

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента

2022.07.13

(21) Номер заявки

201991412

(22) Дата подачи заявки

2017.12.28

(51) Int. Cl. *C07D* 401/14 (2006.01)

(56) WO-A1-2014036022

C07D 401/08 (2006.01)

C07D 403/08 (2006.01)

C07D 405/10 (2006.01)

C07D 239/74 (2006.01)

C07D 417/08 (2006.01)

C07D 487/04 (2006.01)

A61K 31/517 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

(54) ИНГИБИТОРЫ ПОЛИ(АДФ-РИБОЗА)ПОЛИМЕРАЗЫ (PARP)

(31) 62/440,581

(32)2016.12.30

(33)US

(43) 2019.11.29

(86) PCT/US2017/068636

(87) WO 2018/125961 2018.07.05

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:

МИТОБРИДЖ, ИНК. (US)

(72)Изобретатель:

Такахаши Тайсуке (JP), Клуге Артур,

Лагу Бхарат, Цзи Нань (US)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

Настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции для лечения субъекта, (57) имеющего заболевание, которое может быть ослаблено путем ингибирования поли(АДФрибоза)полимеразы (PARP), содержащей фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель и соединение, представленное следующей структурной формулой:

Настоящее изобретение также относится к соединению следующей структурной формулы:

или его фармацевтически приемлемой соли. Настоящее изобретение также относится способу лечения субъекта, имеющего заболевание, которое может быть ослаблено путем ингибирования поли(АДФ-рибоза)полимеразы (PARP). Определения переменных приведены в описании изобретения, а также к способам лечения раны и ожога у субъекта.

Область техники изобретения

Данная заявка относится к ингибиторам поли(АДФ-рибоза)полимеразы (PARP), в частности к ингибиторам PARP-1, и способам применения данных ингибиторов, таким как лечение или предупреждение одного или более чем одного PARP-ассоциированного заболевания.

Уровень техники изобретения

Ядерный фермент поли(АДФ-рибоза)полимераза 1 (PARP-1) является членом семейства PARP-ферментов. Данное растущее семейство ферментов состоит из таких PARP как, например, PARP-1, PARP-2, PARP-3 и Vault-PARP.

РАRР участвует в репарации разрывов цепей ДНК, и поэтому ингибирование данного фермента является общепризнанным подходом при лечении рака. Ингибирование PARP может быть особенно эффективным в комбинации с ДНК-повреждающим лечением, например ионизирующим излучением, или после лечения с использованием ДНК-повреждающих агентов, таких как метилирующие агенты, ингибиторы топоизомеразы I и другие химиотерапевтические агенты, такие как цисплатин и блеомицин. Ингибирование ферментативной активности PARP будет приводить к повышению чувствительности опухолевых клеток к ДНК-повреждающему лечению. Согласно опубликованным данным использование PARP-ингибиторов является эффективным при радиосенсибилизации (гипоксических) опухолевых клеток и эффективным для предотвращения регенерации опухолевых клеток после потенциально летального и сублетального повреждения ДНК в результате рентгенотерапии, предположительно благодаря их способности предотвращать восстановление разрывов цепей ДНК и воздействию на некоторые сигнальные пути, инициируемые повреждением ДНК.

Ингибирование PARP-2 может обеспечить защиту от оксидативного стресса (см. Szanto, et al., Cell Mol. Life Sci. 69:4079 (2012)). Соответственно PARP-ингибиторы могут быть использованы для лечения заболеваний, характеризующихся оксидативным стрессом (например, ишемически-реперфузионного повреждения, воспалительных заболеваний, ожога, паркинсонизма, болезни Гентингтона, болезни Альцгеймера и токсических инсультов).

РАRP-1 и PARP-2 являются провоспалительными (см. Rosado et al., Immunology 739:428 (2013)). Соответственно их ингибирование может быть использовано для лечения, например, астмы, артрита, колита, хронического обструктивного заболевания легких (ХОЗЛ), острого респираторного дистресссиндрома (ОРДС), атеросклероза, ремоделирования сердца после инфаркта миокарда, сепсиса, эндотоксического шока, геморрагического шока, гомологичного заболевания, энцефаломиелита и аутоиммунного нефрита.

Ингибирование PARP также может обеспечить защиту от вирусных инфекций (см. Atasheva et al., J. Virol. 55:2116 (2014); и Virag and Szabo Pharmacol. Rev., 54:375 (2002)), например от инфекций, вызываемых вирусом иммунодефицита человека 1, вирусом Венесуэльского конского энцефалита, вирусом простого герпеса, вирусом гепатита В человека и цитомегаловирусом человека (Virag and Szabo Pharmacol. Rev., 54:375 (2002)).

Ферменты PARP участвуют в контроле гомеостаза глюкозы (см. Bai and Canto Cell Metab, 16:290 (2012); Riffel et al., Nat. Rev. Drug Discovery, 11:923 (2012); и Yeh et al., Diabetes, 55:2476 (2009)). Например, ингибирование PARP-1 улучшает утилизацию глюкозы и чувствительность к инсулину (см. Bai and Canto Cell Metab., 16:290 (2012); и Pirinen et al., Cell Metab., 79:1034 (2014)). Соответственно ингибирование PARP может быть использовано для лечения таких заболеваний и состояний, как метаболический синдром и диабет типа II, и их последующих осложнений, таких как диабетические неврологические, почечные и офтальмологические осложнения.

Соответственно существует необходимость в новых и улучшенных PARP-ингибиторах, которые можно назначать по перечисленным выше и другим терапевтическим показаниям.

Сущность изобретения

В настоящем изобретении предложены новые соединения, которые являются эффективными ингибиторами PARP (см. примеры 1-53). В частности, они обладают избирательной ингибирующей активностью в отношении PARP-1 по сравнению с ингибированием PARP-2 (см. пример 54). Кроме того, показано, что некоторые из данных PARP-ингибиторов могут быть использованы для повышения количества NAD⁺ в клетках (см. пример 55).

В первом аспекте настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции для лечения субъекта, имеющего заболевание, которое может быть ослаблено путем ингибирования поли(АДФ-рибоза)полимеразы (PARP), содержащей фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель и соединение, представленное следующей структурной формулой:

или его фармацевтически приемлемую соль,

где кольцо А представляет собой фенил, необязательно замещенный одной или двумя группами, выбранными из галогена и $(C_1$ - $C_3)$ алкила, или 5-6-членный гетероарил, необязательно замещенный одной или двумя группами, выбранными из галогена и $(C_1$ - $C_3)$ алкила;

кольцо В представляет собой фенил, 5-6-членный гетероарил или 5-6-членный гетероциклил, каждый из которых необязательно имеет один или более заместителей, представленных R^3 ;

"----" отсутствует или представляет собой связь;

Е представляет собой N или CH, когда "-----" отсутствует, или E представляет собой C, когда "-----" представляет собой связь;

необязательно имеет в качестве заместителя (C_1-C_5) алкил или гидрокси (C_1-C_5) алкил;

каждый R^3 независимо выбран из группы, состоящей из -галогена, -CN, -C(=NR e)NR e R f , -C(=O)NR e R f и (C₁-C₅)алкила;

каждый R^e независимо выбран из группы, состоящей из -H и $(C_1$ - $C_5)$ алкила;

каждый R^f независимо выбран из группы, состоящей из -H, $(C_1$ - $C_5)$ алкила, $(C_3$ - $C_6)$ циклоалкила, необязательно имеющего в качестве заместителя $(C_1$ - $C_2)$ алкил, и 4-6-членного кислородсодержащего гетероциклила, необязательно имеющего в качестве заместителя $(C_1$ - $C_2)$ алкил; или

 $-C(=NR^e)NR^eR^f$ образует 4-6-членный гетероциклил, необязательно имеющий в качестве заместителя R^e : и

 R^5 представляет собой -Н или (C_1 - C_3)алкил;

где гетероарил содержит 1-4 гетероатома, выбранных из кислорода, азота и серы, и гетероциклил содержит 1 или 2 гетероатома, выбранных из кислорода, азота и серы.

В предпочтительном варианте настоящего изобретения соединение в составе указанной выше фармацевтической композиции представлено структурной формулой, выбранной из группы, состоящей из

$$(\mathbb{R}^{1})_{n}$$

$$\times^{2}$$

$$\times^{3}$$

$$\times^{4}$$

$$N$$

$$N$$

$$\mathbb{B}$$

$$\mathbb{R}^{1})_{n}$$

$$\mathbb{B}$$

$$\mathbb{R}^{1})_{n}$$

$$\mathbb{R}^{1})_{n}$$

$$\mathbb{R}^{1})_{n}$$

$$\mathbb{R}^{1})_{n}$$

$$\mathbb{R}^{1})_{n}$$

$$\mathbb{R}^{1})_{n}$$

$$\mathbb{R}^{1})_{n}$$

$$\mathbb{R}^{1})_{n}$$

 $\mathbb{R}^{1})_{n},\mathbb{X}^{5}$ \mathbb{N} \mathbb{N} \mathbb{N} \mathbb{N} \mathbb{N}

или его фармацевтически приемлемой солью,

где каждый из X^1 , X^2 , X^3 и X^4 независимо выбран из группы, состоящей из N и CH, при условии, что не более двух из X^1 , X^2 , X^3 и X^4 представляют собой N;

 X^5 представляет собой NR^2 , О или S;

кольцо В представляет собой фенил, 5-6-членный гетероарил или 5-6-членный гетероциклил, каждый из которых необязательно имеет один или более заместителей, представленных R^3 ;

необязательно имеет в качестве заместителя (C_1 - C_3)-алкил или гидрокси(C_1 - C_3)алкил; каждый R^1 независимо выбран из группы, состоящей из -галогена, и (C_1 - C_3)алкила;

 R^2 представляет собой -H или (C_1 - C_3)алкил; и n имеет значение 0, 1 или 2.

В более предпочтительном варианте настоящего изобретения соединение в составе указанной выше фармацевтической композиции представлено структурной формулой, выбранной из группы, состоящей

$$(\mathbb{R}^{1})_{0} \longrightarrow \mathbb{N}^{H} \longrightarrow \mathbb{N$$

или его фармацевтически приемлемой солью,

где кольцо В представляет собой фенил, 5-6-членный гетероарил или 5-6-членный гетероциклил, каждый из которых необязательно имеет один или более заместителей, представленных R^3 ; и

необязательно имеет в качестве заместителя (C_1-C_5) алкил или гидрокси (C_1-C_5) алкил;

каждый R^1 независимо выбран из группы, состоящей из галогена и $(C_1\text{-}C_3)$ алкила; и

каждый R^3 независимо выбран из группы, состоящей из -галогена, -CN, -C(=NR e)NR e R f , -C(=O)NR e R f и (C1-C5)алкила.

В еще более предпочтительном варианте настоящего изобретения в соединении в составе указанной выше фармацевтической композиции кольцо В выбрано из группы, состоящей из

$$\begin{cases} (R^{3})_{m} & (R^{3})_{m} \\ \vdots & \vdots \\ (R^{3})_{m} & (R^{3})_{m} \\ \vdots & \vdots \\ (R^{3})_{m} & (R^{3})_{p} \\ \vdots & \vdots \\ (R^{3})_{p} & (R^{3})_{p} \\ \vdots & \vdots \\ (R^{3})_{p} & (R^{3})_{p} \\ \vdots & \vdots \\ (R^{3})_{m} & (R^{3})_{p} \\ \vdots & \vdots \\ (R^{3})_{p} & (R^{3})_{p} \\ \vdots & \vdots \\ (R^{3})_{m} & (R^{3})_{m} \\ \vdots & (R^{3})_{m}$$

каждый R^4 представляет собой -Н или (C_1 - C_5)алкил;

каждый р независимо имеет значение 0 или 1;

каждый R^1 независимо представляет собой галоген или (C_1 - C_3)алкил;

каждый R^3 независимо выбран из группы, состоящей из -галогена, -CN, -C(=NR e)NR e R f , -C(=O)NR e R f и (C1-C5)алкила;

каждый R^e и каждый R^f независимо выбраны из группы, состоящей из -H и метила; или R^e представляет собой -H и R^f представляет собой -(C_3 - C_6)циклоалкил или 4-6-членный кислородсодержащий гетероциклил, каждый из которых необязательно имеет в качестве заместителя (C_1 - C_2)алкил; и

каждый т имеет значение 0, 1, или 2.

В еще более предпочтительном варианте настоящего изобретения в соединении в составе указанной выше фармацевтической композиции

каждый R¹ независимо представляет собой хлор, фтор или метил;

каждый R^3 независимо выбран из группы, состоящей из хлора, фтора, -CN, -C(=NR e)NR e R f , -C(=O)NR e R f и метила;

необязательно имеет в качестве заместителя метил или гидроксиметил.

В еще более предпочтительном варианте настоящего изобретения в соединении в составе указанной выше фармацевтической композиции каждый R³ независимо выбран из группы, состоящей из хлора,

nu H

фтора, -CN, -C(O)NH(циклопропил), -C(O)NH₂, -C(O)NH(CH₃), -C(O)N(CH₃)₂,

-C(O)NH(циклобутил),

, -C(=NH)NHCH₃ и метила.

В другом предпочтительном варианте настоящего изобретения в соединении в составе указанной выше фармацевтической композиции R^2 представляет собой -H или метил.

В предпочтительном варианте настоящего изобретения соединение в составе указанной выше фармацевтической композиции представляет собой 6-[(3S)-4-[3-(6-фтор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]-3-метил-пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрил или его фармацевтически приемлемую соль.

В предпочтительном варианте настоящего изобретения соединение в составе указанной выше фармацевтической композиции представляет собой 6-[(3S)-4-[3-(5-фтор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]-3-метил-пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрил или его фармацевтически приемлемую соль.

В еще одном аспекте настоящее изобретение представляет собой соединение следующей структурной формулы:

или его фармацевтически приемлемую соль, где R^1 представляет собой F или метил и

HN

 R^3 представляет собой -CN, -C(=NH)NHCH₃,

или метил.

В предпочтительном варианте предложенного выше соединения R^1 представляет собой F и R^3 представляет собой -CN.

В предпочтительном варианте предложенное выше соединение представляет собой 6-[(3S)-4-[3-(6-фтор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]-3-метил-пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрил или его фармацевтически приемлемую соль.

В предпочтительном варианте предложенное выше соединение представляет собой 6-[(3S)-4-[3-(5-фтор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]-3-метил-пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрил или его фармацевтически приемлемую соль.

В еще одном аспекте настоящее изобретение относится к способу лечения субъекта, имеющего заболевание, которое может быть ослаблено путем ингибирования поли(АДФ-рибоза)полимеразы (PARP), где указанный способ включает введение указанному субъекту эффективного количества предложенной выше фармацевтической композиции или предложенного выше соединения или его фармацевтически приемлемой соли.

В еще одном аспекте настоящее изобретение относится к способу лечения субъекта с острым повреждением почек, где указанный способ включает введение указанному субъекту эффективного количества предложенной выше фармацевтической композиции или предложенного выше соединения или его фармацевтически приемлемой соли.

В еще одном аспекте настоящее изобретение относится к способу лечения субъекта, страдающего раком, который может быть ослаблен путем ингибирования поли(АДФ-рибоза)полимеразы (PARP), где

указанный способ включает введение указанному субъекту эффективного количества предложенной выше фармацевтической композиции или предложенного выше соединения или его фармацевтически приемлемой соли.

В предпочтительном варианте заболевание, которое может быть ослаблено путем ингибирования PARP, выбрано из генетической липодистрофии, неалкогольной жировой дегенерации печени (NAFLD), неалкогольного стеатогепатита (NASH), ишемического/реперфузионного повреждения почек (IRI), мышечной дистрофии Дюшенна и Беккера, диабета (типа I или типа II), ожирения, саркопении, болезни Альперса, хронической прогрессирующей наружной офтальмоплегии (СРЕО), синдрома Кернса-Сейра (KSS), наследственной оптической нейропатии Лебера (LHON), MELAS - митохондриальной миопатии, энцефаломиопатии, лактоцидоза и инсультоподобных эпизодов, MERRF - миоклонической эпилепсии с рваными мышечными волокнами, NARP - нейрогенной мышечной слабости, атаксии и пигментного ретинита, синдрома Пирсона, ототоксичности, индуцированной химиотерапией препаратами платины, синдрома Коккейна, ксеродермы пигментной А, валлеровского перерождения и ВИЧ-индуцированной липодистрофии.

В предпочтительном варианте предложенная выше фармацевтическая композиция предназначена для лечения раны и/или ожога у субъекта.

В другом предпочтительном варианте предложенная выше фармацевтическая композиция предназначена для лечения острого повреждения почек у субъекта.

В еще одном аспекте настоящее изобретение относится к способу лечения раны у субъекта, где способ включает введение указанному субъекту эффективного количества предложенной выше фармацевтической композиции или предложенного выше соединения или его фармацевтически приемлемой соли.

В еще одном аспекте настоящее изобретение относится к способу лечения ожога у субъекта, где способ включает введение указанному субъекту эффективного количества предложенной выше фармацевтической композиции или предложенного выше соединения или его фармацевтически приемлемой соли.

Термин "фармацевтически приемлемая соль" относится к фармацевтической соли, которая по результатам медицинской оценки является подходящей для использования в контакте с тканями человека и низших животных, не обладает чрезмерной токсичностью, не вызывает чрезмерного раздражения и аллергической реакции и соответствует разумному соотношению польза/риск. Фармацевтически приемлемые соли хорошо известны в данной области техники. Например, S.M. Berge с соавторами описывает фармакологически приемлемые соли в J. Pharm. Sci., 1977, 66, 1-19.

Настоящее изобретение включает фармацевтически приемлемые соли соединений, описанных в данной заявке. Соединения, имеющие основные группы, могут образовывать фармацевтически приемлемые соли с фармацевтически приемлемой(ыми) кислотой(ами). Подходящие фармацевтически приемлемые соли присоединения кислот соединений, описанных в данной заявке, включают соли неорганических кислот (таких как соляная кислота, бромистоводородная, фосфорная, метафосфорная, азотная и серная кислоты) и органических кислот (таких как уксусная кислота, бензолсульфоновая, бензойная, этансульфоновая, метансульфоновая, янтарная и трифторуксусная кислоты). Соединения по настоящему изобретению с кислотными группами, такие как карбоновые кислоты, могут образовывать фармацевтически приемлемые соли с фармацевтически приемлемым(ыми) основанием(ями). Подходящие фармацевтически приемлемые основные соли включают аммониевые соли, соли щелочных металлов (такие как соли натрия и кальция).

Краткое описание чертежей

На чертеже показано, что PARP1-ингибиторы, описанные в примере 29 и примере 30, через 24 ч уменьшают уровень креатинина в плазме и уровень азота мочевины крови (BUN) в животной модели повреждения почек.

Подробное описание изобретения

Определения.

Термин "галоген" в контексте данного описания означает атом галогена и включает атом хлора, фтора, брома и иода.

Термин "алкил", используемый отдельно или как часть названия более крупной группировки, такой как "алкокси" или "галогеналкил" и т.п., означает одновалентный углеводородный радикал с насыщенной алифатической нормальной или разветвленной цепью. Если не указано иное, алкильная группа обычно содержит 1-5 атомов углерода, т.е. представляет собой (C_1 - C_5)алкил. В контексте данного описания группа " $(C_1$ - C_5)алкил" означает радикал, содержащий от 1 до 5 атомов углерода в нормальной или разветвленной конфигурации. Примеры включают метил, этил, н-пропил, изо-пропил и т.п.

Термин "алкокси" относится к алкильному радикалу, присоединенному через связывающий атом кислорода, представленному -О-алкилом. Например, " (C_1-C_4) алкокси" включает метокси, этокси, пропокси и бутокси.

Термины "галогеналкил" и "галогеналкокси" означают алкил или алкокси, которые могут иметь в качестве заместителей один или более чем один атом галогена.

Термин "циклоалкил" относится к моноциклической насыщенной углеводородной кольцевой системе. Например, C_{3-6} циклоалкил включает циклопропил, циклобутил, циклопентил и циклогексил. Если не указано иное, "циклоалкил" содержит от трех до шести атомов углерода.

