: 97,47%, 600 [M+H] ⁺ , время удерживания: 3,59 мин. хиральный анализ: 100%, время удерживания: 9,96 мин.
11		M'	(3 <i>S</i>)-6'-(бутан-2-ил)-6-хлор- 2'-(5-хлор-2-фторфенил)-5'- (2,4-диметоксипиримидин- 5-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро- 2' <i>H</i> -спиро[индол-3,1'-	анализ в кислотном градиенте: 97,73%, 596 [M+H] ⁺ , время удерживания: 3,62 мин. анализ в основном градиенте: 99,54%, 596 [M+H] ⁺ , время удерживания: 3,62 мин.
			пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'- дион	хиральный анализ: 100%, время удерживания: 9,96 мин.

Биологические примеры.

Биологический пример 1. Флуоресцентный поляризационный анализ.

Ингибирование взаимодействия p53-Mdm2 измеряли с использованием анализа связывания флуоресцентной поляризации (ФП). ФП измеряет вращательное движение молекул в гомогенной суспензии. Для этого анализа N-концевой домен белка Mdm2 (аминокислоты 1-111) объединяют с флуоресцеин-меченым (FAM) пептидом, полученным из трансаактивационного домена p53 (последовательность: 5-FAM-TSFAEYWNLLSP). При возбуждении флуоресцентного лиганда линейно поляризованным светом пептид излучает перпендикулярно поляризованный свет. Если пептид связан с Mdm2, вращение будет замедляться и перпендикулярный компонент будет пропорционально уменьшаться. В противоположность этому нарушение комплекса пептид-Mdm2 вследствие связывания ингибитора с сайтом связывания p53 Mdm2 приводит к высвобождению пептида и уменьшению поляризации излучаемого света.

Эксперименты по флуоресцентной поляризации были прочитаны на ридере Biotek Cytation 5 с 470 нм возбуждения и 520 нм эмиссионными фильтрами для флуоресцеина. Флуоресцентную поляризацию измеряли в черных 96-луночных планшетах (Corning, CLS3991) при комнатной температуре. Чистоту Mdm2 контролировали при >95%. Реакционный буфер оптимизировали путем добавления 5 мМ DTT и 0,1% цвиттер-ионного детергента CHAPS для уменьшения эффекта неспецифических взаимодействий.

Исследование проводили путем объединения последовательного разбавления соединений, разбавленных диметилсульфоксидом (ДМСО, 5% конечная концентрация) с 75 нМ Mdm2 в реакционном буфере (ФСБ, 0,1% CHAPS, 5 мМ DTT (дитиотреитол)). После 15 минут инкубации при комнатной температуре добавляли 10 нМ FAM-меченый пептид. Окончательное считывание проводили после 90 минут инкубации. Дозозависимые кривые связывания и значения IC₅₀ рассчитывали с использованием GraphPad Prism5 и затем преобразовывали в значения K_i с использованием уравнения Кенакина (табл. 2).

Таблица 2

Соединение	Ki (нМ) p53-Mdm2
1	1,8
2	1,7
3	2,4
4	1,7
5	2,2
6	1,7
7	1,9
8	1,9
9	2,0
10	2,0
11	2,5

Проверка измеренных значений Ki показывает, что все раскрытые соединения являются эффективными (Ki в диапазоне 1,7-2,5 нМ) ингибиторами взаимодействий Mdm2-p53.

Биологический пример 2. Анализ жизнеспособности клеток.

Влияние изобретенных ингибиторов p53-Mdm2 на жизнеспособность клеток оценивали с использованием МТТ-анализа. Это колориметрический анализ, который измеряет превращение тетразолиевого кольца растворимого желтого красителя (МТТ) в нерастворимый пурпурный формазан. Данный процесс катализируется исключительно в митохондриальных дегидрогеназах живых клеток. Мертвые клетки не вызывают данного изменения. Чтобы измерить специфическую цитотоксичность ингибиторов Mdm2-p53, проводили МТТ-анализ с клеточной линией остеосаркомы SJSA-1, которая демонстрирует амплификацию гена MDM2 и p53 дикого типа.