Термин "гетероарил", "гетероароматический", "гетероарильное кольцо", "гетероарильная группа", "гетероароматическое кольцо" и "гетероароматическая группа", используемый отдельно или как часть названия более крупной группировки, такой как "гетероаралкил" или "гетероарилалкокси", относится к моноциклическим ароматическим кольцевым группам, содержащим пять или шесть кольцевых атомов (т.е. к "5-6-членным" группам), выбранных из атома углерода и по меньшей мере одного (обычно 1-4, чаще 1 или 2) гетероатома (например, атома кислорода, азота или серы).

Примеры моноциклических гетероарильных групп включают фуранил (например, 2-фуранил, 3-фуранил), имидазолил (например, N-имидазолил, 2-имидазолил, 4-имидазолил, 5-имидазолил), изоксазолил (например, 3-изоксазолил, 4-изоксазолил, 5-изоксазолил), оксадиазолил (например, 2-оксадиазолил, 5-оксадиазолил), пиразолил (например, 3-пиразолил, 4-пиразолил), пирролил (например, 1-пирролил, 2-пирролил, 3-пирролил), пиридил (например, 2-пиридил, 3-пиридил, 4-пиридил), пиримидинил (например, 2-пиримидинил, 4-пиримидинил, 5-пиримидинил), пиридазинил (например, 3-пиридазинил), тиазолил (например, 2-тиазолил, 4-тиазолил, 5-тиазолил), триазолил (например, 2-тиенил), пиримидинил, пиримидинил и пиридазинил.

Термин "гетероциклил" относится к моноциклическому неароматическому кольцевому радикалу, содержащему от 4 до 6 кольцевых атомов (т.е. к "4-6-членному" радикалу), выбранных из атома углерода и 1 или 2 гетероатомов.

Каждый гетероатом независимо выбран из атома азота, четвертичного атома азота, окисленного атома азота (например NO), атома кислорода и атома серы, включая сульфоксид и сульфон. Типичные гетероциклильные группы включают морфолинил, тиоморфолинил, пирролидинонил, пирролидинонил, пиперазинил, гидантоинил, валеролактамил, оксиранил, оксетанил, тетрагидрофуранил, тетрагидропиранил, тетрагидропиримидинил, тетрагидропиримидинил, тетрагидротиофенил, тетрагидротиопиранил и т.п. "Замещенная гетероциклильная группа" имеет заместитель у любого одного или более чем одного кольцевого атома (способного иметь заместитель), который представляет собой кольцевой атом углерода или кольцевой атом азота, связанный с атомом водорода.

В данном описании многие группировки (например, алкил, алкилен, циклоалкил, циклоалкилен, арил, арилен, гетероарил, гетероарилен, гетероциклил или гетероциклилен) упоминаются с определением "имеющие заместитель" или "необязательно имеющие заместитель". Когда название группировки модифицировано одним из данных терминов, это означает, если не указано иное, что любая часть группировки, которая известна специалисту в данной области техники как способная иметь заместители, может иметь заместители, т.е. иметь один или более чем один заместитель. Если присутствует более одного заместителя, каждый заместитель может быть выбран независимо от других заместителей. Такой вариант замещения хорошо известен в данной области техники и/или описан в данном изобретении. Необязательные заместители могут представлять собой любые заместители, которые являются подходящими для присоединения к данной группировке.

Подходящими заместителями являются заместители, которые не оказывают значительного неблагоприятного действия на способность соединения по изобретению ингибировать PARP. Когда подходящие заместители не перечислены прямо, типичные заместители включают без ограничения (C_1-C_5) алкил, (C_1-C_5) гидроксиалкил, (C_1-C_5) галогеналкил, (C_1-C_5) алкокси, (C_1-C_5) галогеналкокси, атом галогена, гидроксил, циано, амино, -CN, -NO₂, -OR c , -NR a R b , -S(O)_iR a , -NR a S(O)_iR b , -S(O)_iNR a R b , -C(=O)OR a , -O(=O)OR a , -O(=S)OR a , -O(C=S)R a , -C(=O)NR a R b , -NR a C(=O)R a , -O(=O)NR a R b , -NR a C(=S)NR $^$

Некоторые соединения, описанные в данной заявке, могут существовать в различных стереоизомерных или таутомерных формах. Стереоизомеры представляют собой соединения, которые отличаются только своим пространственным расположением. Когда название или изображенная структура соединения по изобретению не содержит указания на стереохимию, подразумевается, что данное название или структура включает все возможные стереоизомеры, геометрические изомеры, в том числе по существу чистые стереоизомеры или геометрические изомеры, а также их комбинации.

В некоторых случаях у соединений по изобретению существуют таутомерные формы, такие как таутомерные структуры, показанные ниже,

Необходимо понимать, что, когда соединение в данной заявке представлено структурной формулой или определено с использованием химического названия, все другие таутомерные формы, которые могут существовать у данного соединения, включены посредством данной структурной формулы.

Некоторые соединения по изобретению могут существовать в различных стереоизомерных формах. Стереоизомеры представляют собой соединения, которые отличаются только своим пространственным расположением. Энантиомеры представляют собой пары стереоизомеров, которые являются неналагающимися зеркальными отражениями, что чаще всего связано с наличием у них асимметрического атома углерода, который действует как хиральный центр.

"Энантиомер" представляет собой одну из парных молекул, которые являются зеркальными отражениями друг друга, неналагающимися в пространстве. Диастереоизомеры представляют собой стереоизомеры, которые содержат два или более асимметрических атома углерода. "Геометрические изомеры" представляют собой стереоизомеры, которые отличаются расположением атомов заместителей относительно двойной углерод-углеродной связи, карбоциклильного кольца или мостиковой бициклической системы.

Когда геометрический изомер указан с использованием названия или структурной формулы, необходимо понимать, что изомерная чистота названного или изображенного геометрического изомера составляет по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 99 или 99,9% по массе. Изомерную чистоту геометрического изомера определяют путем деления массы названного или изображенного геометрического изомера, присутствующего в смеси, на общую массу всех геометрических изомеров, присутствующих в смеси.

Когда стереохимия соединения по изобретению указана в названии или отображена в структурной формуле, чистота названного или изображенного стереоизомера составляет по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 99 или 99,9% по массе относительно всех других стереоизомеров. Процентная чистота по массе относительно всех других стереоизомеров представляет собой отношение массы одного стереоизомера к массе других стереоизомеров. Когда отдельный энантиомер указан с использованием названия или структурной формулы, оптическая чистота (также называемая "энантиомерной чистотой") изображенного или названного энантиомера составляет по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 99 или 99,9% по массе. Процентная оптическая чистота по массе представляет собой отношение массы данного энантиомера к сумме массы данного энантиомера и массы его оптического изомера.

Когда стереохимия соединения по изобретению указана в названии или отображена в структурной формуле и названная или изображенная структура включает более одного стереоизомера (например, как в случае диастереоизомерной пары), необходимо понимать, что включены один из указанных стереоизомеров или любая смесь указанных стереоизомеров. Необходимо также понимать, что стереоизомерная чистота названных или изображенных стереоизомеров составляет по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 99 или 99,9% по массе относительно всех других стереоизомеров. Стереоизомерную чистоту в данном случае определяют путем деления общей массы стереоизомеров, соответствующих данному названию или структуре, присутствующих в смеси, на общую массу всех стереоизомеров, присутствующих в смеси.

Когда стереохимия соединения по изобретению не указана в названии или не отображена в структурной формуле и соединение имеет один хиральный центр, необходимо понимать, что данное название или структура включает один энантиомер соединения, свободный от соответствующего ему оптического изомера, рацемическую смесь соединения и смеси, обогащенные одним энантиомером относительно соответствующего ему оптического изомера.

Когда стереохимия соединения по изобретению не указана в названии или не отображена в структурной формуле и, например, соединение имеет по меньшей мере два хиральных центра, необходимо понимать, что данное название или структура включает один стереоизомер, свободный от других стереоизомеров, смеси стереоизомеров и смеси стереоизомеров, обогащенные одним или более чем одним стереоизомером относительно другого(их) стереоизомера(ов). Например, название или структура могут включать один стереоизомер, свободный от других диастереомеров, смеси стереоизомеров и смеси стереоизомеров, обогащенные одним или более чем одним диастереомером относительно другого(их) диастереомера(ов).

Энантиомерные и диастереоизомерные смеси могут быть разделены на составляющие их энантиомерные или стереоизомерные компоненты с использованием хорошо известных методик, таких как газо-

вая хроматография на хиральной фазе, высокоэффективная жидкостная хроматография на хиральной фазе, кристаллизация соединения в виде хирального солевого комплекса или кристаллизация соединения в хиральном растворителе. Энантиомеры и диастереоизомеры также могут быть получены из диастереомерночистых или энантиомерночистых промежуточных соединений, реагентов и катализаторов с использованием хорошо известных методик асимметричного синтеза.

Фармацевтические композиции.

Соединения, описанные в данной заявке, представляют собой PARP-ингибиторы (например PARP-1-ингибиторы). Фармацевтическая композиция по настоящему изобретению включает один или более чем один PARP-ингибитор (например PARP-1-ингибиторы), или его фармацевтически приемлемую соль, и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель.

"Фармацевтически приемлемый носитель" и "фармацевтически приемлемый разбавитель" относятся к веществу, которое облегчает получение препарата, содержащего активный агент, и/или введение активного агента субъекту, и/или абсорбцию активного агента субъектом, и включение которого в композиции по настоящему изобретению не оказывает значительного неблагоприятного токсического действия на субъект. Неограничивающие примеры фармацевтически приемлемых носителей и/или разбавителей включают воду, NaCl, физиологические растворы, раствор Рингера с лактатом, физиологические уровни сахарозы, физиологические уровни глюкозы, связующие вещества, наполнители, разрыхлители, смазывающие вещества, покрытия, подсластители, корригенты, солевые растворы (такие как раствор Рингера), спирты, масла, желатины, углеводы, такие как лактоза, амилоза или крахмал, сложные эфиры жирных кислот, гидроксиметилцеллюлозу, поливинилпирролидин и красители и т.п. Такие препараты могут быть стерилизованы и при желании смешаны со вспомогательными агентами, такими как смазывающие вещества, консерванты, стабилизаторы, увлажняющие агенты, эмульгаторы, соли для регулировки осмотического давления, буферные агенты, красящие и/или ароматические вещества и т.п., которые не вызывают неблагоприятного изменения или нарушения активности соединений по настоящему изобретению. Средний специалист в данной области техники должен понимать, что другие фармацевтические эксципиенты также подходят для использования с соединениями по изобретению.

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению необязательно включают один или более чем один фармацевтически приемлемый носитель и/или разбавитель, такой как лактоза, крахмал, целлюлоза и декстроза. Другие эксципиенты, например корригенты, подсластители и консерванты, такие как метил-, этил-, пропил- и бутил-парабены, также могут быть включены. Более полный список подходящих эксципиентов можно найти в The Handbook of Pharmaceutical Excipients (5th ed., Pharmaceutical Press (2005)). Специалист в данной области техники должно быть известно, как получать препараты, подходящие для различных типов путей введения. Стандартные методики и ингредиенты для выбора и получения подходящих препаратов описаны, например, в Remington's Pharmaceutical Sciences (2003, 20th edition) и в The United States Pharmacopeia: The National Formulary (USP 24 NF19), издание 1999 г. Носители, разбавители и/или эксципиенты являются "приемлемыми" в смысле их совместимости с другими ингредиентами фармацевтической композиции и безопасности для реципиента.

Способы лечения.

Ферменты PARP вовлечены во множество клеточных функций, включая репарацию ДНК, митохондриальный гомеостаз, защиту от окислительного стресса, воспаление, регуляцию обмена веществ, циркадные ритмы, дифференцировку и старение. См., например, Peter Bai, Molecular. Cell, 55:947 (2015). Соответственно PARP-ингибиторы обладают потенциалом для лечения широкого круга заболеваний и несколько PARP-ингибиторов уже разрешены к использованию для лечения рака.

В настоящем изобретении предложен способ лечения субъекта, имеющего заболевание, которое может быть ослаблено путем ингибирования PARP, включающий введение субъекту эффективного количества одного или более чем одного соединения по изобретению, или его фармацевтически приемлемой соли, или соответствующей фармацевтической композиции.

Термин "субъект" относится к млекопитающему, предпочтительно человеку, но также может относиться к животному, нуждающемуся в ветеринарном лечении, например к домашним животным (например, собакам, кошкам и т.п.), сельскохозяйственным животным (например, коровам, овцам, свиньям, лошадям и т.п.) и лабораторным животным (например, крысам, мышам, морским свинкам и т.п.).

Заболевания, которые могут быть ослаблены путем ингибирования PARP, могут быть выбраны из генетической липодистрофии, неалкогольной жировой дегенерации печени (NAFLD), неалкогольного стеатогепатита (NASH), ишемического/реперфузионного повреждения почек (IRI), мышечной дистрофии Дюшенна и Беккера, диабета (типа I или типа II), ожирения, саркопении, болезни Альперса, хронической прогрессирующей наружной офтальмоплегии (СРЕО), синдрома Кернса-Сейра (KSS), наследственной оптической нейропатии Лебера (LHON), MELAS - митохондриальной миопатии, энцефаломиопатии, лактоцидоза и инсультоподобных эпизодов, MERRF - миоклонической эпилепсии с рваными мышечными волокнами, NARP - нейрогенной мышечной слабости, атаксии и пигментного ретинита, синдрома Пирсона, ототоксичности, индуцированной химиотерапией препаратами платины, синдрома Коккейна, ксеродермы пигментной А, валлеровского перерождения и ВИЧ-индуцированной липодистрофии.

Методики введения и лекарственные формы.

Точное количество вводимого соединения, которое является "эффективным количеством" для данного субъекта, зависит от пути введения, типа и тяжести рака и от характеристик субъекта, таких как общее состояние здоровья, возраст, пол, масса тела и толерантность к лекарствам. Специалист в данной области техники способен определить подходящие дозы в зависимости от указанных и других факторов. При введении в комбинации с другими терапевтическими агентами, например при введении в комбинации с противораковым агентом, "эффективное количество" любого(ых) дополнительного(ых) терапевтического(их) агента(ов) зависит от типа используемого лекарства. Подходящие дозы разрешенных к использованию терапевтических агентов известны и могут быть скорректированы специалистом в данной области техники в соответствии с состоянием субъекта, типом патологического(их) состояния(й), которое(ые) требует(ют) лечения, и количеством применяемого соединения по изобретению на основе, например, доз, описанных в литературе и рекомендованных в Physician's Desk Reference (57-е издание, 2003).

Термин "эффективное количество" означает количество, которое при введении субъекту приводит к благоприятным или желаемым результатам, включая клинические результаты, например ингибирует, ослабляет или уменьшает симптомы патологического состояния у субъекта, которого лечат, в сравнении с контролем. Например, терапевтически эффективное количество может быть введено в стандартной лекарственной форме (и составляет, например, от 0,1 мг до приблизительно 50 г в сутки, альтернативно от 1 мг до приблизительно 5 г в сутки и в другом случае от 10 мг до 1 г в сутки).

Термины "вводить", "введение (процесс)", "введение" и т.п. в контексте данного описания относятся к методикам, которые могут быть использованы для доставки композиций к желаемому месту биологического воздействия. Данные методики включают без ограничения интраартикулярный (в суставы), внутривенный, внутримышечный, внутриопухолевый, интрадермальный, интраперитонеальный, подкожный, пероральный, местный, интратекальный, ингаляционный, трансдермальный, ректальный пути введения и т.п. Методики введения, которые могут быть использован с агентами, и методики, приведенные в данном описании, можно найти, например, в Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics (текущее издание); Pergamon; и Remington's, Pharmaceutical Sciences (текущее издание), Mack Publishing Co., Easton, Pa.

Конкретный путь введения и режим введения доз обычно выбирает лечащий врач, принимая во внимание особенности каждого конкретного случая (например особенности субъекта, заболевания, сопутствующего болезненного состояния, конкретного лечения). Лечение может включать суточные, или многократные суточные, или более редкие чем суточные (например еженедельные или ежемесячные и так далее) дозы, вводимые в течение периода времени от нескольких суток до нескольких месяцев, или даже лет. Однако средний специалист в данной области техники, знакомый с дозами разрешенных к использованию композиций для лечения PARP-опосредованного заболевания, смог бы легко определить подходящие и/или эквивалентные дозы, используя для руководства данные описанные PARP-ингибиторы).

Соединения или соответствующие фармацевтические композиции, описанные в данной заявке, могут быть введены пациенту в различных лекарственных формах в зависимости от выбранного пути введения, как понятно специалистам в данной области техники. Соединения согласно настоящему изобретению могут быть введены, например, с использованием перорального, парентерального, трансбуккального, сублингвального, назального, ректального введения, с помощью пластыря, дозатора или путем трансдермального введения, и фармацевтические композиции, содержащие данные соединения, представлены в соответствующей форме. Парентеральное введение включает внутривенный, интраперитонеальный, подкожный, внутримышечный, трансэпителиальный, назальный, внутрилегочный, интратекальный, ректальный и местный пути введения. Парентеральное введение может быть осуществлено путем непрерывной инфузии в течение выбранного периода времени.

Фармацевтическая композиция по настоящему изобретению представлена в форме препарата, совместимого с ее предполагаемым путем введения. Согласно одному из вариантов осуществления настоящего изобретения, данную композицию получают в соответствии со стандартными методиками в виде фармацевтической композиции, адаптированной для внутривенного, подкожного, внутримышечного, перорального, интраназального или местного введения человеку. Согласно предпочтительным вариантам осуществления настоящего изобретения, фармацевтическая композиция представлена в форме препарата, предназначенного для внутривенного введения.

Обычно соединение согласно настоящему изобретению, предназначенное для перорального терапевтического введения, может быть объединено с эксципиентом и использовано в форме проглатываемых таблеток, трансбуккальных таблеток, пастилок, капсул, эликсиров, суспензий, сиропов, вафель и т.п.

Обычно растворы соединения согласно настоящему изобретению, предназначенные для парентерального введения, могут быть получены в воде, надлежащим образом смешанной с поверхностно-активным веществом, таким как гидроксипропилцеллюлоза. Дисперсии также могут быть получены в глицерине, жидких полиэтиленгликолях, ДМСО и их смесях со спиртом или без спирта и в маслах. При стандартных условиях хранения и использования данные препараты содержат консервант для предот-

вращения роста микроорганизмов.

Для инъекционного введения обычно подходят стерильные водные растворы или дисперсии и стерильные порошки соединения, описанного в данной заявке, предназначенные для получения экстемпоральных стерильных инъекционных растворов или дисперсий.

Примеры

```
Аббревиатуры.
     Ме - метил;
     Et - этил;
     Вос - трет-бутилоксикарбонил;
     Ас - ацетил;
     Ph - фенил;
     Tf - трифторметансульфонил;
     DIPEA - диизопропилэтиламин;
     EDC - 3-(3-диметиламинопропил)-1-этилкарбодиимид;
     HOBt - 1-гидроксибензотриазол;
     ДХМ - дихлорметан;
     ДМФА - N,N-диметилформамид;
     ДМСО - диметилсульфоксид;
     ТФУ - трифторуксусная кислота;
     ТГФ - тетрагидрофуран;
     TMS - триметилсилан;
     TMSOTf - трифторметансульфоновой кислоты триметилсилиловый эфир вод. водный;
     М - концентрация, выраженная в моль/л;
     к.т. - комнатная температура;
     ТСХ - тонкослойная хроматография;
     ВЭЖХ - высокоэффективная жидкостная хроматография;
     NMI - 1-метилимидазол;
     ЖХ-МС - жидкостная хроматография/масс-спектрометрия;
     ESI+ - значения m/z в масс-спектроскопии (ионизация ESI);
     ESI- - значения m/z в масс-спектроскопии (ионизация ESI);
     ^{1}Н ЯМР (ДМСО-d_{6}) \delta (м.д.) пика - ^{1}Н ЯМР в ДМСО-d_{6};
     s - синглет (спектра);
     d - дублет (спектра);
     t - триплет (спектра);
     q - квартет (спектра);
     dd - двойной дуплет (спектра):
     br - уширенная линия (спектра);
     т - мультиплет (спектра);
     4-ANI - 4-амино-1,8-нафталимид;
     АДФ - аденозиндифосфат;
     СРМ - число импульсов в минуту;
     ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота;
     DTT - DL-дитиотрейтол;
     FB - плоское дно;
     мг - миллиграмм;
     мМ - миллимолярный;
     НАД - никотинамидадениндинуклеотид;
     нМ - наномолярный;
     нг - нанограмм;
     PARP-1 - поли(АДФ-рибоза)полимераза 1;
     SPA - сцинтилляционный анализ сближения;
     мкКи - микрокюри;
     мкл - микролитр;
     ТЗР - пропилфосфоновый ангидрид;
     NMM - 4-метилморфолин;
     CDI - 1,1'-карбонилдиимидазол;
     EtOAc - этилацетат;
     ТЕМРО - 2,2,6,6-тетраметил-1-пиперидинилокси;
     МТВЕ - трет-бутилметиловый эфир;
     НАТИ - 1-[бис(диметиламино)метилен]-1Н-1,2,3-триазоло[4,5-b]пиридиния 3-оксида гексафтор-
фосфат;
```

IPA - изопропиловый спирт;

DMA - N,N-диметилацетамид;

BINAP - (1,1'-бинафталин-2,2'-диил)бис(дифенилфосфин);

NMP - 1-метил-2-пирролидинон;

Dppf - 1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен;

DMAP - 4-(диметиламино)пиридин;

DIEA - N,N-диизопропилэтиламин.

Пример 1. Синтез 3-хлор-4-(4-(3-(8-хлор-4-оксо-3,4-дигидрохиназолин-2-ил)пропаноил)пиперазин-1-ил)-N-циклопропилбензамида.

Стадия 1.

К перемешиваемому раствору 3-хлор-2-нитро-бензойной кислоты (15 г, 0,074 моль) в воде (105 мл) добавляли при комнатной температуре 30% водный раствор NH_3 (6 мл) и водный раствор дитионита натрия (52 г, 0,298 моль) и перемешивали в течение 1 ч (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь подкисляли до pH 3 концентрированной HC1 (30 мл), экстрагировали EtOAc (2×500 мл), промывали водой (2×100 мл) и солевым раствором (150 мл). Объединенные органические экстракты сушили над Na_2SO_4 , концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который промывали Et_2O (50 мл) с получением 2-амино-3-хлорбензойной кислоты (9 г, 70%) в виде желтоватого твердого вещества.

ЖХ-МС (m/z): 172,3 [M+H]⁺.

Стадия 2.

Перемешиваемый раствор 2-амино-3-хлор-бензойной кислоты (9 г, 0,052 моль) и CDI (9 г, 0,055 моль) в ДМФА (180 мл) нагревали до 70°С в течение 1 ч. Затем добавляли 30% водный раствор NH_3 (144 мл), поддерживая температуру при 70°С и перемешивали в течение 16 ч (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Температуру реакционной смеси доводили до комнатной температуры, смесь вливали в ледяную воду (1 л) и экстрагировали EtOAc (2×250 мл). Объединенные органические экстракты промывали водой (2×100 мл), солевым раствором (100 мл), сушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который промывали Et_2O (2×30 мл) с получением 2-амино-3-хлор-бензамида (5,4 г, 60%) в виде желтоватого твердого вещества.

ЖХ-МС (m/z): 171,3 [M+H]⁺. Стадия 3.

К перемешиваемому раствору 2-амино-3-хлор-бензамида (2 г, 11,76 ммоль) в пиридине (15 мл), находящемуся в герметично закрываемой пробирке, добавляли при 0°С 4-бромбутаноил хлорид (3,3 г, 17,64 ммоль) в ДХМ (5 мл). Данную реакционную смесь нагревали до 100°С и перемешивали в течение 12 ч (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Температуру реакционной смеси доводили до комнатной температуры, смесь разбавляли водой (150 мл) и экстрагировали EtOAc (2×150 мл). Объединенные органические экстракты промывали насыщенным водным раствором NH_4Cl (2×50 мл), солевым раствором (50 мл), сушили над Na_2SO_4 , концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного желаемого соединения, которое промывали толуолом (20 мл), диэтиловым эфиром (2×10 мл) с получением 8-хлор-2-(3-гидроксипропил)-3H-хиназолин-4-она (600 мг, 21%) в виде желтоватого твердого вещества.

WX-MC (m/z): 239,4 [M+1]⁺.

Стадия 4.

К перемешиваемому раствору 8-хлор-2-(3-гидроксипропил)-3H-хиназолин-4-она (500 мг, 2,10 ммоль) в ACN (ацетонитриле) (10 мл), добавляли при комнатной температуре TEMPO (65 мг, 0,414 ммоль) и буферный раствор фосфата натрия (8 мл, рН 6,5) и нагревали до 40°С. Затем добавляли порциями при 40°С хлорит натрия (3,75 г в 15 мл воды) и раствор хлорита натрия (4% в $\rm H_2O$, 15 мл). Температуру реакционной смеси доводили до комнатной температуры, смесь подщелачивали до рН 8 путем добавления 1 н. раствора NаOH, вливали в 1 н. раствор $\rm Na_2S_2O_3$ (50 мл), промывали МТВЕ (2×25 мл). Водный слой подкисляли до рН 1 путем добавления 1 н. HCl и экстрагировали EtOAc (3×50 мл). Объединенные органические экстракты промывали солевым раствором (50 мл), сушили над $\rm Na_2SO_4$, концентрировали при пониженном давлении с получением 3-(8-хлор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (250 мг, 47%), которую использовали на следующей стадии дополнительной очистки.

 $WX-MC (m/z): 253,3 [M+1]^+$.

Стадия 5.

К перемешиваемому раствору 3-(8-хлор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (285 мг, 1,13 ммоль) и 3-хлор-N-циклопропил-4-пиперазин-1-ил-бензамида (308 мг, 1,1 ммоль) в ДМФА (2,6 мл) добавляли при комнатной температуре EDC·HCl (432 мг, 2,26 ммоль), HOBt (305 мг, 2,26 ммоль) и DIPEA (0,96 мл, 5,65 ммоль) и перемешивали в течение 12 ч (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь разбавляли холодной водой (50 мл), экстрагировали EtOAc (3×25 мл). Объединенные органические слои промывали водой (25 мл), солевым раствором (25 мл), сушили над Na₂SO₄, концентрировали при пониженном давлении и остаток очищали путем хроматографии на Teledyne-ISCO Combiflash (5-7% MeOH-ДХМ, картридж 4 г) с получением 3-хлор-4-(4-(3-(8-хлор-4-оксо-3,4-дигидрохиназолин-2-ил)пропаноил)пиперазин-1-ил)-N-циклопропилбензамида (100 мг, 85% согласно ЖХ-МС), который дополнительно очищали путем препаративной ВЭЖХ с выходом чистого соединения (25 мг, 5%) в виде белого твердого вещества.

 1 H ЯМР [300 М Γ ц, ДМСО-d₆] δ 12.54 (уш. s, 1H), 8.42 (d, J=3.9 Γ ц, 1H), 8.05-8.02 (m, 1H), 7.93-7.88 (m, 2H), 7.76 (dd, J=8.1, 1.8 Γ ц, 1H), 7.42 (t, J=7.8 Γ ц, 1H), 7.16 (d, J=8.4 Γ ц, 1H), 3.70 (m, 2H), 3.08-2.92 (m, 2H), 2.8-2.79 (m, 7H), 0.71-0.62 (m, 2H), 0.60-0.52 (m, 2H).

XX-MC (m/z): 514,4 [M+H]⁺.

Пример 2. Синтез 3-хлор-4-[4-[3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]бензамида. Стадия 1.

В круглодонную колбу вносили 3-хлор-4-фтор-бензойную кислоту $(2,0\,\mathrm{r},\,11,4\,\mathrm{mmonb})$, серную кислоту $(0,33\,\mathrm{r},\,3,4\,\mathrm{mmonb})$, МеОН $(20\,\mathrm{mn})$ и данную смесь подвергали дефлегмации в течение $16\,\mathrm{v}$ (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Летучие компоненты удаляли при пониженном давлении; остаток разбавляли водой $(15\,\mathrm{mn})$ и экстрагировали $\mathrm{EtOAc}\,(3\times50\,\mathrm{mn})$. Объединенные органические экстракты промывали солевым раствором $(50\,\mathrm{mn})$, сушили над $\mathrm{Na_2SO_4}\,\mathrm{u}$ концентрировали под вакуумом, полученный неочищенный остаток очищали путем колоночной хроматографии $(100\text{-}200\,\mathrm{силикагель},\,40\,\mathrm{r},\,10\%\,\mathrm{EtOAc}$ -гексан) с выходом метил 3-хлор-4-фтор-бензоата $(1,5\,\mathrm{r},\,69\%)$ в виде светло-желтого масла.

 1 Н ЯМР [300 МГц, CDCl $_{3}$] δ 8.08 (dd, J=6.9, 2.1 Гц, 1H), 7.94-7.89 (m, 1H), 7.18 (t, J=8.7 Гц, 1H), 3.90 (s, 3H).

Стадия 2.

$$K_2CO_3$$
, ДМСО ОМе Стадия 2 Вос N СГ 3

К метил 3-хлор-4-фтор-бензоату (1,5 г, 7,9 ммоль), находящемуся в герметично закрываемой пробирке, добавляли пиперазин-1-карбоновой кислоты трет-бутиловый эфир (1,48 г, 7,9 ммоль) и затем K_2CO_3 (3,29 г, 23 ммоль) и ДМСО (15 мл) и перемешивали в течение 10 ч при 100°С (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь вливали в воду, охлажденную до 0°С (150 мл), и экстрагировали EtOAc (2×100 мл). Объединенные органические экстракты промывали солевым раствором (2×75 мл), сушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении, полученный неочищенный остаток очищали путем колоночной хроматографии (100-200 силикагель, 30 г, 10% EtOAc-гексан) с выходом трет-бутил 4-(2-хлор-4-метоксикарбонил-фенил)пиперазин-1-карбоксилата (2,1 г, 74%) в виде белого твердого вещества.

XX-MC (m/z): 355,4 [M+H]⁺.

Стадия 3.

К перемешиваемому раствору трет-бутил 4-(2-хлор-4-метоксикарбонил-фенил)пиперазин-1-карбоксилата (2 г, 5,6 ммоль) в смеси ТГФ:МеОН: $\rm H_2O$ (10:1:1, 24 мл), добавляли LiOH· $\rm H_2O$ (0,47 г, 11,2 ммоль), данную смесь нагревали в течение 12 ч при 60°C (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано) и концентрировали при пониженном давлении. Остаток растворяли в воде (30 мл), охлажденной до 0°C, подкисляли до рН 2-3 путем добавления 1н. HCl. Выпавшее в осадок твердое вещество собирали путем фильтрования и сушили под вакуумом с получением 4-(4-трет-бутоксикарбонилпиперазин-1-ил)-3-хлор-бензойной кислоты (1,4 г, 73%) в виде белого твердого вещества.

ЖХ-МС (m/z): 341,4 [M+H]⁺. Стадия 4.

К перемешиваемому раствору 4-(4-трет-бутоксикарбонилпиперазин-1-ил)-3-хлор-бензойной кислоты (0,5 г, 1,4 ммоль) в ТГФ (5 мл), добавляли в атмосфере аргона EDC·HCl (0,42 г, 2,2 ммоль), HOBt·NH $_3$ (0,33 г, 2,2 ммоль) и DIPEA (0,75 мл, 4,4 ммоль), и перемешивали в течение 5 ч при комнатной температуре (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Летучие компоненты удаляли при пониженном давлении, и остаток разбавляли ледяной водой (100 мл) и EtOAc (150 мл). Органический слой отделяли, промывали солевым раствором (2×50 мл), сушили над Na $_2$ SO $_4$ и концентрировали при пониженном давлении. Данный неочищенный остаток промывали Et_2 O (3×5 мл), пентаном (3×5 мл), сушили в условиях глубокого вакуума с получением трет-бутил 4-(4-карбамоил-2-хлорфенил)пиперазин-1-карбоксилата (0,4 г, 80%) в виде белого твердого вещества.

XX-MC (m/z): 340,4 [M+H]⁺.

Стадия 5.

К перемешиваемому раствору трет-бутил 4-(4-карбамоил-2-хлор-фенил)пиперазин-1-карбоксилата $(0,4\ \Gamma,1,0\ \text{ммоль})$ в ДХМ $(4\ \text{мл})$, охлажденному до 0°С, добавляли 4н. НСІ-диоксан $(0,4\ \text{мл})$, и перемешивали в течение 3 ч при комнатной температуре (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Летучие компоненты удаляли при пониженном давлении, и остаток промывали $\text{Et}_2\text{O}\ (3\times10\ \text{мл})$, пентаном $(2\times5\ \text{мл})$ и сушили в условиях глубокого вакуума с получением 3-хлор-4-

пиперазин-1-ил-бензамида (300 мг, количественный выход) в виде белого твердого вещества.

XX-MC (m/z): 240,4 [M+H]⁺.

Стадия 6.

К перемешиваемому раствору 3-хлор-4-пиперазин-1-ил-бензамида $(0,1\ r,0,45\ mmoль)$ в ДМФА $(1\ mn)$, добавляли в атмосфере аргона 3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановую кислоту $(0,13\ r,0,50\ mmoль)$, НАТU $(0,26\ r,0,68\ mmoль)$ и DIPEA $(0,23\ mn,1,37\ mmoль)$, и перемешивали в течение 8 ч при комнатной температуре (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь вливали в воду, охлажденную до 0° С $(10\ mn)$, выпавшее при этом в осадок твердое вещество собирали путем фильтрования, промывали Et_2 О $(3\times5\ mn)$, пентаном $(3\times5\ mn)$. МеОН $(2\times5\ mn)$, сушили в условиях глубокого вакуума с получением 3-хлор-4-[4-[3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]бензамида $(0,04\ r,20\%)$ в виде желтоватого твердого вещества.

 1 Н ЯМР [300 МГц, ДМСО-d₆] δ 12.22 (уш. s, 1H), 8.07 (dd, J=8.1, 1.2 Гц, 1H), 7.98 (уш. s, 1H), 7.93 (d, J=1.8 Гц, 1H), 7.83-7.78 (m, 2H), 7.76 (d, J=1.2 Гц, 1H), 7.74-7.48 (m, 1H), 7.47 (уш. s, 1H), 7.44 (d, J=7.2 Гц, 1H), 3.69-3.61 (m, 4H), 3.07-2.97 (m, 4H), 2.89 (уш. s, 4H).

ЖХ-МС (m/z): 440,4 $[M+H]^+$.

Пример 3. Синтез 3-хлор-N-метил-4-[4-[3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]бензамида.

Стадия 1.

К перемешиваемому раствору 4-(4-трет-бутоксикарбонилпиперазин-1-ил)-3-хлор-бензойной кислоты (0,5 г, 1,4 ммоль) в ДМФА (5 мл) добавляли CDI (0,35 г, 2,2 ммоль), охлаждали до 0°С, перемешивали в течение 10 мин при комнатной температуре и добавляли раствор метиламина (1 М раствор в ТГФ, 1,46 мл, 1,4 ммоль). Данную реакционную смесь нагревали до комнатной температуры, перемешивали в течение 8 ч (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано), вливали в воду, охлажденную до 0°С (50 мл) и экстрагировали EtOAc (2×50 мл). Объединенные органические экстракты промывали водой (50 мл), солевым раствором (2×50 мл), сушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении. Данный неочищенный остаток промывали Et_2O (3×10 мл) и пентаном (3×10 мл), сушили в условиях глубокого вакуума с получением трет-бутил 4-[2-хлор-4-(метилкарбамоил)фенил]пиперазин-1-карбоксилата (0,4 г, 77%) в виде светло-коричневого твердого вещества.

 1 Н ЯМР [300 МГц, ДМСО-d₆] δ 8.44 (уш., 1H), 7.88 (d, J=2.1 Гц, 1H), 7.78-7.75 (m, 1H), 7.19 (d, J=8.4 Гц, 1H), 3.47 (t, J=4.2 Гц, 4H), 2.98 (d, J=4.8 Гц, 4H), 2.75 (d, J=4.5 Гц, 3H), 1.42 (s, 9H).

XX-MC (m/z): 354,4 [M+H]⁺.

Стадия 2.

К перемешиваемому раствору трет-бутил 4-[2-хлор-4-(метилкарбамоил)фенил]пиперазин-1-карбоксилата (0,4 г, 1,0 ммоль) в ДХМ (4 мл), охлажденному до 0°С, добавляли 4 н. НСІ-диоксан (1,1 мл), нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 5 ч (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Летучие компоненты удаляли при пониженном давлении и остаток промывали Et_2O (2×5 мл) и пентаном (2×5 мл) и сушили под вакуумом с получением 3-хлор-N-метил-4-пиперазин-1-ил-бензамида (300 мг, 91%) в виде белого твердого вещества.

XX-MC (m/z): 254,4 [M+H]⁺.

Стадия 3.

К перемешиваемому раствору 3-хлор-N-метил-4-пиперазин-1-ил-бензамида (0,1 г, 0,45 ммоль) в ДМФА (1 мл) добавляли в атмосфере аргона 3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановую кислоту (0,14 г, 0,50 ммоль), НАТU (0,26 г, 0,68 ммоль) и DIPEA (0,23 мл, 1,37 ммоль) и перемешивали в течение 8 ч при комнатной температуре (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь вливали в ледяную воду и экстрагировали EtOAc (2×50 мл). Объединенные органические экстракты отделяли, промывали водой (30 мл), солевым раствором (50 мл), сушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении. Данный неочищенный остаток промывали Et_2O (3×5 мл), пентаном (3×5 мл), 10% MeOH-ДХМ (3×5 мл) и сушили под вакуумом с получением 3-хлор-N-метил-4-[4-[3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]бензамида (0,04 г, 19%) в виде желтоватого твердого вещества.

 1 Н ЯМР [300 МГц, ДМСО-d₆] δ 12.21 (уш. s, 1H), 8.45-8.44 (уш., 1H), 8.07 (dd, J=7.8, 1.2 Гц, 1H), 7.89 (d, J=2.1 Гц, 1H), 7.79-7.73 (m, 2H), 7.57 (d, J=7.8 Гц, 1H), 7.47-7.42 (m, 1H), 7.18 (d, J=8.4 Гц, 1H), 3.69-3.59 (m, 4H), 3.07-2.97 (m, 4H), 2.89 (уш. s, 4H), 2.76 (d, J=4.5 Гц, 3H).

ЖХ-МС (m/z): 454.4 [M+H]⁺.

Пример 4. Синтез 3-хлор-N-циклопропил-4-[4-[3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]бензамида.

Стадия 1.

К перемешиваемому раствору 3-хлор-4-фтор-бензойной кислоты (1 г, 5,73 ммоль) и циклопропанамина (0,47 мл, 6,76 ммоль) в сухом ДМФА (10 мл) добавляли при комнатной температуре в атмосфере аргона EDC·HCl (1,64 г, 8,56 ммоль), HOBt (1,2 г, 8,89 ммоль) и NMM (3,1 мл, 28,24 ммоль) и перемешивали в течение 4 ч. После завершения реакции (согласно TCX-анализу) реакционную смесь разбавляли холодной водой (25 мл) и перемешивали в течение 15 мин. Образовавшееся твердое вещество собирали путем фильтрования, промывали водой (50 мл) и сушили под вакуумом с получением 3-хлор-N-циклопропил-4-фтор-бензамида (0,85 г, выход: 70%) в виде белого твердого вещества.

XX-MC (m/z): 214,3 [M+H]⁺.

Стадия 2.

К перемешиваемому раствору 3-хлор-N-циклопропил-4-фтор-бензамида (3,1 г, 14,55 ммоль) в сухом ДМСО (25 мл) добавляли при комнатной температуре в атмосфере аргона пиперазин (6,26 г, 72,77 ммоль), и перемешивали в течение 30 ч при 120°С (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). После охлаждения до комнатной температуры реакционную смесь разбавляли водой (20 мл) и экстрагировали с использованием 10% IPA-ДХМ (5×100 мл). Объединенные органические экстракты сушили над безводным Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении. Остаток промывали Et_2O (2×20 мл) с получением 3-хлор-N-циклопропил-4-пиперазин-1-ил-бензамида (3,9 г, выход: 96%) в виде белого твердого вещества.

WX-MC (m/z): 280,4 [M+H]⁺.

Стадия 3.