Клетки высевали на 96-луночные планшеты и затем обрабатывали последовательными разведениями исследуемых соединений. После 72 ч инкубации МТТ добавляли до конечной концентрации 0,5 мг/мл. Клетки дополнительно инкубировали в течение следующих 4 ч. Затем раствор сливали и оставшиеся кристаллы формазана растворяли в 100 мкл ДМСО. Считывание поглощения проводили при 570 нм, показывая относительную жизнеспособность клеток между клетками, обработанными оцениваемыми соединениями, и контролем ДМСО. Все эксперименты МТТ независимо повторяли 2-5 раз. Дозозависимые кривые связывания и значения IC50 рассчитывали с использованием GraphPad Prism 5. Представленные значения IC50 представляют собой среднее значение всех проведенных экспериментов (табл. 3).

Таблица 3

Соединение	IC50 (мкМ) SJSA-1
1	0,18
2	0,16
3	0,07
4	0,32
5	0,18
6	0,03
7	0,22
8	0,15
9	0,12
10	0,40
11	0,05

Биологический пример 3. Измерение собственного клиренса с использованием микросом *in vitro*.

Метаболическую стабильность соединений изобретения оценивали путем измерения собственного клиренса в микросомах мыши и человека *in vitro*.

10 мМ исходные растворы маркеров и исследуемых соединений получали в ДМСО. Их разводили в 100 раз в MeCN:ДМСО 91:9, чтобы получить 100 мкМ исходный раствор для анализа. 10 мМ НАДФН

готовили в 0,1 М фосфатном буфере (pH 7,4). Микросомы оттаивали на водяной бане при 37°C и их разбавляли до конечной концентрации для анализа 0,5 мг/мл.

100 мкМ исходные растворы для анализа добавляли для получения конечной концентрации 1 мкМ в пробирках для инкубации, содержащих буфер и НАДФН (конечная концентрация для анализа составляет 1 мМ). Пробирки для инкубации и микросомы предварительно нагревали при 37°C в течение 3 мин. Микросомы затем добавляли в пробирки для инкубации, которые хранили при 37°C и встряхивали с использованием орбитального шейкера в течение всего анализа. Образцы отбирали в 6 предварительно определенных временных моментах вплоть до 1 ч и переносили в подготовленные гашенные пробирки, содержащие соответствующий растворитель с внутренним стандартом.

Гашенные образцы тщательно перемешивают и белок осаждают при -20°C в течение минимум 12 ч. Образцы затем центрифугировали при 4°C. Супернатанты переносили в свежий 96-луночный планшет, совместимый с автодозатором. Планшет герметизировали с помощью предварительно разрезанного силиконового коврика и анализировали с помощью ЖХ-МС/МС.

Соединение	мышинный МС клир. собств. [мкл/мин/мг]	человеческий МС клир. собств. [мкл/мин/мг]
WO2015/189799-107	9,5	49,7
1	8,8	<3,0
2	<4,0	<3,0
3	<3,0	<3,0
4	<3,0	<3,0
5	<3,0	<3,0
6	33,6	19,8
7	6,6	<3
8	12,8	<3
9	н.д.	н.д.
10	<3	<3,2
11	н.д.	н.д.

По сравнению с соединениями, описанными в WO 2015/189799, все раскрытые в настоящее время соединения проявляют низкий собственный клиренс как в микросомах человека, так и мыши. Единственным исключением является соединение 6. Однако немного меньшая стабильность данного соединения компенсируется выраженной эффективностью *in vitro* (SJSA-1 IC50=0,03 мкМ).

Биологический пример 4. Эффективность *in vivo* на модели ксенотрансплантата SJSA-1 на мышах.

Эксперимент проводили на мышах-самках из штамма Crl: CD-1-Foxlnu. Мышам инокулировали подкожно в правый бок клеточную линию рака SJSA-1 в количестве 3×10^6 клеток, суспендированных в 100 мкл матрицы HBSS:Matrigel в соотношении 3:1 на мышь. На 17-й день после инокуляции мышей разделили на группы так, чтобы в каждой группе средний объем опухоли был одинаковым и составлял в среднем приблизительно 200 мм³. Были отобраны экспериментальные группы, каждая из которых состояла из 8 мышей: контрольный NaCl 0,9% и соединения. Соединения 1-11 растворяли в 56,60% ПЭГ 400, 9,43% Кремофор RH40, 9,43% ЕТОН, 18,87% Лабрафил М1944СS, 5,67% ДМСО. Для соединения 107 из WO 2015/189799 использовали группу из 7 мышей, и его растворяли в 15% ПЭГ400, 10% Кремофор EL, 75% H₂O.