К перемешиваемому раствору 3-хлор-N-циклопропил-4-пиперазин-1-ил-бензамида (100 мг, 0,36 ммоль) и 3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (94 мг, 0,43 ммоль) в сухом ДМФА (2 мл) добавляли при комнатной температуре в атмосфере аргона EDC·HCl (103 мг, 0,54 ммоль), HOBt (73 мг, 0,54 ммоль) и DIPEA (0,2 мл, 1,15 ммоль) и перемешивали в течение 4 ч. После завершения реакции (согласно TCX-анализу) реакционную смесь гасили холодной водой (20 мл) и перемешивали в течение 15 мин. Образовавшееся твердое вещество собирали путем фильтрования, промывали водой (50 мл) и затем Et_2O (2×5 мл) с получением соединения 3-хлор-N-циклопропил-4-[4-[3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]бензамид (80 мг, выход: 47%) в виде белого твердого вещества.

 1 H ЯМР [300 МГц, ДМСО-d₆] δ 12.31 (уш. s, 1H), 8.41 (уш. s, 1H), 8.08 (d, J=8.1 Гц, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.79-7.40 (m, 2H), 7.57 (d, J=8.1 Γц, 1H), 7.45 (t, J=7.8 Γц, 1H), 7.17 (d, J=8.4 Γц, 1H), 3.69 (s, 2H), 3.62 (s, 2H), 3.07 (s, 2H), 2.97 (s, 2H), 2.88 (s, 4H), 2.85-2.81 (m, 1H), 0.71-0.65 (m, 2H), 0.56-0.55 (m, 2H).

ЖХ-МС (m/z): 480,5 [M+H]⁺.

Пример 5. Синтез 3-хлор-N-циклобутил-4-[4-[3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]бензамида.

Стадия 1.

$$_{HO_2C}$$
 + $_{CII}$ + $_{CIH,H_2N}$ $\xrightarrow{EDC \cdot HCl, HOBt}$ $\xrightarrow{NMM, ДМФА, к. т., 4}$ ч \xrightarrow{CI} \xrightarrow{CI} \xrightarrow{N} \xrightarrow{CI} \xrightarrow{N} \xrightarrow{CI} \xrightarrow{N} \xrightarrow{N}

К перемешиваемому раствору 3-хлор-4-фтор-бензойной кислоты (500 мг, 2,865 ммоль) в ДМФА (5 мл) добавляли при комнатной температуре циклобутанамина гидрохлорид (369 мг, 3,438 ммоль), EDC·HCl (820 мг, 4,297 ммоль), HOBt (580 мг, 4,297 ммоль) и NMM (1,6 мл, 14,325 ммоль) и перемешивали в течение 4 ч (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь разбавляли холодной водой (60 мл) и экстрагировали EtOAc (3×60 мл). Объединенные органические экстракты промывали холодной водой (50 мл), сушили над Na₂SO₄, концентрировали при пониженном давлении с получением 3-хлор-N-циклобутил-4-фтор-бензамида (550 мг, 84%), который использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

WX-MC (m/z): 228,22 [M+H]⁺.

Стадия 2.

К перемешиваемому раствору 3-хлор-N-циклобутил-4-фтор-бензамида (550 мг, 2,422 ммоль) в ДМСО (5,5 мл) добавляли при комнатной температуре пиперазин (1,04 г, 12,114 ммоль) и нагревали в течение 16 ч при 120°С (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь вливали в воду, охлажденную до 0°С (40 мл), выпавшее в осадок твердое вещество собирали путем фильтрования в атмосфере аргона с получением неочищенного 3-хлор-N-циклобутил-4-пиперазин-1-ил-бензамида (410 мг, 58%). Данное неочищенное вещество использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

XX-MC (m/z): 294,39 [M+H]⁺.

Стадия 3.

К перемешиваемому раствору 3-(4-оксо-3Н-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (100 мг,

0,458 ммоль) в ДМФА (2 мл) добавляли при комнатной температуре 3-хлор-N-циклобутил-4-пиперазин-1-ил-бензамид (134 мг, 0,458 ммоль), EDC·HCl (131 мг, 0,687 ммоль), HOBt (92 мг, 0,687 ммоль) и DIPEA (0,16 мл, 0,916 ммоль) и перемешивали в течение 16 ч (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь вливали в ледяную воду (20 мл), выпавшее при этом в осадок твердое вещество собирали путем фильтрования, промывали Et_2O (20 мл) и сушили под вакуумом с получением 3-хлор-N-циклобутил-4-[4-[3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]бензамида (90 мг, 40%) в виде белого твердого вещества.

 1 Н ЯМР [300 МГц, ДМСО-d₆] δ 12.2 (s, 1H), 8.60 (d, J=7.2 Гц, 1H), 8.07 (d, J=7.7 Гц, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.80-7.73 (m, 2H), 7.56 (d, J=8.1 Гц, 1H), 7.45 (t, J=7.5 Гц, 1H), 7.17 (d, J=8.4 Гц, 1H), 4.42-4.37 (m, 1H), 3.65 (d, J=22.5 Гц, 4H), 3.07 (уш. s, 2H), 2.97 (уш. s, 2H), 2.89 (s, 4H), 2.18 (уш. s, 2H), 2.07-1.98 (m, 2H), 1.67-1.65 (m, 2H).

XX-MC (m/z): 494,70 [M+H]⁺.

Пример 6. Синтез 3-хлор-N-(1-метилциклопропил)-4-[4-[3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]бензамида.

Стадия 1.

$$F$$
 СО₂H $CIH H_2N 2$ $EDC \cdot HCL$, HOBt, NMM, ДМФА, 4 ч, $CIH H_2N 3$ $EDC \cdot HCL$ $EDC \cdot HCL$

К перемешиваемому раствору 3-хлор-4-фтор-бензойной кислоты (50 мг, 0,29 ммоль) в ДМФА (2 мл) добавляли при комнатной температуре 1-метилциклопропанамина гидрохлорид (36 мг, 0,34 ммоль), EDC·HCl (82 мг, 0,429 ммоль), HOBt (58 мг, 0,429 ммоль) и NMM (0,16 мл, 1,43 ммоль) и перемешивали в течение 4 ч (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь разбавляли водой (25 мл), выпавшее при этом в осадок твердое вещество собирали путем фильтрования. Данное твердое вещество промывали водой (20 мл) и сушили в условиях глубокого вакуума с получением 3-хлор-4-фтор-N-(1-метилциклопропил)бензамида (50 мг, 78%) в виде желтоватого твердого вещества.

WX-MC (m/z): 228,19 [M+H]⁺.

Стадия 2.

Перемешиваемый раствор 3-хлор-4-фтор-N-(1-метилциклопропил)бензамида (500 мг, 2,21 ммоль) и пиперазина (951 мг, 11,06 ммоль) в ДМСО (5 мл) нагревали в течение 16 ч при 120°С (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь разбавляли EtOAc (200 мл), промывали водой (1×100 мл) и солевым раствором (1×100 мл). Органический слой отделяли, сушили над Na_2SO_4 , летучие компоненты удаляли при пониженном давлении с получением неочищенного 3-хлор-N-(1-метилциклопропил)-4-пиперазин-1-ил-бензамида (800 мг), который использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

XX-MC (m/z): 294,35 [M+H]⁺.

Стадия 3.

К перемешиваемому раствору 3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (300 мг, 1,37 ммоль) в ДМФА (5 мл) добавляли при комнатной температуре 3-хлор-N-(1-метилциклопропил)-4-пиперазин-1-ил-бензамид (604 мг, 2,06 ммоль), ТЗР (0,87 мл, 2,75 ммоль, 50% раствор в ДМФА) и DIPEA (0,75 мл, 4,12 ммоль) и перемешивали в течение 18 ч при комнатной температуре (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь разбавляли EtOAc (200 мл), промывали водой (1×100 мл) и солевым раствором (1×100 мл). Органический слой отделяли, сушили над Na_2SO_4 , летучие компоненты выпаривали при пониженном давлении с получением желаемого неочищенного соединения, которое очищали путем препаративной ВЭЖХ с выходом 3-хлор-N-(1-

метилциклопропил)-4-[4-[3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]бензамида (140 мг, 20%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР [400 МГц, ДМСО-d₆] δ 12.20 (уш. s, 1H), 8.64 (уш. s, 1H), 8.07 (d, J=8.0 Гц, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.76-7.75 (m, 2H), 7.57 (d, J=8.0 Гц, 1H), 7.45 (t, J=8.0 Гц, 1H), 7.15 (d, J=8.4 Гц, 1H), 3.69 (уш. s, 2H), 3.61 (уш. s, 2H), 3.06 (уш. s, 2H), 2.96 (уш. s, 2H), 2.89 (s, 4H), 1.34 (s, 3H), 0.71 (уш. s, 2H), 0.60 (уш. s, 2H). ЖХ-МС (m/z): 494,50 [M+H]⁺.

Пример 7. Синтез 3-хлор-N-(3-метилоксетан-3-ил)-4-[4-[3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]бензамида.

Стадия 1.

К перемешиваемому раствору 3-хлор-4-фтор-бензойной кислоты (500 мг, 2,86 ммоль) в ДМФА (5 мл) добавляли при комнатной температуре 3-метилоксетан-3-амина гидрохлорид (420 мг, 3,43 ммоль), EDC·HCl (820 мг, 4,29 ммоль), HOBt (580 мг, 4,29 ммоль) и NMM (1,6 мл, 14,32 ммоль) и перемешивали в течение 4 ч (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь разбавляли EtOAc (200 мл), промывали водой (1×100 мл), солевым раствором (1×100 мл). Органический слой отделяли, сушили над Na_2SO_4 , летучие компоненты выпаривали при пониженном давлении и остаток очищали путем колоночной хроматографии (100-200 силикагель, 7 г, 70% EtOAcгексан) с получением 3-хлор-4-фтор-N-(3-метилоксетан-3-ил)бензамида (610 мг, 87%) в виде твердого вещества кремового цвета.

ЖХ-MC (m/z): 244,14 [M+H]⁺. Стадия 2.

К перемешиваемому раствору 3-хлор-4-фтор-N-(3-метилоксетан-3-ил)бензамида (600 мг, 2,46 ммоль) в ДМСО (6 мл) добавляли при комнатной температуре пиперазин (1 г, 12,34 ммоль) и нагревали в течение 16 ч при 120°С (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь разбавляли EtOAc (200 мл), промывали водой (1×100 мл), солевым раствором (1×100 мл). Органический слой отделяли, сушили над Na_2SO_4 , летучие компоненты выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного 3-хлор-N-(3-метилоксетан-3-ил)-4-пиперазин-1-ил-бензамида (900 мг), который использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

XX-MC (m/z): 310,34 [M+H]⁺.

Стадия 3.

К перемешиваемому раствору 3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (200 мг, 0,917 ммоль) в ДМФА (5 мл) добавляли при комнатной температуре 3-хлор-N-(3-метилоксетан-3-ил)-4-пиперазин-1-ил-бензамид (425 мг, 1,37 ммоль), T3P (0,58 мл, 1,83 ммоль, 50% раствор в ДМФА) и DIPEA (0,5 мл, 2,75 ммоль) и перемешивали в течение 18 ч (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь разбавляли EtOAc (100 мл), промывали водой (1×100 мл), солевым раствором (1×100 мл). Органический слой отделяли, сушили над Na_2SO_4 , летучие компоненты выпаривали при пониженном давлении с получением желаемого неочищенного соединения, которое очищали путем препаративной BЭЖХ с получением 3-хлор-N-(3-метилоксетан-3-ил)-4-[4-[3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]бензамида (100 мг, 21%) в виде белого твердого вещества.

 1 Н ЯМР [300 МГц, ДМСО-d₆] δ 12.30 (уш. s, 1H), 8.86 (уш. s, 1H), 8.08 (dd, J=8.1, 1.2 Гц, 1H), 7.92 (d, J=1.8 Гц, 1H), 7.81-7.73 (m, 2H), 7.57 (d, J=7.8 Гц, 1H), 7.47-7.42 (m, 1H), 7.19 (d, J=8.4 Гц, 1H), 4.69 (d,

J=6.0 Гц, 2H), 4.36 (d, J=6.3 Гц, 2H), 3.70 (уш. s, 2H), 3.62 (уш. s, 2H), 3.08 (уш. s, 2H), 2.98 (уш. s, 2H), 2.90 (s, 4H), 1.58 (s, 3H).

XX-MC (m/z): 510,69 [M+H]⁺.

Пример 8. Синтез 2-[3-оксо-3-(4-фенил-1-пиперидил)пропил]-3Н-хиназолин-4-она. Сталия 1.

В высушенную в сушильном шкафу двугорлую круглодонную колбу объемом 100 мл вносили магниевые стружки (600 мг, 25 ммоль) и сухой ТГФ (5 мл) при комнатной температуре в атмосфере аргона. К данной смеси добавляли иод (20 мг), смесь нагревали до 70°C при интенсивном перемешивании и добавляли раствор бромбензола (1,57 г. 10 ммоль) в сухом ТГФ (5 мл), поддерживая температуру при 70°С, и реакцию продолжали в течение 1 ч в атмосфере аргона. Температуру реакционной смеси доводили до комнатной температуры и смесь добавляли по каплям к предварительно охлажденному (-50°C) раствору трет-бутил 4-оксопиперидин-1-карбоксилата (1 г, 5,0 ммоль) в сухом ТГФ (5 мл) в атмосфере аргона. Реакционную смесь оставляли нагреваться до комнатной температуры, перемешивали в течение 1 ч (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано), гасили насыщенным водным раствором NH₄Cl (10 мл) и экстрагировали EtOAc (2×50 мл). Объединенные органические экстракты промывали водой (10 мл), солевым раствором (25 мл) и сушили над безводным №25О₄. Летучие компоненты удаляли при пониженном давлении, полученный неочищенный продукт переносили в 18%-ный водный раствор HCl (15 мл) и нагревали в течение 3 ч при 100°C (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Растворитель удаляли при пониженном давлении и остаток промывали Et₂O (20 мл) и EtOAc (20 мл) с получением 4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина гидрохлорида (700 мг, 71%) в виде гигроскопичного желтоватого твердого вещества.

ЖХ-МС (m/z): 160,3 [M+H]⁺.

Стадия 2.

К перемешиваемому раствору 4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина гидрохлорида (300 мг, 1,53 ммоль) в МеОН (10 мл) добавляли при комнатной температуре в атмосфере аргона 10% Pd-C (100 мг). Данную реакционную смесь продували H₂ (3 раза) и перемешивали в атмосфере H₂ (баллон) в течение 4 ч. После завершения реакции (согласно ЖХ-МС-анализу) реакционную смесь фильтровали через тонкую подушку диатомовой земли (Celite) и промывали МеОН (5 мл). Данный фильтрат концентрировали при пониженном давлении и остаток промывали сухим диэтиловым эфиром (2×5 мл) с получением 4-фенилпиперидина гидрохлорида (300 мг, 99%) в виде гигроскопичного желтоватого твердого вещества.

ЖХ-МС (m/z): 162,3 [M+H]⁺. Стадия 3.

К перемешиваемому раствору 3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (200 мг, 0,917 ммоль) и 4-фенилпиперидина гидрохлорида (217 мг, 1,1 ммоль) в сухом ДМФА (1,5 мл) добавляли при комнатной температуре в атмосфере аргона EDC·HCl (264 мг, 1,375 ммоль), HOBt (187 мг, 1,38 ммоль) и Na₂CO₃ (292 мг, 2,75 ммоль). Данную реакционную смесь перемешивали в течение 18 ч при комнатной температуре (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано), гасили путем добавления охлажденной до 0°С воды (15 мл) и перемешивали в течение 30 мин. Осадок собирали путем фильтрования, полученное твердое вещество промывали водой (10 мл) и сушили под вакуумом. Данный неочищенный продукт очищали путем колоночной хроматографии (100-200 силика-гель, 25 г, 5% МеОН-ДХМ) с получением 2-[3-оксо-3-(4-фенил-1-пиперидил)пропил]-3H-хиназолин-4-

она (30 мг, 25%) в виде желтоватого твердого вещества.

 1 H ЯМР [300 М Γ ц, ДМСО-d₆] δ 12.21 (s, 1H), 8.08 (d, J=6.6 Γ ц, 1H), 7.79-7.73 (m, 1H), 7.57-7.52 (m, 1H), 7.48-7.43 (m, 1H), 7.38-7.22 (m, 5H), 4.51 (d, J=12.6 Γ ц, 1H), 4.07 (d, J=13.8 Γ ц, 1H), 3.14 (t, J=12.6 Γ ц, 4H), 2.94-2.81 (m, 3H), 2.64-2.57 (m, 1H), 1.84-1.73 (m, 1H), 1.66-1.62 (m, 1 H), 1.42-1.33 (m, 1H).

WX-MC (m/z): 362,5 [M+H]⁺.

Пример 9. Синтез 2-[3-оксо-3-(4-фенилпиперазин-1-ил)пропил]-3H-хиназолин-4-она. Стадия 1.

К перемешиваемому раствору 2-аминобензамида (5 г, 36,76 ммоль) в AcOH (уксусной кислоте) (10 мл) добавляли при комнатной температуре раствор янтарного ангидрида (3,67 г, 36,76 ммоль) в AcOH (10 мл). Данную реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч при комнатной температуре (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано), разбавляли холодной водой (100 мл) и перемешивали в течение 15 мин. Осадок собирали путем фильтрования, промывали холодной водой (30 мл) и сушили под вакуумом с получением 4-(2-карбамоиланилино)-4-оксо-бутановой кислоты (8 г, 92%) в виде белого твердого вещества.

XX-MC (m/z): 237,4 [M+H]⁺.

Стадия 2.

Перемешиваемую суспензию 4-(2-карбамоиланилино)-4-оксо-бутановой кислоты (8 г, 33,86 ммоль) и NaOAc (2,78 г, 33,86 ммоль) в Ac_2O (10 мл) нагревали в течение 1 ч при $120^{\circ}C$ (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Температуру реакционной смеси доводили до комнатной температуры, смесь гасили водой (100 мл) и медленно добавляли 1 н. раствор NaOH до pH 10. Полученную смесь промывали EtOAc (30 мл), водный слой отделяли и подкисляли до pH 5 путем добавления AcOH, перемешивали в течение 1 ч и фильтровали. Твердое вещество промывали гексанами (3×20 мл) и сушили под вакуумом с получением 3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (5,0 г, 68%), которую использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

XX-MC (m/z): 219,3 [M+H]⁺.

Стадия 3.

К перемешиваемому раствору 3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (100 мг, 0,458 ммоль) и 1-фенилпиперазина (90 мг, 0,55 ммоль) в сухом ДМФА (1,5 мл) добавляли при комнатной температуре в атмосфере аргона EDC·HCl (132 мг, 0,687 ммоль), HOBt (93 мг, 0,688 ммоль) и Na₂CO₃ (146 мг, 1,37 ммоль). Данную реакционную смесь перемешивали в течение 18 ч при комнатной температуре в атмосфере аргона (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано), гасили путем добавления охлажденной до 0°C воды (15 мл) и перемешивали в течение 30 мин. Осадок собирали путем фильтрования, промывали водой (10 мл) и сушили под вакуумом. Полученный неочищенный продукт очищали путем колоночной хроматографии (100-200 силикагель, 50 г, 5% МеОН-ДХМ) с выходом 2-[3-оксо-3-(4-фенилпиперазин-1-ил)пропил]-3H-хиназолин-4-она (33 мг, 20%) в виде желтоватого твердого вещества.

 1 H ЯМР [300 М Γ ц, ДМСО-d₆] δ 12.21 (s, 1H), 8.07 (dd, J=1.2, 8.1 Γ ц, 1H), 7.77-7.71 (m, 1H), 7.54 (d, J=7.8 Γ ц, 1H), 7.47-7.42 (m, 1H), 7.23 (t, J=7.5 Γ ц, 2H), 6.92 (d, J=8.1 Γ ц, 2 H), 6.81 (t, J=7.2 Γ ц, 1H), 3.67-3.57 (m, 4H), 3.20-3.06 (m, 4H), 2.89 (s, 4H).

ЖХ-МС (m/z): 363,5 [M+H]⁺.

Пример 10. Синтез 2-[3-[4-(2-хлорфенил)пиперазин-1-ил]-3-оксо-пропил]-3Н-хиназолин-4-она. Стадия 1.

К перемешиваемому раствору 1-хлор-2-иод-бензола (140 мг, 0,590 ммоль) и трет-бутил пиперазин-1-карбоксилата (100 мг, 0,537 ммоль) в сухом толуоле (2 мл) добавляли при комнатной температуре в атмосфере аргона хапtрhos (34 мг, 0,0590 ммоль), $Pd_2(dba)_3$ (24 мг, 0,0262 ммоль) и Cs_2CO_3 (261 мг, 0,80 ммоль). Полученную смесь нагревали в течение 30 мин при $100^{\circ}C$ в микроволновой печи (СЕМ) (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Растворитель выпаривали при пониженном давлении, остаток разбавляли водой (20 мл) и экстрагировали EtOAc (3×20 мл). Объединенные органические экстракты промывали солевым раствором (20 мл), сушили над безводным Na_2SO_4 и концентрировали под вакуумом. Остаток очищали путем колоночной хроматографии (100-200 силикагель, 10 г, 5% EtOAc-гексан) с получением трет-бутил 4-(2-хлорфенил)пиперазин-1-карбоксилата (100 мг, 63%) в виде желтоватого твердого вещества.

 1 H ЯМР [300 М Γ ц, CDCl₃] δ 7.37 (dd, J=7.8, 1.2 Γ ц, 1H), 7.22 (td, J=7.8, 1.2 Γ ц, 1H), 7.02-6.96 (m, 2H), 3.60 (t, J=5.1 Γ ц, 4H), 2.99 (t, J=5.1 Γ ц, 4H), 1.48 (s, 9H).

Стадия 2.

К перемешиваемому раствору трет-бутил 4-(2-хлорфенил)пиперазин-1-карбоксилата (250 мг, 0,844 ммоль) в 1,4-диоксане (2 мл) добавляли по каплям при 0°С 4 н. НСІ в 1,4-диоксане (0,9 мл, 3,60 ммоль). Данную реакционную смесь оставляли нагреваться до комнатной температуры и перемешивали в течение 4 ч (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Летучие компоненты удаляли при пониженном давлении с получением неочищенного соединения, которое промывали диэтиловым эфиром (2×20 мл) и сушили в условиях глубокого вакуума с получением 1-(2-хлорфенил)пиперазина гидрохлорида (165 мг, 84%) в виде белого твердого вещества.

Стадия 3.

К перемешиваемому раствору 1-(2-хлорфенил)пиперазина гидрохлорида (119 мг, 0,510 ммоль) и 3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (111 мг, 0,509 ммоль) в сухом ДМФА (2 мл) добавляли при комнатной температуре EDC·HCl (98 мг, 0,511 ммоль), HOBt (69 мг, 0,510 ммоль) и DIPEA (0,18 мл, 1,03 ммоль) и перемешивали в течение 3 ч (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь гасили холодной водой (20 мл) и перемешивали в течение 15 мин. Образовавшийся осадок собирали путем фильтрования и твердое вещество промывали Et2O (2×5 мл) с получением 2-[3-[4-(2-хлорфенил)пиперазин-1-ил]-3-оксо-пропил]-3H-хиназолин-4-она (90 мг, 44%) в виде белого твердого вещества.

 1 H ЯМР [300 М Γ ц, ДМСО-d₆] δ 12.20 (s, 1H), 8.08 (dd, J=7.8, 1.2 Γ ц, 1H), 7.76-7.73 (m, 1H), 7.57 (d, J=8.1 Γ ц, 1H), 7.48-7.41 (m, 2H), 7.31-7.28 (m, 1H), 7.15-7.04 (m, 2H), 3.68 (s, 2H), 3.61 (s, 2H), 3.00 (s, 4H), 2.89 (s, 4H).

XX-MC (m/z): 397,30 [M+H]⁺.

Пример 11. Синтез 6-[4-[3-(4-оксо-3Н-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила.

Стадия 1.

$$_{\text{CI}}$$
 N-Вос-пиперазин, $_{\text{CN}}$ К $_{2}\text{CO}_{3}$, DMA, $_{60}^{\circ}\text{C}$, $_{0}^{\circ}\text{C}$ Восм $_{0}^{\circ}$ Восм $_{0}^{\circ}$ Восм $_{0}^{\circ}$ $_{0}^{\circ}$

К перемешиваемому раствору 6-хлорпиридин-3-карбонитрила (2 г, 14,43 ммоль) в DMA (20 мл) до-

бавляли при комнатной температуре в атмосфере аргона K_2CO_3 (3,4 г, 24,63 ммоль), N-Вос-пиперазин (2,7 г, 14,50 ммоль) и перемешивали в течение 3 ч. Затем реакционную смесь нагревали в течение 3 ч при 60°С (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано) и вливали в ледяную воду (100 мл), выпавшее при этом в осадок твердое вещество собирали путем фильтрования, промывали Et_2O (3×10 мл), пентаном (3×10 мл) и сушили с получением трет-бутил 4-(5-циано-2-пиридил)пиперазин-1-карбоксилата (3 г, 73%), который использовали без дополнительной очистки.

XX-MC (m/z): 289,3 [M+H]⁺.

Стадия 2.

К перемешиваемому раствору трет-бутил 4-(5-циано-2-пиридил)пиперазин-1-карбоксилата (0,5 г, 1,736 ммоль) в ДХМ добавляли по каплям 4 н. НСІ в диоксане (0,5 мл) и перемешивали в течение 4 ч при комнатной температуре в атмосфере аргона (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении, остаток промывали Et_2O (2×5 мл), ДХМ (2×5 мл), пентаном (2×5 мл) и сушили под вакуумом с получением 6-пиперазин-1-илпиридин-3-карбонитрила гидрохлорида (0,3 г, выход: 93%), который использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

 1 Н ЯМР [300 МГц, ДМСО-d₆] δ 9.58 (уш. s, 2H), 8.54 (d, J=2.8 Гц, 1H), 7.91-7.33 (dd, J=3.2, 12.4 Гц, 1H), 7.02 (d, J=12.0 Гц, 1H), 3.91 (t, J=6.8 Гц, 4H), 3.14 (уш. s, 4H).

Стадия 3.

К перемешиваемому раствору 6-пиперазин-1-илпиридин-3-карбонитрила гидрохлорида $(0,2\ \Gamma,0,974\ \text{ммоль})$ и 3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты $(0,2\ \Gamma,0,913\ \text{ммоль})$ в ДМФА $(2\ \text{мл})$ добавляли при комнатной температуре EDC·HCl $(0,35\ \Gamma,1,83\ \text{ммоль})$, HOBt $(0,24\ \Gamma,1,83\ \text{ммоль})$ и DIPEA $(0,8\ \text{мл},4,59\ \text{ммоль})$ и перемешивали в течение 8 ч (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь вливали в воду, охлажденную до 0°C $(30\ \text{мл})$, и перемешивали в течение 15 мин, выпавшее при этом в осадок твердое вещество собирали путем фильтрования и очищали путем колоночной хроматографии $(100\text{-}200\ \text{силикагель},10\ \Gamma,5\%\ \text{MeOH}$ в ДХМ) с получением (6-[4-[3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила $(0,025\ \Gamma,20\%)$ в виде белого твердого вещества.

 1 H ЯМР [300 МГц, ДМСО-d₆] δ 12.02 (s, 1H), 8.51 (d, J=3.2 Γц, 1H), 8.08-8.05 (dd, J=1.6, 10.4 Γц, 1H), 7.90-7.86 (dd, J=3.2, 12.0 Γц, 1H), 7.77-7.71 (m, 1H), 7.54 (d, J=10.4 Γц, 1H), 7.47-7.41 (m, 1H), 6.94 (d, J=12.0 Γц, 1H), 3.77-3.75 (m, 2H), 3.64 (d, J=4.8 Γц, 4H), 3.57-3.56 (m, 2H), 2.89 (s, 4H).

XX-MC (m/z): 389,61 [M+H]⁺.

Пример 12. Синтез 6-[4-[3-(4-оксо-3Н-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбоксамида.

$$H_2SO_4$$
, Толуол $RO^{\circ}C$, 5 ч $RO^{\circ}C$, 5 ч $RO^{\circ}C$, 5 ч $RO^{\circ}C$, 5 ч $RO^{\circ}C$

К перемешиваемому раствору 6-[4-[3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила (100 мг, 0,257 ммоль) в толуоле (1 мл) добавляли при комнатной температуре в атмосфере аргона $\rm H_2SO_4$ (127 мг, 1,285 ммоль) и нагревали в течение 5 ч при 80°С (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и подвергают дистилляции с толуолом (3×5 мл), подщелачивали до рН 9 путем добавления 1 н. раствора NаOH, экстрагировали с использованием 10% МеOH-ДХМ (3×10 мл), сушили над $\rm Na_2SO_4$ и концентрировали при пониженном давлении, остаток очищали путем колоночной хроматографии (100-200 силикагель, 15 г, 10% МеOH в ДХМ) с получением 6-[4-[3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбоксамида (0,025 г, 20%) в виде белого

твердого вещества.

 1 Н ЯМР [300 МГц, ДМСО-d₆] δ 12.02 (s, 1H), 8.63 (d, J=3.2 Гц, 1H), 8.08-8.05 (dd, J=1.6,10.4 Гц, 1H), 8.00-7.96 (dd, J=3.2,12.0 Гц, 1H), 7.79-7.71 (m, 2H), 7.54 (d, J=10.8 Гц, 1H), 7.44 (t, J=10.4 Гц, 1H), 7.17 (s, 1H), 6.86 (d, J=12 Гц, 1H), 3.69-3.64 (m, 4H), 3.56 (s, 4H), 2.89 (s, 4H).

XX-MC (m/z): 407,5 [M+H]⁺.

Пример 13. Синтез 6-[4-[3-(5-метил-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила.

Стадия 1.

К перемешиваемому раствору 2-амино-6-метил-бензойной кислоты $(0,5\ r,\ 3,31\ \text{ммоль})$ в ДМФА $(5\ \text{мл})$ при комнатной температуре добавляли CDI $(0,53\ r,\ 3,31\ \text{ммоль})$. Данную реакционную смесь нагревали в течение 2 ч при 80° С, затем к реакционной смеси осторожно добавляли водный раствор аммиака $(25\%,\ 10\ \text{мл})$, поддерживая температуру при 80° С, и реакцию продолжали в течение 4 ч (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Температуру реакционной смеси медленно доводили до комнатной температуры, смесь разбавляли водой $(30\ \text{мл})$ и экстрагировали EtOAc $(3\times100\ \text{мл})$. Объединенные органические экстракты промывали водой $(2\times50\ \text{мл})$, солевым раствором $(40\ \text{мл})$, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении, полученный неочищенный остаток промывали Et_2O $(10\ \text{мл})$ и сушили в условиях глубокого вакуума с получением 2-амино-6-метил-бензамида $(200\ \text{мг},\ 40\%)$ в виде белого твердого вещества.

XX-MC (ESI+): m/z: 151,09 [M+H]⁺.

Стадия 2.

К перемешиваемому раствору 2-амино-6-метил-бензамида (0,2 г, 1,33 ммоль) в АсОН (3 мл) добавляли при комнатной температуре янтарный ангидрид и перемешивали в течение 4 ч (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь вливали в воду, охлажденную до 0°С (5 мл), и перемешивали в течение 30 мин, при этом выпадало в осадок твердое вещество. Данное твердое вещество собирали путем фильтрования, промывали водой (20 мл), холодным ацетоном (5 мл) и сушили в условиях глубокого вакуума с получением 4-(2-карбамоил-3-метиланилино)-4-оксо-бутановой кислоты (250 мг, 75%) в виде белого твердого вещества.

WX-MC (ESI+) (m/z): 251,50 [M+H]⁺.

Стадия 3.

4-(2-Карбамоил-3-метил-анилино)-4-оксо-бутановую кислоту (0,25 г, 1,0 ммоль) добавляли в 2 н. водный раствор NaOH (5 мл) и перемешивали в течение 2 ч при 100°С (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь медленно охлаждали до 0°С и подкисляли до рН 3-4 2 н. водным раствором HCl, при этом выпадало в осадок белое твердое вещество. Данную суспензию перемешивали в течение 30 мин при 0°С, фильтровали, промывали водой (20 мл), холодным ацетоном (2 мл) и сушили в условиях глубокого вакуума с получением 3-(5-метил-4-оксо-3Н-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (150 мг, 64%) в виде желтоватого твердого вещества.

XX-MC (ESI+) (m/z): 233,49 [M+H]⁺.

Стадия 4.

К перемешиваемому раствору 3-(5-метил-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (150 мг, 0,65 ммоль) и 6-пиперазин-1-илпиридин-3-карбонитрила гидрохлорида (145 мг, 0,77 ммоль) в ДМФА (2 мл) добавляли при комнатной температуре DIPEA (0,3 мл, 1,94 ммоль) и ТЗР (50% раствор в EtOAc, 0,4 мл, 1,29 ммоль) и перемешивали в течение 8 ч (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь гасили водой (10 мл) и экстрагировали EtOAc (3×40 мл). Объединенные органические экстракты промывали холодной водой (3×30 мл), солевым раствором (20 мл), сушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении, полученный неочищенный остаток очищали путем колоночной хроматографии (100-200 силикагель, 10 г, 5% MeOH-ДХМ) с выходом 6-[4-[3-(5-метил-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила (60 мг, 27%) в виде белого твердого вещества.

 1 H ЯМР [300 М Γ ц, ДМСО-d₆] δ 11.98 (уш. s, 1H), 8.51 (d, J=2.1 Γ ц, 1H), 7.88 (dd, J=9.0, 2.1 Γ ц 1H), 7.55 (t, J=7.8 Γ ц, 1H), 7.34 (d, J=7.8 Γ ц, 1H), 7.16 (d, J=7.2 Γ ц, 1H), 6.93 (d, J=9.0 Γ ц, 1H), 3.77-3.76 (m, 2H), 3.64-3.62 (m, 4H), 3.57-3.55 (m, 2H), 2.88-2.83 (m, 4H), 2.75 (s, 3H).

XX-MC (ESI+) (m/z): 403,66 [M+H]⁺.

Пример 14. Синтез 6-[4-[3-(6-метил-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила.

Стадия 1.

К перемешиваемому раствору 2-амино-5-метил-бензойной кислоты (100 мг, 0,66 ммоль) в ТГФ (2 мл) добавляли при комнатной температуре EDC·HCl (189 мг, 0,99 ммоль), HOBt·NH $_3$ (149 мг, 0,99 ммоль) и DIPEA (0,35 мл, 1,99 ммоль) и перемешивали в течение 1 ч (ТСХ-анализ указывал на полное превращение исходного вещества). Затем реакционную смесь разбавляли EtOAc (1×50 мл), промывали водой (1×20 мл) и солевым раствором (1×20 мл). Органический слой отделяли, сушили над Na $_2$ SO $_4$, летучие компоненты выпаривали при пониженном давлении, полученный неочищенный остаток очищали путем хроматографии на Combiflash R $_f$ 200 Teledyne ISCO (100% EtOAc, картридж 12 г) с выходом 2-амино-5-метил-бензамида (70 мг, 70%) в виде белого твердого вещества.

XX-MC (ESI+) (m/z): 151,13 [M+H]⁺.

Стадия 2.

$$H_2N$$
 H_2N H_2N

К перемешиваемому раствору 2-амино-5-метил-бензамида (600 мг, 4,0 ммоль) в АсОН (6 мл) добавляли при комнатной температуре янтарный ангидрид (480 мг, 4,80 ммоль) и перемешивали в течение 2 ч (TCX-анализ указывал на полное превращение исходного вещества). Затем реакционную смесь разбавляли охлажденной до 0° С водой ($1 \times 50 \text{ мл}$), перемешивали в течение 30 мин, выпавшее при этом в осадок твердое вещество собирали путем фильтрования, промывали водой ($1 \times 50 \text{ мл}$) и затем холодным ацетоном ($1 \times 20 \text{ мл}$) и сушили в условиях глубокого вакуума с получением 4-(2-карбамоил-4-метил-анилино)-4-оксо-бутановой кислоты (800 мг, 80%) в виде белого твердого вещества.

XX-MC (ESI+) (m/z): 273,56 [M+Na]⁺.

Стадия 3.

Перемешиваемый раствор 4-(2-карбамоил-4-метил-анилино)-4-оксо-бутановой кислоты (480 мг, 2,07 ммоль) в 2 н. водном растворе NaOH (15 мл) нагревали в течение 4 ч при 100°С (ТСХ-анализ указывал на полное превращение соединения 4). Затем реакционную смесь охлаждали до 0°С, подкисляли до рН 5 путем добавления АсОН, при этом выпадало в осадок твердое вещество. Данное твердое вещество собирали путем фильтрования, промывали водой (1×80 мл) и затем холодным ацетоном (1×20 мл) и сущили в условиях глубокого вакуума с получением 3-(6-метил-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (380 мг, 85%) в виде желтоватого твердого вещества.

XX-MC (ESI+) (m/z): 233,45 [M+H]⁺.

Стадия 4.

К перемешиваемому раствору 3-(6-метил-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты ($250\,\mathrm{mr}$, $1,077\,\mathrm{mmonb}$) в ДМФА ($5\,\mathrm{mn}$) при комнатной температуре добавляли 6-пиперазин-1-илпиридин-3-карбонитрила гидрохлорид ($289\,\mathrm{mr}$, $1,293\,\mathrm{mmonb}$), T3P ($50\%\,\mathrm{s}$ ДМФА, $0,68\,\mathrm{mn}$, $2,15\,\mathrm{mmonb}$) и DIPEA ($0,57\,\mathrm{mn}$, $3,23\,\mathrm{mmonb}$) и перемешивали в течение $6\,\mathrm{u}$ (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь разбавляли водой ($1\times80\,\mathrm{mn}$), перемешивали в течение $5\,\mathrm{muh}$, выпавшее при этом в осадок твердое вещество собирали путем фильтрования. Данное твердое вещество промывали водой ($1\times70\,\mathrm{mn}$) и сушили в условиях глубокого вакуума с получением 6-[4-[3-(6-метил-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила ($170\,\mathrm{mr}$, 39%) в виде желтоватого твердого вещества.

 1 Н ЯМР [300 МГц, ДМСО-d₆] δ 12.10 (уш. s, 1H), 8.51 (s, 1H), 7.90-7.87 (m, 2H), 7.56 (d, J=8.1 Гц, 1H), 7.44 (d, J=8.4 Гц, 1H), 6.94 (d, J=9.3 Гц, 1H), 3.79-3.72 (m, 2H), 3.68-3.62 (m, 4H), 3.59-3.54 (m, 2H), 2.87 (s, 4H), 2.41 (s, 3H).

XX-MC (ESI+) (m/z): 403,66 [M+H]⁺.

Пример 15. Синтез 6-[4-[3-(7-метил-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила.

Стадия 1.

К перемешиваемому раствору 2-амино-4-метил-бензойной кислоты (300 мг, 1,99 ммоль) в ТГФ (6 мл) добавляли при комнатной температуре EDC·HCl (569 мг, 2,98 ммоль), HOBt·NH₃ (447 мг, 2,98 ммоль) и DIPEA (1,06 мл, 5,96 ммоль) и перемешивали в течение 1 ч (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь разбавляли водой (30 мл), экстрагировали EtOAc (3×25 мл). Объединенные органические экстракты сушили над Na₂SO₄, концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного желаемого соединения, которое очищали путем колоночной флэш-хроматографии (100-200 силикагель, 5 г, 50% EtOAc-гексан) с выходом 2-амино-4-метил-бензамида (190 мг, 64%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР [300 МГц, ДМСО-d₆] δ 7.62 (уш. s, 1H), 7.42 (d, J=8.1 Гц, 1H), 6.93 (уш. s, 1H), 6.54-6.46 (m, 3H), 6.30- 6.27 (m, 1H), 2.15 (s, 3H).

Стадия 2.

К перемешиваемому раствору 2-амино-4-метил-бензамида (190 мг, 1,27 ммоль) в АсОН (5 мл) добавляли при комнатной температуре янтарный ангидрид (151 мг, 1,52 ммоль) и перемешивали в течение 2 ч (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь разбавляли водой (20 мл), выпавшее в осадок твердое вещество собирали путем фильтрования и сушили под вакуумом с получением желаемой 4-(2-карбамоил-5-метил-анилино)-4-оксо-бутановой кислоты (250 мг, 89%), которую использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

 1 Н ЯМР [300 МГц, ДМСО-d₆] δ 12.37 (уш. s, 1H), 11.88 (s, 1H), 8.33 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 7.70 (d, J=8.1 Гц, 1H), 7.64 (s, 1H), 6.91 (d, J=7.8 Гц, 1H), 2.53-2.50 (m, 4H), 2.31 (s, 3H).