Мышам, использованным в эксперименте, вводили перорально (п/о) соединения или 0,9% NaCl по схеме qld×14 (14 доз ежедневно). В течение эксперимента мышей взвешивали перед каждым введением - дважды/трижды в неделю. Благополучие животных контролировали ежедневно. Никакой существенной разницы в массе тела или благополучии не наблюдали между экспериментальными группами во время и в конце исследования.

Изменение объема опухоли контролировали дважды/трижды в неделю, начиная с первого дня введения. Объем опухоли рассчитывали исходя из ее длины и ширины, измеренных с помощью электронных штангенциркулей:

$$V [\text{мм}^3] = d^2 \times D / 2$$

в которой d - ширина, D - длина.

Объем опухоли в группах измеряли до 101 дня после инокуляции (72 дня после последнего введения). Результаты эксперимента выражали в виде средних значений ингибирования роста опухоли (TGI)±SEM (табл. 4). Ингибирование роста опухоли рассчитывали с использованием следующей формулы:

$$\text{TGI} [\%] = [100 - (T/C \times 100)]$$

в которой C - средний размер опухоли в контрольной группе, T - средний размер опухоли в обработанной группе. Все расчеты и графики выполняли с использованием программного обеспечения Graph-Pad Prism 5.

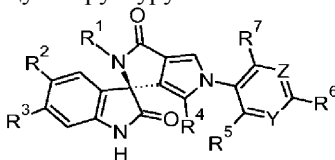
Таблица 4

Соединение	TGI п/о 12,5 мг/кг (7 доз) [%]	± SEM	TGI п/о 12,5 мг/кг (12 доз) [%]	± SEM
Стандарт: Соединение 107 из WO2015/189799	49,8	17,3	60,1	13,4
1	94,97	1,09	99,53	0,30
2	94,36	1,23	98,91	0,44
3	94,22	1,25	99,57	0,29
4	94,89	1,57	99,47	0,34
5	85,78	5,59	95,99	2,29
6	92,03	1,88	99,09	0,46
7	95,00	1,29	99,97	0,01
8	96,39	1,57	99,71	0,27
9	89,46	2,72	97,73	0,92
10	93,48	1,44	98,79	0,50
11	93,74	1,35	99,69	0,28

Результаты данного эксперимента суммированы в табл. 4 и на фиг. 1 и 2. Как можно видеть, улучшенная метаболическая стабильность раскрытых в настоящее время соединений приводит к исключительной эффективности *in vivo*. Значения ингибирования роста опухоли, наблюдаемые для соединений 1-11, значительно выше, чем для лучшего соединения, раскрытого в WO 2015/189799, как после 7 (разница 36,0-46,6%), так и 12 (разница 35,9-39,9%) доз вещества. Кроме того, как можно видеть на фиг. 1, лечение ксенотрансплантата SJSA-1 14 дозами по 12,5 мг/кг п/о WO 2015/189799 только замедляет рост опухоли. Тот же протокол лечения, но с соединениями 7, 8 и 11 приводил к полному удалению опухолей. Более того, ни одно из поражений не показало возобновление роста во время последующего наблюдения до 101 дня.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение, имеющее следующую структуру



в которой

- R^1 представляет собой мета-галогенфенил, который необязательно дополнительно замещен одним-двумя заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из галогена и $-C_1-C_6$ -алкила,
 R^2 и R^3 представляют собой независимо H или галоген;
 R^4 представляет собой $-C_1-C_6$ -алкил;
 R^7 представляет собой $-OCH_3$;
 Z представляет собой $C-R^8$ или N, Y представляет собой $C-R^9$ или N при условии, что Z не представляет собой $C-R^8$ и Y не представляет собой $C-R^9$ одновременно,
 R^5 , R^6 представляют собой независимо H, $-OCH_3$ или $-N(CH_3)_2$,
 R^8 , R^9 представляют собой независимо H.
2. Соединение по п.1, в котором R^1 представляет собой мета-галогенфенил, который необязательно дополнительно замещен одним-двумя заместителями, выбранными из галогена.
3. Соединение по п.1, в котором R^1 представляет собой мета-галогенфенил, который необязательно дополнительно замещен одним заместителем, выбранным из $-CH_3$.
4. Соединение по любому из пп.1-3, в котором R^2 представляет собой H и R^3 представляет собой Cl.
5. Соединение по любому из пп.1-4, в котором R^4 представляет собой изопропил или изобутил.
6. Соединение по любому из пп.1-5, в котором Z и Y оба представляют собой N.
7. Соединение по любому из пп.1-5, в котором Z представляет собой $C-R^8$ и Y представляет собой N.
8. Соединение по п.6, в котором R^5 и R^6 оба представляют собой OMe.
9. Соединение по п.7, в котором R^8 представляет собой H, по меньшей мере один из R^5 и R^6 представляет собой OMe и второй выбран из H, $-N(Me)_2$ и OMe.
10. Соединение по п.2, выбранное из
(1) (3S)-6-хлор-2'-(3-хлорфенил)-5'-(2,4-диметоксиимидин-5-ил)-6'-(пропан-2-ил)-1,2,3',5'-тетрагидро-2'H-спиро[индол-3,1'-пирроло[3,4-с]пиррол]-2,3'-диона,