WX-MC (m/z): 273,50 [M+Na]⁺.

Стадия 3.

4-(2-Карбамоил-5-метил-анилино)-4-оксо-бутановую кислоту (250 мг, 1 ммоль) добавляли в 2 н. раствор NaOH (10 мл) и подвергали дефлегмации в течение 3 ч (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано), охлаждали до 0°С и подкисляли до рН 4 путем добавления АсОН, при этом выпадало в осадок твердое вещество. Данное твердое вещество собирали путем фильтрования и сушили под вакуумом с получением 3-(7-метил-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (220 мг, 95%), которую использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

WX-MC (m/z): 233,45 [M+H]⁺.

Стадия 4.

К перемешиваемому раствору 3-(7-метил-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (150 мг, 0,65 ммоль) и 6-пиперазин-1-илпиридин-3-карбонитрила гидрохлорида (173 мг, 0,78 ммоль) в ДМФА (4 мл) добавляли при комнатной температуре EDC·HCl (185 мг, 0,97 ммоль), HOBt (130 мг, 0,97 ммоль) и DIPEA (0,46 мл, 2,58 ммоль) и перемешивали в течение 4 ч (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь вливали в холодную воду (25 мл), перемешивали в течение 10 мин, при этом выпадало в осадок твердое вещество. Данное твердое вещество собирали путем фильтрования, сушили под вакуумом, промывали Et_2O (20 мл) и гексаном (20 мл) с получением 6-[4-[3-(7-метил-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила (75 мг, 29%) в виде желтоватого твердого вещества.

¹H ЯМР [300 МГц, ДМСО-d₆] δ 12.1 (s, 1H), 8.52 (s, 1H), 7.96-7.87 (m, 2H), 7.33 (s, 1H), 7.26 (d, J=8.1 Гц, 1H), 6.94 (d, J=9.3 Гц, 1H), 3.78 (уш. s, 2H), 3.65 (уш. s, 4H), 3.57 (уш. s, 2H), 2.87 (уш. s, 4H), 2.39 (s, 3H). ЖХ-МС (m/z): 403,69 [M+H]⁺.

Пример 16. Синтез 6-[4-[3-(8-метил-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила.

Стадия 1.

К перемешиваемому раствору 2-амино-3-метил-бензойной кислоты $(0,5\ r,\ 3,31\ \text{ммоль})$ в ТГФ $(15\ \text{мл})$ добавляли при комнатной температуре EDC·HCl $(0,948\ r,\ 4,97\ \text{ммоль})$, HOBt·NH $_3$ $(0,745\ r,\ 4,97\ \text{ммоль})$ и DIPEA $(1,76\ \text{мл},\ 9,93\ \text{ммоль})$ и перемешивали в течение $6\ \text{ч}$ (TCX-анализ указывал на полное превращение исходного вещества). Затем реакционную смесь разбавляли водой $(30\ \text{мл})$ и экстрагировали EtOAc $(3\times100\ \text{мл})$. Объединенные органические экстракты промывали водой $(2\times50\ \text{мл})$, солевым раствором $(40\ \text{мл})$, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении с получением в остатке неочищенного вещества. Данное неочищенное вещество очищали путем колоночной хроматографии $(100\text{-}200\ \text{силикагель},\ 20\ \text{г},\ 50\%$ EtOAc-гексан) с получением 2-амино-3-метил-бензамида $(0,3\ \text{г},\ 60\%)$ в виде белого твердого вещества.

WX-MC (m/z): 151,09 [M+H]⁺.

Стадия 2.

К перемешиваемому раствору 2-амино-3-метил-бензамида (0,3 г, 2,0 ммоль) в АсОН (3 мл) добавляли при комнатной температуре янтарный ангидрид и перемешивали в течение 4 ч (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь вливали в

воду, охлажденную до 0°С (10 мл), и перемешивали в течение 30 мин, при этом выпадало в осадок твердое вещество. Данное твердое вещество собирали путем фильтрования, промывали водой (20 мл), холодным ацетоном (5 мл) и сушили в условиях глубокого вакуума с получением 4-(2-карбамоил-6-метиланилино)-4-оксо-бутановой кислоты (280 мг, 56%) в виде белого твердого вещества.

XX-MC (m/z): 251,48 [M+H]⁺.

Стадия 3.

4-(2-Карбамоил-6-метил-анилино)-4-оксо-бутановую кислоту (0,28 г, 1,12 ммоль) в 2 н. водном растворе NaOH (5 мл) перемешивали в течение 2 ч при 100°С (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь охлаждали до 0°С и подкисляли до рН 3-4 2 н. водным раствором НСІ, при этом выпадало в осадок белое твердое вещество. Данную суспензию перемешивали в течение 30 мин при 0°С, фильтровали, промывали водой (20 мл), холодным ацетоном (5 мл) и сушили в условиях глубокого вакуума с получением 3-(8-метил-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (180 мг, 69%) в виде желтоватого твердого вещества.

ЖХ-МС (m/z): 233,45 $[M+H]^+$.

Стадия 4.

К перемешиваемому раствору 3-(8-метил-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (100 мг, 0,43 ммоль) и 6-пиперазин-1-илпиридин-3-карбонитрила гидрохлорида (97 мг, 0,52 ммоль) в ДМФА (3 мл) добавляли при комнатной температуре DIPEA (0,23 мл, 1,29 ммоль) и ТЗР (0,27 мл, 0,86 ммоль) и перемешивали в течение 3 ч (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь гасили водой (10 мл) и экстрагировали EtOAc (3×60 мл). Объединенные органические экстракты промывали холодной водой (3×30 мл), солевым раствором (20 мл), сушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении с получением в остатке неочищенного вещества. Данное неочищенное вещество перекристаллизовывали из ацетонитрила (5 мл) с получением 6-[4-[3-(8-метил-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила (60 мг, 34%) в виде белого твердого вещества.

 1 H ЯМР [300 МГц, ДМСО-d₆] δ 12.20 (уш. s, 1H), 8.51 (d, J=2.1 Гц, 1H), 7.92-7.86 (m, 2H), 7.60 (d, J=6.9 Γц, 1H), 7.31 (t, J=7.5 Γц, 1H), 6.93 (d, J=9.0 Γц, 1H), 3.77-3.75 (m, 2H), 3.66-3.65 (m, 4H), 3.59-3.57 (m, 2H), 2.90 (s, 4H), 2.46 (s, 3H).

XX-MC (m/z): 403,68 [M+H]⁺.

Пример 17. Синтез 6-[4-[3-(5-фтор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила.

К перемешиваемому раствору 3-(5-фтор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (250 мг, 1,054 ммоль) в ДМФА (5 мл) добавляли при комнатной температуре 6-пиперазин-1-илпиридин-3-карбонитрила гидрохлорид (283 мг, 1,265 ммоль), EDC·HCl (302 мг, 1,582 ммоль), HOBt (213 мг, 1,582 ммоль) и DIPEA (0,56 мл, 3,164 ммоль) и перемешивали в течение 7 ч (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь разбавляли водой (1×80 мл), перемешивали в течение 5 мин при комнатной температуре, выпавшее при этом в осадок твердое вещество собирали путем фильтрования, промывали водой (1×70 мл), сушили в условиях глубокого вакуума с получением 6-[4-[3-(5-фтор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила (120 мг, 23%) в виде бледно-желтого твердого вещества.

 1 H ЯМР [300 МГц, ДМСО-d₆] δ 12.20 (уш. s, 1H), 8.51 (d, J=2.1 Гц, 1H), 7.88 (dd, J=9.3, 2.4 Гц, 1H), 7.73-7.67 (m, 1H), 7.35 (d, J=8.1 Γц, 1H) 7.21-7.15 (m, 1H), 6.94 (d, J=9.3 Γц, 1H), 3.81-3.74 (m, 2H), 3.68-3.62 (m, 4H), 3.58-3.53 (m, 2H), 2.87 (s, 4H).

XX-MC (m/z): 407,60 [M+H]⁺.

Пример 18. Синтез 6-[4-[3-(6-фтор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила.

К перемешиваемому раствору 3-(6-фтор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты ($100\,\mathrm{mr}$, $0,42\,\mathrm{mmoлb}$) и 6-пиперазин-1-илпиридин-3-карбонитрила гидрохлорида ($95\,\mathrm{mr}$, $0,51\,\mathrm{mmoлb}$) в ДМФА ($2\,\mathrm{mn}$) добавляли при комнатной температуре DIPEA ($0,2\,\mathrm{mn}$, $1,27\,\mathrm{mmonb}$) и T3P ($0,3\,\mathrm{mn}$, $0,85\,\mathrm{mmonb}$) и перемешивали в течение $4\,\mathrm{u}$ (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь гасили водой ($10\,\mathrm{mn}$) и экстрагировали в EtOAc ($3\times40\,\mathrm{mn}$). Объединенные органические экстракты промывали холодной водой ($3\times30\,\mathrm{mn}$), солевым раствором ($20\,\mathrm{mn}$), сушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении с получением в остатке неочищенного вещества. Данное неочищенное вещество очищали путем колоночной хроматографии ($100-200\,\mathrm{cun}$ икагель, $10\,\mathrm{r}$, $5\%\,\mathrm{MeOH-ДXM}$) с выходом $6-[4-[3-(6-фтор-4-оксо-<math>3\mathrm{H-x}$ иназолин- $2-\mathrm{un}$)пропаноил]пиперазин- $1-\mathrm{un}$]пиридин- $3-\mathrm{kap}$ бонитрила ($60\,\mathrm{mr}$, 35%) в виде белого твердого вещества.

 1 Н ЯМР [400 МГц, ДМСО-d₆] δ 12.33 (уш. s, 1H), 8.51 (d, J=2.1 Гц, 1H), 7.88 (dd, J=9.0, 2.1 Гц, 1H), 7.74 (d, J=8.1 Гц, 1H), 7.64-7.62 (m, 2H), 6.93 (d, J=9.3 Гц, 1H), 3.77-3.56 (m, 8H), 2.88 (s, 4H).

ЖX-MC (m/z): 407,61 [M+1]⁺.

Пример 19. Синтез 6-[4-[3-(7-фтор-4-оксо-3Н-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила.

Стадия 1.

К перемешиваемому раствору 2-амино-4-фтор-бензойной кислоты (300 мг, 1,93 ммоль) в ТГФ (6 мл) добавляли при комнатной температуре EDC·HCl (553 мг, 2,90 ммоль), HOBt·NH $_3$ (435 мг, 2,90 ммоль), DIPEA (1,03 мл, 5,79 ммоль) и перемешивали в течение 1 ч (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь разбавляли водой (25 мл) и экстрагировали EtOAc (3×20 мл). Объединенные органические экстракты сушили над Na $_2$ SO $_4$, концентрировали при пониженном давлении, полученный неочищенный остаток очищали путем колоночной флэш-хроматографии (силикагель 100-200 меш, 5 г, 50% EtOAc-гексан) с выходом 2-амино-4-фторбензамида (195 мг, 65%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР [300 МГц, ДМСО-d₆] δ 7.71 (уш. s, 1H), 7.61-7.56 (m, 1H), 7.07 (уш. s, 1H), 6.89 (s, 2H), 6.42 (dd, J=2.7, 12.0 Гц, 1H), 6.30-6.23 (m, 1H).

Стадия 2.

К перемешиваемому раствору 2-амино-4-фтор-бензамида (195 мг, 1,26 ммоль) в АсОН (4 мл) добавляли при комнатной температуре янтарный ангидрид (151 мг, 1,51 ммоль) и перемешивали в течение 2 ч (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь разбавляли водой (20 мл), при этом выпадало в осадок твердое вещество. Данное твердое вещество собирали путем фильтрования, сушили под вакуумом с получением 4-(2-карбамоил-5-фтор-анилино)-4-оксо-бутановой кислоты (260 мг, 81%), которую использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

 1 Н ЯМР [300 МГц, ДМСО-d₆] δ 12.10 (s, 1H), 8.40-8.26 (m, 3H), 7.92-7.87 (m, 1H), 7.79 (уш. s, 1H), 7.00-6.93 (m, 1H), 2.56-2.49 (m, 4H).

Стадия 3.

Перемешиваемый раствор 4-(2-карбамоил-5-фтор-анилино)-4-оксо-бутановой кислоты (250 мг, 0,98 ммоль) в 2 н. NaOH (10 мл) подвергали дефлегмации в течение 3 ч (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь охлаждали до 0°С, подкисляли до рН 4 путем добавления АсОН, при этом выпадало в осадок твердое вещество. Данное твердое вещество собирали путем фильтрования и сушили под вакуумом с получением 3-(7-фтор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (210 мг, 90%), которую использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

XX-MC (m/z): 237,43 [M+H]⁺.

Стадия 4.

К перемешиваемому раствору 3-(7-фтор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (150 мг, 0,63 ммоль) и 6-пиперазин-1-илпиридин-3-карбонитрила гидрохлорида (174 мг, 0,76 ммоль) в ДМФА (4 мл) добавляли при комнатной температуре EDC·HCl (181 мг, 0,95 ммоль), HOBt (130 мг, 0,95 ммоль) и DIPEA (0,45 мл, 2,54 ммоль) и перемешивали в течение 4 ч (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь вливали в холодную воду (25 мл), при этом выпадало в осадок твердое вещество. Данное твердое вещество собирали путем фильтрования, сушили под вакуумом и промывали Et_2O (20 мл), гексаном (20 мл), пентаном (20 мл), EtOAc (15 мл) и снова сушили под вакуумом с получением 6-[4-[3-(7-фтор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила (110 мг, 43%) в виде желтоватого твердого вещества.

¹Н ЯМР [300 МГц, ДМСО-d₆] δ 12.30 (s, 1H), 8.51 (d, J=2.1 Гц, 1H), 8.15-8.10 (m, 1H), 7.88 (dd, J=2.4, 9.6 Гц, 1H), 7.33-7.27 (m, 2H), 6.94 (d, J=9.0 Гц, 1H), 3.80-3.73 (m, 2H), 3.69-3.61 (m, 4H), 3.59-3.53 (m, 2H), 2.89 (s, 4H).

XX-MC (m/z): 407,61 [M+H]⁺.

Пример 20. Синтез 6-[4-[3-(8-фтор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила.

Стадия 1.

К перемешиваемому раствору 2-амино-3-фтор-бензойной кислоты (400 мг, 2,57 ммоль) в ТГФ (10 мл) добавляли при комнатной температуре EDC·HCl (738 мг, 3,86 ммоль), HOBt·NH $_3$ (580 мг, 3,86 ммоль) и DIPEA (1,38 мл, 7,73 ммоль) и перемешивали в течение 4 ч (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь разбавляли водой (30 мл) и экстрагировали EtOAc (3×40 мл). Объединенные органические экстракты сушили над Na $_2$ SO $_4$, концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного желаемого соединения, которое очищали путем колоночной флэш-хроматографии (силикагель 100-200 меш, 5 г, 50% EtOAc-гексан) с выходом 2-амино-3-фтор-бензамида (250 мг, 63%) в виде белого твердого вещества.

WX-MC (m/z): 155,42 [M+H]⁺.

Стадия 2.

К перемешиваемому раствору 2-амино-3-фтор-бензамида (250 мг, 1,62 ммоль) в АсОН (5 мл) до-

бавляли при комнатной температуре янтарный ангидрид (389 мг, 3,89 ммоль) и перемешивали в течение 2 ч (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь разбавляли водой (20 мл), при этом выпадало в осадок твердое вещество. Данное твердое вещество собирали путем фильтрования и сушили под вакуумом с получением 4-(2-карбамоил-6-фтор-анилино)-4-оксо-бутановой кислоты (400 мг, 97%), которую использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

XX-MC (m/z): 255,42 [M+H]⁺.

Стадия 3.

4-(2-Карбамоил-6-фтор-анилино)-4-оксо-бутановую кислоту (400 мг, 1,57 ммоль) добавляли в 2 н. раствор NaOH (10 мл) и нагревали в течение 3 ч при 100°С (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). После завершения реакции реакционную смесь охлаждали до 0°С, подкисляли до рН 4 путем добавления AcOH, при этом выпадало в осадок твердое вещество. Данное твердое вещество собирали путем фильтрования и сушили под вакуумом с получением 3-(8-фтор-4-оксо-3Н-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (250 мг, 67%), которую использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

WX-MC (m/z): 237,39 [M+H]⁺.

Стадия 4.

К перемешиваемому раствору 3-(8-фтор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (150 мг, 0,63 ммоль) и 6-пиперазин-1-илпиридин-3-карбонитрила гидрохлорида (170 мг, 0,76 ммоль) в ДМФА (4 мл) добавляли при комнатной температуре ТЗР (0,3 мл, 0,95 ммоль) и DIPEA (0,45 мл, 2,54 ммоль) и перемешивали в течение 4 ч (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь вливали в холодную воду (25 мл), при этом выпадало в осадок твердое вещество. Данное твердое вещество собирали путем фильтрования, сушили под вакуумом, промывали гексаном (30 мл), хлороформом (30 мл) и снова сушили под вакуумом с получением 6-[4-[3-(8-фтор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила (80 мг, 23%) в виде желтоватого твердого вещества.

¹Н ЯМР [300 МГц, ДМСО-d₆] δ 8.51 (d,J=2.1 Гц, 1H), 7.90-7.87 (m, 2H), 7.65-7.59 (m, 1H), 7.46-7.39 (m, 1H), 6.93 (d, J=9.0 Гц, 1H), 3.77 (уш. s, 2H), 3.64 (уш. s, 4H), 3.57 (уш. s, 2H), 2.90 (s, 4H).

XX-MC (m/z): 407,61 [M+H]⁺.

Пример 21. Синтез 6-[4-[3-(4-оксо-3H-пиридо[3,2-d]пиримидин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила.

Стадия 1.

К перемешиваемому раствору 3-аминопиридин-2-карбоксамида (0,3 г, 2,19 ммоль) в АсОН (3 мл) добавляли при комнатной температуре янтарный ангидрид (0,26 г, 2,63 ммоль) и перемешивали в течение 4 ч (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь вливали в воду, охлажденную до 0°С (5 мл), и перемешивали в течение 30 мин, при этом выпадало в осадок твердое вещество. Данное твердое вещество собирали путем фильтрования, промывали водой (10 мл), холодным ацетоном (5 мл) и сушили в условиях глубокого вакуума с получением 4-[(2-карбамоил-3-пиридил)амино]-4-оксо-бутановой кислоты (320 мг, 61%), которую использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

XX-MC (m/z): 238,41 [M+H]⁺.

Стадия 2.

4-[(2-Карбамоил-3-пиридил)амино]-4-оксо-бутановую кислоту (300 мг, 1,27 ммоль) добавляли в 2 н. водный раствор NaOH (5 мл) и перемешивали в течение 2 ч при 100°С (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь охлаждали до 0°С и подкисляли до рН 3-4 2 н. водным раствором HCl, при этом выпадало в осадок белое твердое вещество. Реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин при 0°С. Твердое вещество собирали путем фильтрования, промывали водой (10 мл), холодным ацетоном (4 мл) и сушили в условиях глубокого вакуума с получением 3-(4-оксо-3H-пиридо[3,2-d]пиримидин-2-ил)пропановой кислоты (200 мг, 72%), которую использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

WX-MC (m/z): 220,46 [M+H]⁺.

Стадия 3.

К перемешиваемому раствору 3-(4-оксо-3H-пиридо[3,2-d]пиримидин-2-ил)пропановой кислоты (100 мг, 0,46 ммоль) и 6-пиперазин-1-илпиридин-3-карбонитрила гидрохлорида (104 мг, 0,55 ммоль) в ДМФА (3 мл) добавляли при комнатной температуре DIPEA (0,3 мл, 1,37 ммоль) и ТЗР (0,23 мл, 0,92 ммоль) и перемешивали в течение 4 ч (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь гасили водой (10 мл) и экстрагировали EtOAc (3×40 мл). Объединенные органические экстракты промывали холодной водой (3×20 мл), солевым раствором (20 мл), сушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении с получением в остатке неочищенного вещества. Данное неочищенное вещество очищали путем колоночной хроматографии (100-200 силикагель, 10 г, 5% MeOH-ДХМ) с выходом 6-[4-[3-(4-оксо-3H-пиридо[3,2-d]пиримидин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила (60 мг, 36%) в виде белого твердого вещества.

 1 H ЯМР [400 М Γ ц, ДМСО-d₆] δ 12.50 (уш. s, 1H), 8.71 (dd, J=4.0, 1.2 Γ ц, 1H), 8.50 (d, J=2.0 Γ ц, 1H), 7.95 (dd, J=8.4, 1.6 Γ ц, 1H), 7.88 (dd, J=9.2, 1.6 Γ ц, 1H), 7.73 (dd, J=8.0, 4.0 Γ ц, 1H), 6.93 (d, J=9.2 Γ ц, 1H), 3.77-3.75 (m, 2H), 3.66-3.63 (m, 4H), 3.57-3.55 (m, 2H), 2.90 (s, 4H).

WX-MC (m/z): 390,69 [M+H]⁺.

Пример 22. Синтез 6-[4-[3-(4-оксо-3H-пиридо[3,4-d]пиримидин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила.

Стадия 1.

К перемешиваемому раствору 3-аминопиридин-4-карбоксамида (300 мг, 2,18 ммоль) в АсОН (6 мл) добавляли при комнатной температуре янтарный ангидрид (262 мг, 2,62 ммоль) и перемешивали в течение 22 ч (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь разбавляли водой (20 мл), при этом выпадало в осадок твердое вещество. Данное твердое вещество собирали путем фильтрования и сушили под вакуумом с получением 4-[(4-карбамоил-3-пиридил)амино]-4-оксо-бутановой кислоты (430 мг, 83%), которую использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

WX-MC (m/z): 238,52 [M+H]⁺.

Стадия 2.

4-[(4-Карбамоил-3-пиридил)амино]-4-оксо-бутановую кислоту (430 мг, 1,81 ммоль) добавляли в 2 н.

раствор NaOH (8,6 мл) и подвергали дефлегмации в течение 4 ч (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). После завершения реакции реакционную смесь охлаждали до 0°C, подкисляли до рН 4 путем добавления AcOH, при этом выпадало в осадок твердое вещество. Данное твердое вещество собирали путем фильтрования и сушили под вакуумом с получением 3-(4-оксо-3H-пиридо[3,4-d]пиримидин-2-ил)пропановой кислоты (380 мг, 96%), которую использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

ЖХ-МС (m/z): 220,42 $[M+H]^+$

Стадия 3.

К перемешиваемому раствору 3-(4-оксо-3H-пиридо[3,4-d]пиримидин-2-ил)пропановой кислоты (200 мг, 0,91 ммоль) и 6-пиперазин-1-илпиридин-3-карбонитрила гидрохлорида (245 мг, 1,09 ммоль) в ДМФА (5 мл) добавляли при комнатной температуре T3P (0,87 мл, 1,36 ммоль), DIPEA (0,64 мл, 3,65 ммоль) и перемешивали в течение 4 ч (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь разбавляли (30 мл), экстрагировали EtOAc (3×15 мл). Объединенные органические экстракты сушили над Na_2SO_4 , концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного желаемого соединения, которое очищали путем колоночной хроматографии (силикагель 100-200 меш, 4 г, 5% MeOH-ДХМ) с выходом 6-[4-[3-(4-оксо-3H-пиридо[3,4-d]пиримидин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила (45 мг, 13%) в виде белого твердого вещества.

 1 Н ЯМР [400 МГц, ДМСО-d₆] δ 12.55 (s, 1H), 8.94 (s, 1H), 8.59 (d, J=4.8 Гц, 1H), 8.51-8.50 (m, 1H), 7.91-7.87 (m, 2H), 6.94 (d, J=9.2 Гц, 1H), 3.77 (уш. s, 2H), 3.65 (уш. s, 4H), 3.56 (уш. s, 2H), 2.92 (уш. s, 4H). ЖХ-МС (m/z): 390,70 [M+H] $^{+}$.

Пример 23. Синтез 6-[4-[3-(4-оксо-3H-тиено[2,3-d]пиримидин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила.

Стадия 1.

К перемешиваемому раствору 2-аминотиофен-3-карбоксамида (300 мг, 2,11 ммоль) в уксусной кислоте (3 мл) добавляли янтарный ангидрид (253 мг, 2,53 ммоль) при комнатной температуре. Данную реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч при комнатной температуре (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь разбавляли водой (20 мл), происходило образование осадка. Смесь фильтровали и полученное твердое вещество сушили под вакуумом с выходом 4-[(3-карбамоил-2-тиенил)амино]-4-оксо-бутановой кислоты (410 мг, 69%), которую использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

 1 Н ЯМР [400 МГц, ДМСО-d₆] δ 12.20 (s, 1H), 12.14 (s, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.50 (уш. s, 1H), 7.39 (d, J=5.6 Гц, 1H), 6.93 (d, J=6.0 Гц, 1H), 2.67 (t, J=6.4 Гц, 2H), 2.56 (t, J=6.8 Гц, 2H).

WX-MC (m/z): 265,40 [M+Na]⁺.

Стадия 2.

4-[(3-Карбамоил-2-тиенил)амино]-4-оксо-бутановую кислоту (350 мг, 1,44 ммоль) суспендировали в 2 н. растворе NaOH (7 мл) при комнатной температуре. Полученную смесь нагревали в течение 4 ч при 100°С (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). После завершения реакции реакционную смесь охлаждали до 0°С и подкисляли путем добавления АсОН (рН 4). Образовавшееся твердое вещество собирали путем фильтрования и сушили под вакуумом с получением 3-(4-оксо-3H-тиено[2,3-d]пиримидин-2-ил)пропановой кислоты (290 мг, 90%), которую использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

ЖХ-МС (m/z): 225,38 $[M+H]^+$.

Стадия 3.

К перемешиваемому раствору 3-(4-оксо-3H-тиено[2,3-d]пиримидин-2-ил)пропановой кислоты (200 мг, 0,89 ммоль) и 6-пиперазин-1-илпиридин-3-карбонитрила гидрохлорида (239 мг, 1,07 ммоль) в ДМФА (5 мл) добавляли T3P (0,85 мл, 1,33 ммоль), DIPEA (0,62 мл, 3,568 ммоль) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали в течение 4 ч при комнатной температуре (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь разбавляли (30 мл), экстрагировали EtOAc (3×30 мл). Объединенные органические слои сушили над Na_2SO_4 , растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного желаемого соединения. Полученное неочищенное соединение очищали путем колоночной хроматографии (100-200 силикагель, 4 г, 5% MeOH-ДXM) с выходом 6-[4-[3-(4-оксо-3H-тиено[2,3-d]пиримидин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила (80 мг, 22%) в виде белого твердого вещества.

 1 H ЯМР [400 МГц, ДМСО-d₆] δ 12.38 (s, 1H), 8.50 (d, J=2.0 Гц, 1H), 7.88 (dd, J=2.4, 9.2 Γц, 1H), 7.45 (d, J=6.0 Γц, 1H), 7.32 (d, J=5.6 Γц, 1H), 6.93 (d, J=9.2 Γц, 1H), 3.77-3.74 (m, 2H), 3.65-3.62 (m, 4H), 3.57-3.55 (m, 2H), 2.92-2.84 (m, 4H).

ЖХ-МС (m/z): 395,62 [M+H]⁺.

Пример 24. Синтез 6-[4-[3-(4-оксо-3H-тиено[3,2-d]пиримидин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила.

Стадия 1.

Перемешиваемый раствор метил 3-аминотиофен-2-карбоксилата (2 г, 12,72 ммоль) в 1 М гидроксиде натрия (14 мл, 14 ммоль) нагревали в течение 2 ч при 100° С (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Температуру реакционной смеси доводили до комнатной температуры, смесь подкисляли до pH 2 путем добавления 1 н. HCl и экстрагировали с использованием 50% TГФ-EtOAc (2×100 мл). Объединенные органические экстракты сушили над Na_2SO_4 , концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который промывали н-пентаном (2×20 мл) с выходом 3-аминотиофен-2-карбоновой кислоты (1,4 г, 77%), которую использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

XX-MC (ESI+) (m/z): 144,30 [M+H]⁺.

Стадия 2.

Раствор 3-аминотиофен-2-карбоновой кислоты (1 г, 6,99 ммоль) и CDI (1,24 г, 7,69 ммоль) в ТГФ (20 мл) нагревали в течение 1 ч при 60° С, затем добавляли 25% водный раствор аммиака (16 мл) и продолжали реакцию в течение 3 ч при 60° С (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Температуру реакционной смеси доводили до комнатной температуры и смесь экстрагировали EtOAc (2×75 мл), объединенные органические экстракты промывали солевым раствором (40 мл), сушили над Na_2SO_4 , концентрировали при пониженном давлении с получением в остатке неочищенного вещества, которое очищали путем колоночной хроматографии (100-200 силикагель, 20 г, 50-75% EtOAc-гексан) с выходом 3-аминотиофен-2-карбоксамида (400 мг, 40%) в виде желтоватого твердого вещества.

ЖХ-МС (ESI+) (m/z): $143,33 \text{ [M+H]}^+$. Стадия 3.

К перемешиваемой суспензии 3-аминотиофен-2-карбоксамида (390 мг, 2,74 ммоль) в АсОН (10 мл) добавляли янтарный ангидрид (277 мг, 2,77 ммоль) и перемешивали в течение 2 ч при комнатной температуре (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь гасили водой (40 мл), перемешивали в течение 15 мин, осадок собирали путем фильтрования, промывали водой (10 мл) и сушили с получением 4-[(2-карбамоил-3-тиенил)амино]-4-оксо-бутановой кислоты (585 мг, 88%) в виде белого твердого вещества.

ЖХ-MC (ESI+) (m/z): 243,40 [M+H]⁺.

Стадия 4.

Раствор 4-[(2-карбамоил-3-тиенил)амино]-4-оксо-бутановой кислоты (500 мг, 2,07 ммоль) в 2 н. растворе гидроксида натрия (16 мл, 32 ммоль) перемешивали в течение 2 ч при 80°С (согласно ЖХ-МС-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Температуру реакционной смеси доводили до комнатной температуры, смесь подкисляли до рН 5 путем добавления АсОН, белый осадок собирали путем фильтрования, промывали водой (20 мл), сушили при пониженном давлении с получением 3-(4-оксо-3H-тиено[3,2-d]пиримидин-2-ил)пропановой кислоты (330 г, 72%) в виде белого твердого вещества.

ЖХ-MC (ESI+) (m/z): 225,42 [M+H]⁺. Стадия 5.

К перемешиваемому раствору 3-(4-оксо-3H-тиено[3,2-d]пиримидин-2-ил)пропановой кислоты (200 мг, 0,89 ммоль), 6-пиперазин-1-илпиридин-3-карбонитрила гидрохлорида (240 мг, 1,07 ммоль) и DIPEA (0,31 мл, 1,78 ммоль) в ДМФА (10 мл) добавляли при комнатной температуре 50% раствор ТЗР в EtOAc (0,85 мл, 1,34 ммоль) и перемешивали в течение 3 ч (согласно ЖХ-МС-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь гасили водой (60 мл) и экстрагировали ДХМ (2×50 мл). Объединенные органические экстракты промывали солевым раствором (20 мл), сушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали путем колоночной хроматографии (100-200 силикагель, 20 г, 2-4% MeOH-ДХМ) с выходом 6-[4-[3-(4-оксо-3H-тиено[3,2-d]пиримидин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила (60 мг, 17%) в виде желтоватого твердого вещества.

 1 H ЯМР [400 МГц, ДМСО-d₆] δ 12.37 (s, 1H), 8.50 (d, J=2.0 Гц, 1H), 8.12 (d, J=5.2 Γц, 1H), 7.88 (dd, J=5.6, 9.2 Γц, 1H), 7.29 (d, J=5.2 Γц, 1H), 6.93 (d, J=9.2 Γц, 1H), 3.80-3.72 (m, 2H), 3.68-3.61 (m, 4H), 3.59-3.55 (m, 2H), 2.92-2.85 (m, 4H).

XX-MC (ESI+) (m/z): 395,63 [M+H]⁺.

Пример 25. Синтез 6-[(2S)-2-метил-4-[3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила.

Стадия 1.

$$Cu(MeCN)_4PF_6$$
 K_2CO_3 , ДМФА, $140^{\circ}C$, 2 ч $Ctadha 2$ $Ctadha 2$ $Ctadha 3$

К перемешиваемому раствору трет-бутил (3S)-3-метилпиперазин-1-карбоксилата (500 мг, 2,50 ммоль) и 6-хлорпиридин-3-карбонитрила (415 мг, 3,0 ммоль) в ДМСО (10 мл) добавляли K_2CO_3 (863 мг, 6,25 ммоль) и $Cu(MeCN)_4PF_6$ (18 мг, 0,05 ммоль). Данную реакционную смесь нагревали в течение 2 ч при 140°C (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Температуру реакционной смеси доводили до комнатной температуры, смесь разбавляли водой (20 мл) и экстрагировали EtOAc (3×50 мл). Объединенные органические экстракты промывали водой (2×30 мл) и солевым раствором (40 мл), сушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении с получением в остатке неочищенного вещества, которое очищали путем колоночной хроматографии (100-200 силикагель, 15 г, 30% EtOAc-гексан) с выходом трет-бутил (3S)-4-(5-циано-2-пиридил)-3-метил-пиперазин-1-карбоксилата (260 мг, 34%) в виде желтоватого твердого вещества.

ЖХ-МС (m/z): $303,60 [M+H]^+$. Стадия 2.

К перемешиваемому раствору трет-бутил (3S)-4-(5-циано-2-пиридил)-3-метил-пиперазин-1-карбоксилата (260 мг, 0,86 ммоль) в ДХМ (5 мл) добавляли охлажденный до 0°С 4 н. раствор HCl в диоксане (5 мл). Температуру реакционной смеси доводили до комнатной температуры и перемешивали в течение 4 ч (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением в остатке неочищенного вещества, которое промывали E_{12} О (5 мл) и сушили в условиях глубокого вакуума с выходом 6-[(2S)-2-метилпиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила гидрохлорида (120 мг, 68%) в виде желтоватого твердого вещества.

ЖХ-MC (m/z): 203,45 [M+H]⁺. Сталия 3.

К перемешиваемому раствору 6-[(2S)-2-метилпиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила гидрохлорида (100 мг, 0,46 ммоль) и 3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (111 мг, 0,55 ммоль) в ДМФА (5 мл), охлажденному до 0°С, добавляли ТЗР (0,3 мл, 0,92 ммоль, 50% раствор в ДМФА) и DIPEA (0,25 мл, 1,38 ммоль). Данную реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 8 ч (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь гасили водой (20 мл) и экстрагировали EtOAc (3×60 мл). Объединенные органические экстракты промывали холодной водой (3×30 мл), солевым раствором (40 мл), сушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении с получением в остатке неочищенного вещества, которое очищали путем колоночной хроматографии (100-200 силикагель, 8 г, 5% MeOH-EtOAc) с выходом 6-[(2S)-2-метил-4-[3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила (40 мг, 21%) в виде белого твердого вещества.

 1 H ЯМР [300 МГц, ДМСО-d₆] δ 12.28 (s, 1H), 8.52 (d, J=1.8 Гц, 1H), 8.06 (d, J=7.5 Γц, 1H), 7.88 (dd, J=1.8 Γц, J=9.0 Γц, 1H), 7.76-7.17 (m, 1H), 7.51 (d, J=8.1 Γц, 1H), 7.44 (t, J=7.5 Γц, 1H), 6.90 (d, J=9.0 Γц, 1H), 4.66-4.58 (m, 1H), 4.25-4.14 (m, 2H), 4.05-3.87 (m, 1H), 3.47 (d, J=10.5 Γц, 1H), 3.12-2.99 (m, 2H), 2.91-2.84 (m, 4H), 1.20-.98 (m, 3H).

XX-MC (m/z): 403,66 [M+H]⁺.

Пример 26. Синтез 6-[(2R)-2-метил-4-[3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила.

Стадия 1.

К перемешиваемому раствору трет-бутил (3R)-3-метилпиперазин-1-карбоксилата (500 мг, 2,5 ммоль), 6-хлорпиридин-3-карбонитрила (415 мг, 3 ммоль) в ДМСО (10 мл) добавляли при комнатной температуре карбонат калия (690 мг, 5 ммоль), Cu (MeCN) $_4$ PF $_6$ (18 мг, 0,05 ммоль). Данную реакционную смесь нагревали в течение 4 ч при 140°C (согласно ТСХ-анализу исходные вещества были полностью израсходованы), температуру реакционной смеси доводили до комнатной температуры, смесь разбавляли водой (30 мл) и экстрагировали EtOAc (3×40 мл). Объединенные органические экстракты промывали водой (30 мл), солевым раствором (40 мл), сушили над Na $_2$ SO $_4$ и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного желаемого соединения. Данное неочищенное вещество очищали путем колоночной хроматографии (силикагель 100-200 меш, 7 г, 30% EtOAc-гексан) с получением трет-бутил (3R)-4-(5-циано-2-пиридил)-3-метил-пиперазин-1-карбоксилата (415 мг, 55%) в виде желтоватого твердого вещества.

 1 Н ЯМР [300 МГц, CDCl₃] δ 8.39 (d, J=2.4 Гц, 1H), 7.62-7.58 (m, 1H), 6.54 (d, J=9.0 Гц, 1H), 4.51 (уш. s, 1H), 4.13-3.89 (m, 3H), 3.27-3.13 (m, 2H), 3.00 (уш. s, 1H), 1.45 (s, 9H), 1.23-1.16 (m, 3H).

XX-MC (m/z): 247,46 [M-tBu]⁺.

Стадия 2.

К перемешиваемому раствору трет-бутил (3R)-4-(5-циано-2-пиридил)-3-метил-пиперазин-1-карбоксилата (410 мг, 1,35 ммоль) в 1,4-диоксане (4 мл), охлажденному до 0°С, добавляли 4 н. раствор НСІ в диоксане (1,35 мл, 5,43 ммоль). Температуру реакционной смеси медленно доводили до комнатной температуры и смесь перемешивали в течение 3 ч (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Летучие компоненты удаляли при пониженном давлении с получением неочищенного 6-[(2R)-2-метилпиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила (310 мг, 96%), который использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

XX-MC (m/z): 203,41 [M+H]⁺.

Стадия 3.

К перемешиваемому раствору 3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (100 мг, 0,45 ммоль), 6-[(2R)-2-метилпиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила (93 мг, 0,45 ммоль) в ДМФА (2 мл) добавляли при комнатной температуре EDC·HCl (131 мг, 0,68 ммоль), HOBt (92 мг, 0,68 ммоль) и DIPEA (0,16 мл, 0,91 ммоль) и перемешивали в течение 16 ч (согласно TCX-анализу исходные вещества были полностью израсходованы). Затем реакционную смесь разбавляли холодной водой (20 мл) и экстрагировали EtOAc (3×30 мл). Объединенные органические экстракты промывали холодной водой (1×30 мл), солевым раствором (40 мл), сушили над 10-100 мг, 100 и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного желаемого соединения. Данный неочищенный остаток очищали путем колоночной хроматографии (силикагель 100-200 меш, 100 г. 100 меш, 100 г. 100 мг, 100 в виде бледно-розового твердого вещества.

 1 H ЯМР [300 М 2 Ц, ДМСО- 4 G] δ 12.30 (уш. s, 1H), 8.52 (d, J=2.1 2 Ц, 1H), 8.06 (d, J=7.8 2 Ц, 1H), 7.88 (dd, J=9.0, 2.1 2 Ц, 1H), 7.76-7.71 (m, 1H), 7.51 (d, J=8.1 2 Ц, 1H), 7.44 (t, J=7.5 2 Ц, 1H), 6.89 (d, J=9.0 2 Ц, 1H), 4.66-4.58 (m, 1H), 4.24-4.14 (m, 2H), 4.05-3.87 (m, 1H), 3.34-3.31 (m, 1H), 3.05-2.72 (m, 6H), 1.20-0.98 (m, 3H).

ЖХ-МС (m/z): 403,66 [M+H]⁺.

Пример 27. Синтез 6-[(3R)-3-метил-4-[3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила.

Стадия 1.