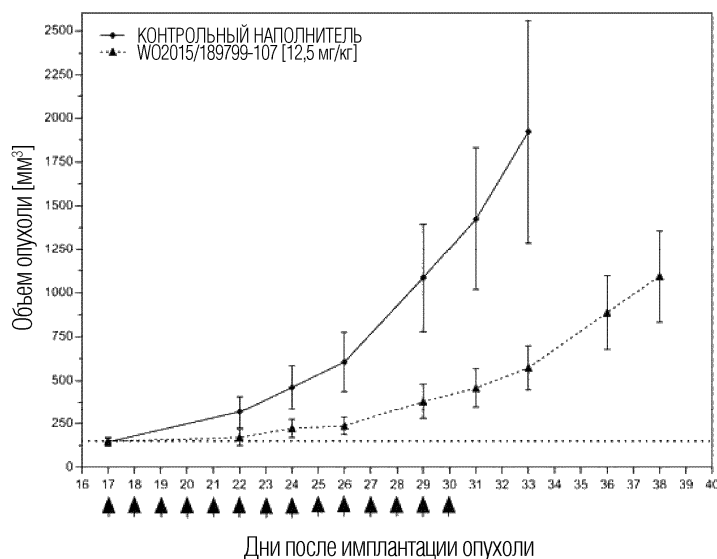
15. Применение соединения по любому одному из пп.1-14 в качестве лекарственного средства.

16. Применение по п.15, где лекарственное средство применяют для профилактики и/или лечения заболеваний, выбранных из группы, состоящей из рака, иммунных заболеваний, воспалительных состояний, аллергических заболеваний кожи, связанных с чрезмерной пролиферацией, ослепляющего заболевания и вирусных инфекций.

17. Применение по п.16, в котором заболевание представляет собой рак.

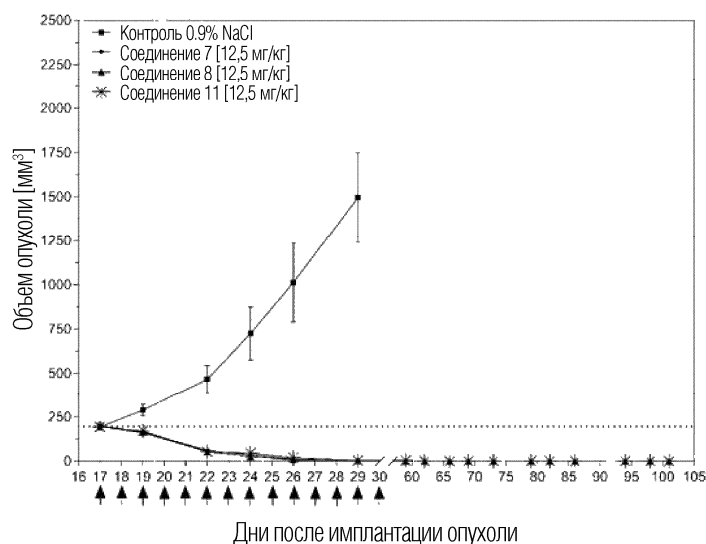
18. Фармацевтическая композиция, содержащая в качестве активного ингредиента соединение по любому одному из пп.1-14 в комбинации по меньшей мере с одним фармацевтически приемлемым эксципиентом.

Эффективность, исследованная на мышинной модели остеосаркомы человека (SJSA-1) *in vivo*



Фиг. 1

Эффективность, исследованная на мышинной модели остеосаркомы человека (SJSA-1) *in vivo*



Фиг. 2



Евразийская патентная организация, ЕАПВ
Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2