К перемешиваемому раствору 3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (1 г, 4,58 ммоль), трет-бутил (3R)-3-метилпиперазин-1-карбоксилата (917 мг, 4,58 ммоль) в ДМФА (20 мл) добавляли EDC·HCl (1,3 г, 6,88 ммоль), НОВt (928 мг, 6,88 ммоль) и DIPEA (1,6 мл, 9,17 ммоль) и перемешивали в течение 16 ч при комнатной температуре (согласно TCX-анализу исходные вещества были полностью израсходованы). Затем реакционную смесь разбавляли холодной водой (40 мл) и экстрагировали EtOAc (3×40 мл). Объединенные органические экстракты промывали холодной водой (50 мл), солевым раствором (40 мл), сушили над Na₂SO₄ и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного желаемого соединения. Данное неочищенное соединение очищали путем колоночной хроматографии (силикагель 100-200 меш, 10 г, 3% МеОН в ДХМ) с получением трет-бутил (3R)-3-метил-4-[3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-карбоксилата (410 мг, 22%) в виде желтоватого твердого вещества.

XX-MC (m/z): 401,67 [M+H]⁺.

К перемешиваемому раствору трет-бутил (3R)-3-метил-4-[3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-карбоксилата (410 мг, 1 ммоль) в 1,4-диоксане (4 мл), охлажденному до 0°С, добавляли 4 н. раствор HCl в диоксане (1,0 мл, 4 ммоль). Данную реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 3 ч (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Летучие компоненты удаляли при пониженном давлении с получением неочищенного 2-[3-[(2R)-2-метилпиперазин-1-ил]-3-оксо-пропил]-3H-хиназолин-4-она гидрохлорида (310 мг, количественный выход), который использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

ЖХ-МС (m/z): $301,61 [M+H]^+$. Стадия 3.

Си(MeCN),
$$_{4}$$
РF₆ К₂CO₃, ДМФА, $_{140^{\circ}\text{C}}$ С, $_{4}$ ч Стадия $_{4}$

К перемешиваемому раствору 2-[3-[(2R)-2-метилпиперазин-1-ил]-3-оксо-пропил]-3H-хиназолин-4-она гидрохлорида (200 мг, 0,66 ммоль), 6-хлорпиридин-3-карбонитрила (110 мг, 0,79 ммоль) в ДМСО (4 мл) добавляли при комнатной температуре карбонат калия (183 мг, 1,33 ммоль), $Cu(MeCN)_4PF_6$ (5 мг, 0,013 ммоль). Данную реакционную смесь нагревали в течение 4 ч при 140°С (согласно ТСХ-анализу исходные вещества были полностью израсходованы), температуру реакционной смеси медленно доводили до комнатной температуры, смесь разбавляли холодной водой (30 мл), экстрагировали EtOAc (3×40 мл). Объединенные органические экстракты промывали холодной водой (30 мл), солевым раствором (40 мл), сушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного желаемого соединения. Данное неочищенное вещество очищали путем колоночной хроматографии (силикагель 100-200 меш, 4 г, 5% MeOH-ДХМ) с получением 6-[(3R)-3-метил-4-[3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила (65 мг, 24%) в виде желтоватого твердого вещества.

 1 Н ЯМР [400 МГц, ДМСО-d₆] δ 12.20 (s, 1H), 8.48 (s, 1H), 8.06 (d, J=7.6 Гц, 1H), 7.86 (d, J=7.6 Гц, 1H), 7.73 (уш. s, 1H), 7.52 (m, 1H),7.44 (t, J=2.0 Гц, 1H), 6.93 (уш. s, 1H), 4.56 (уш. s, 1H), 4.37-4.14 (m, 3H), 3.52-3.31 (m, 2H), 2.98-2.88 (m, 5H), 1.20-1.00 (m, 3H).

WX-MC (m/z): 403,62 [M+H]⁺.

Пример 28. Синтез 6-[(3S)-3-метил-4-[3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила.

Стадия 1.

К перемешиваемому раствору трет-бутил (2R)-2-метилпиперазин-1-карбоксилата $(0,55\ \Gamma,2,75\ \text{ммоль})$ и 3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты $(0,5\ \Gamma,2,29\ \text{ммоль})$ в ДМФА $(10\ \text{мл})$, охлажденному до 0°С, добавляли EDC·HCl $(0,657\ \Gamma,3,44\ \text{ммоль})$, HOBt $(0,464\ \Gamma,3,44\ \text{ммоль})$ и DIPEA $(1,2\ \text{мл},6,88\ \text{ммоль})$. Данную реакционную смесь нагревали до комнатной температуры, перемешивали в течение $12\ \text{ч}$ (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано), гасили водой $(20\ \text{мл})$ и экстрагировали EtOAc $(3\times60\ \text{мл})$. Объединенные органические экстракты промывали холодной водой $(3\times30\ \text{мл})$, солевым раствором $(40\ \text{мл})$, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного желаемого соединения. Данное неочищенное вещество очищали путем колоночной хроматографии $(100\text{-}200\ \text{силикагель},15\ \Gamma,5\%\ \text{MeOH-EtOAc})$ с получением трет-бутил (3S)-3-метил-4-[3-(4-оксo-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-карбоксилата $(0,3\ \Gamma,32\%)$.

ЖХ-МС (m/z): 401,67 [M+H]⁺.

K перемешиваемому раствору трет-бутил (3S)-3-метил-4-[3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-карбоксилата (0,2 г, 0,5 ммоль) в ДХМ (5 мл), охлажденному до 0°С, добавляли 4 н. раствор HCl в диоксане (5 мл). Данную реакционную смесь медленно нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 4 ч (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь концентрировали под вакуумом с получением в остатке неочищенного вещества, которое промывали $E_{2}O$ (5 мл) и сушили в условиях глубокого вакуума с выходом 2-[3-[(2S)-2-метилпиперазин-1-ил]-3-оксо-пропил]-3H-хиназолин-4-она гидрохлорида (120 мг, 80%) в виде желтоватого твердого вещества.

WX-MC (m/z): 301,61 [M+H]⁺.

Стадия 3.

Раствор 2-[3-[(2S)-2-метилпиперазин-1-ил]-3-оксо-пропил]-3H-хиназолин-4-она гидрохлорида (100 мг, 0,33 ммоль), 6-хлорпиридин-3-карбонитрила (55 мг, 0,39 ммоль), K_2CO_3 (138 мг, 0,10 ммоль) и $Cu(MeCN)_4PF_6$ (2 мг, 0,006 ммоль) в ДМСО (3 мл) перемешивали в течение 4 ч при 140°С (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Температуру реакционной смеси доводили до комнатной температуры, смесь разбавляли водой (20 мл) и экстрагировали EtOAc (3×50 мл). Объединенные органические экстракты промывали водой (2×30 мл), солевым раствором (1×30 мл), сущили над Na_2SO_4 , и концентрировали при пониженном давлении с получением в остатке неочищенного вещества, которое очищали путем колоночной хроматографии (100-200 силикагель, 10 г, 5% MeOH-EtOAc) с выходом 6-[(3S)-3-метил-4-[3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила (30 мг, 22%) в виде белого твердого вещества.

 1 H ЯМР [300 МГц, ДМСО-d₆] δ 12.24 (s, 1H), 8.49 (d, J=2.1, 1H), 8.06 (d, J=7.2 Гц, 1H), 7.87 (dd, J=9.0, 2.4 Γц, 1H), 7.78-7.70 (m, 1H), 7.55-7.42 (m, 2H), 7.01-6.91 (m, 1H), 4.61-4.51 (m, 1H), 4.38-4.15 (m, 2H), 3.95-3.85 (d, J=12.9 Γц, 1H), 3.51-3.40 (m, 1H), 3.25-3.17 (m, 1H), 3.05-2.81 (m, 5H), 1.22-0.99 (m, 3H). ЖХ-МС (m/z): 403,63 [M+H] $^{+}$.

Пример 29. Синтез 6-[(3S)-4-[3-(6-фтор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]-3-метил-пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила.

Стадия 1.

F О БЕОС·НСІ, НОВІ·NН
$$_3$$
 О БІРЕА, ТГ Φ , H_2 О ПРЕА, ТГ Φ , H_2 Стадия 1 H_2 H_2

К перемешиваемому раствору 2-амино-5-фтор-бензойной кислоты (15 г, 96,69 ммоль) в ТГФ (300 мл) добавляли при комнатной температуре EDC·HCl (27,70 г, 145,03 ммоль), HOBt·NH $_3$ (21,75 г, 145,03 ммоль) и DIPEA (51,0 мл, 290,07 ммоль) и перемешивали в течение 6 ч (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением в остатке неочищенного вещества, которое разбавляли водой (150 мл) и экстрагировали EtOAc (3×150 мл). Объединенные органические экстракты промывали водой (2×100 мл), солевым раствором (1×100 мл), сушили над Na $_2$ SO $_4$ и концентрировали при пониженном давлении с получением в остатке неочищенного вещества. Данное неочищенное вещество очищали путем колоночной хроматографии (100-200 силикагель, 300 г, 40% EtOAc-гексан) с получением 2-амино-5-фтор-бензамида (10,0 г, 67%) в виде бледно-желтого твердого вещества.

 $WX-MC (m/z): 155,38 [M+H]^+$

К перемешиваемому раствору 2-амино-5-фтор-бензамида $(7,0\,\,\Gamma,\,45,45\,\,\text{ммоль})$ в AcOH $(35\,\,\text{мл})$ добавляли при комнатной температуре янтарный ангидрид $(5,45\,\,\Gamma,\,54,54\,\,\text{ммоль})$ и перемешивали в течение 3 ч (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь вливали в воду, охлажденную до 0° С $(250\,\,\text{мл})$, выпавшее в осадок твердое вещество перемешивали в течение 30 мин при комнатной температуре, собирали путем фильтрования, промывали водой $(50\,\,\text{мл})$, холодным ацетоном $(20\,\,\text{мл})$ и сушили в условиях глубокого вакуума с получением 4-(2-карбамоил-4-фтор-анилино)-4-оксо-бутановой кислоты $(9,0\,\,\Gamma,\,77\%)$ в виде белого твердого вещества.

XX-MC (m/z): 255,57 [M+H]⁺.

Стадия 3.

Перемешиваемый раствор 4-(2-карбамоил-4-фтор-анилино)-4-оксо-бутановой кислоты (9,0 г, 35,43 ммоль) в 2 н. водном растворе NaOH (100 мл) нагревали в течение 3 ч при 100°С (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь охлаждали до 0°С и подкисляли до рН 4-5 2 н. водным раствором HCl, происходило образование белого осадка. Полученную суспензию перемешивали в течение 30 мин при 0°С, фильтровали, промывали водой (2×50 мл) и холодным ацетоном (20 мл). Твердое вещество сушили в условиях глубокого вакуума с получением 3-(6-фтор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (7,0 г, 83%) в виде желтоватого твердого вещества.

ЖХ-MC (m/z): 237,43 [M+H]⁺. Стадия 4.

К перемешиваемому раствору 3-(6-фтор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (5,0 г, 21,19 ммоль) и трет-бутил (3S)-3-метилпиперазин-1-карбоксилата (4,2 г, 21,19 ммоль) в ДМФА (50 мл), охлажденному до 0°С, добавляли EDC·HCl (6,06 г, 31,78 ммоль), HOBt (4,29 г, 31,78 ммоль) и DIPEA (11,2 мл, 63,56 ммоль). Данную реакционную смесь нагревали до комнатной температуры, перемешивали в течение 12 ч (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано), гасили водой (100 мл) и экстрагировали EtOAc (3×200 мл). Объединенные органические экстракты промывали холодной водой (3×50 мл), солевым раствором (50 мл), сушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении с получением в остатке неочищенного вещества, которое очищали путем колоночной хроматографии (100-200 силикагель, 80 г, 5% MeOH-ДXM) с выходом трет-бутил (3S)-4-[3-(6-фтор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]-3-метил-пиперазин-1-карбоксилата (4,0 г, 45%) в виде желтоватого твердого вещества.

ЖХ-МС (m/z): 419,73 $[M+H]^+$. Стадия 5.

К перемешиваемому раствору трет-бутил (3S)-4-[3-(6-фтор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]-3-метил-пиперазин-1-карбоксилата (4,0 г, 9,57 ммоль) в 1,4-диоксане (20 мл), охлажденному до 0°С, добавляли 4 н. раствор HCl в диоксане (10 мл, 40,0 ммоль). Температуру реакционной смеси доводили до комнатной температуры и смесь перемешивали в течение 4 ч (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Летучие компоненты удаляли при пониженном давлении с получением

в остатке неочищенного вещества, которое промывали Et_2O (10 мл), сушили в условиях глубокого вакуума с выходом 6-фтор-2-[3-[(2S)-2-метилпиперазин-1-ил]-3-оксо-пропил]-3H-хиназолин-4-она гидрохлорида (2,0 г, 65%), который использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

XX-MC (m/z): 319,63 [M+H]⁺.

Стадия 6.

$$_{9}^{\text{Cu}(MeCN)_4PF_6}$$
 $_{10}^{\text{Cu}(MeCN)_4PF_6}$ $_{140^{\circ}\text{C}, 4\text{ ч}}^{\text{Cu}}$ $_{140^{\circ}\text{C}, 4\text{ ч}}^{\text{Crадия 6}}$ $_{140^{\circ}\text{C}, 4\text{ ч}}^{\text{Crадия 6}}$ $_{140^{\circ}\text{C}, 4\text{ ч}}^{\text{Cradus 6}}$ $_{140^{\circ}\text{C}, 4\text{ ч}}^{\text{Cradus 6}}$

К перемешиваемому раствору 6-фтор-2-[3-[(2S)-2-метилпиперазин-1-ил]-3-оксо-пропил]-3Н-хиназолин-4-она гидрохлорида (2,5 г, 7,86 ммоль), 6-хлорпиридин-3-карбонитрила (1,08 г, 7,86 ммоль) и K_2CO_3 (3,2 г, 23,58 ммоль) в ДМСО (20 мл) добавляли $Cu(MeCN)_4PF_6$ (58 мг, 0,16 ммоль) и перемешивали в течение 4 ч при $140^{\circ}C$ (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Температуру реакционной смеси доводили до комнатной температуры, смесь разбавляли водой (50 мл) и экстрагировали EtOAc (3×150 мл). Объединенные органические экстракты промывали водой (2×100 мл), солевым раствором (1×10 мл), сушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении с получением в остатке неочищенного вещества. Данный неочищенный продукт очищали путем колоночной хроматографии (100-200 силикагель, 40 г, 5% MeOH-ДXM) с получением желаемого соединения, 6-[(3S)-4-[3-(6-фтор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]-3-метил-пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила (1,3 г, 40%) в виде белого твердого вещества.

 1 H ЯМР [400 М Γ ц, ДМСО-d₆] δ 12.31 (s, 1H), 8.48 (d, J=2.4 Γ ц, 1H), 7.86 (dd, J=8.8, 2.0 Γ ц, 1H), 7.73 (dd, J=8.8, 2.8 Γ ц, 1H), 7.68-7.55 (m, 2H), 6.97-6.88 (s, 1H), 4.56-4.36 (m, 1H), 4.30-4.14 (m, 3H), 3.51-3.44 (m, 1H), 3.24-3.17 (m, 1H), 2.98 (s, 1H), 2.95-2.80 (s, 4H), 1.25-0.94 (m, 3H).

ЖХ-МС (m/z): 421,72 [M+H]⁺.

Пример 29а. Синтез $6-[(3R)-4-[3-(6-\phi тор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил) пропаноил]-3-метил-пиперазин-1-ил] пиридин-3-карбонитрила.$

Стадия 1.

К смеси 6-хлорпиридин-3-карбонитрила (10 г, 0,06 моль) и (2R)-2-метилпиперазина (6,35 г, 0,06 моль) в ацетонитриле (80 мл) добавляли при комнатной температуре K_2CO_3 (12,0 г, 0,09 моль). Полученную смесь перемешивали в течение 2 ч при 60°С (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Температуру реакционной смеси доводили до комнатной температуры, смесь гасили водой (150 мл) и экстрагировали EtOAc (3×80 мл). Объединенные органические экстракты сушили над безводным Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали путем колоночной хроматографии (100-200 силикагель, 5% MeOH-ДХМ) с получением 6-[(3R)-3-метил-пиперазин-1-ил]-пиридин-3-карбонитрила (10,0 г, выход: 69%).

Стадия 2.

К перемешиваемому раствору 3-(6-фтор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты $(5,0\,$ г, $21,19\,$ ммоль, полученной на стадии 3 примера 29) в сухом ДМФА $(40\,$ мл, $\sim 8\,$ об), добавляли при 10-15°C 6-[(3R)-3-метил-пиперазин-1-ил]-пиридин-3-карбонитрил $(4,06\,$ г, $20\,$ ммоль), EDCI·HCI $(6,08\,$ г, $31,6\,$ ммоль), HOBt $(3,43\,$ г, $25,4\,$ ммоль) и DIPEA $(14,5\,$ мл, $84,5\,$ моль) и перемешивали в течение $22\,$ ч. 3а-тем реакционную смесь гасили водой, охлажденной до 0°C $(500\,$ мл), и экстрагировали EtOAc $(3\times 70\,$ мл). Объединенные органические слои сушили над безводным Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного желаемого соединения. Данное неочищенное соединение перемешивали с EtOAc $(50\,$ мл) в течение $1\,$ ч при комнатной температуре, фильтровали и сушили досуха. Полученное твердое вещество снова суспендировали в EtOAc. Твердое вещество собирали путем фильтрования и промывали EtOAc $(50\,$ мл) с получением $(50\,$ мл) 6-[(3R)-4-[3-(6-фтор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]-3-метил-пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила $((3,8\,$ г, выход: 43%). Выполняли хираль-

ную ВЭЖХ, чтобы подтвердить, что данное соединение представляет собой энантиомер соединения 29. Колонка: Lux, 5 микрон, целлюлоза-4 (250×4,6 мм, 5 микрон), подвижная фаза: 50:50 н-гексан:(0,1% НСООН в смеси этанол:метанол (1:1)), скорость потока: 1,0 мл/мин, температура: 25°C. Время удерживания R-энантиомера: 12,9 мин; время удерживания соединения 29: 13,4 мин.

Пример 30. Синтез 6-[(3S)-4-[3-(5-фтор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]-3-метил-пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила.

Стадия 1.

К перемешиваемому раствору 2-амино-6-фтор-бензойной кислоты (15 г, 96,77 ммоль) в ТГФ (150 мл) добавляли при комнатной температуре EDC·HCl (27 г, 145,16 ммоль), HOBt·NH₃ (21 г, 145,16 ммоль) и DIPEA (52 мл, 290,32 ммоль) и перемешивали в течение 6 ч (ТСХ-анализ указывал на полное превращение соединения 1). Затем реакционную смесь разбавляли EtOAc (300 мл) и промывали водой (3×100 мл), солевым раствором (1×150 мл). Органический слой отделяли, сушили над Na₂SO₄, летучие компоненты выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который промывали, используя 10% EtOAc-гексаны (2×150 мл), сушили в условиях глубокого вакуума с выходом 2-амино-6-фтор-бензамида (12,2 г, 80%) в виде бледно-желтого твердого вещества.

XX-MC (m/z): 155,42 [M+H]⁺.

Стадия 2.

К перемешиваемому раствору 2-амино-6-фтор-бензамида (12 г, 77,92 ммоль) в AcOH (120 мл) добавляли при комнатной температуре янтарный ангидрид (9,3 г, 93,50 ммоль) и перемешивали в течение 4 ч (ТСХ-анализ указывал на полное превращение исходного вещества). Затем реакционную смесь разбавляли охлажденной до 0° С водой (1×200 мл), перемешивали в течение 30 мин, при этом выпадало в осадок твердое вещество. Данное твердое вещество собирали путем фильтрования, промывали водой (1×150 мл) и затем холодным ацетоном (1×100 мл) и сушили в условиях глубокого вакуума с получением 4-(2-карбамоил-3-фтор-анилино)-4-оксо-бутановой кислоты (16 г, 81%) в виде желтоватого твердого вещества.

XX-MC (m/z): 277,46 [M+Na]⁺, 238,49 [M-NH₂]⁺.

Стадия 3.

Перемешиваемый раствор 4-(2-карбамоил-3-фтор-анилино)-4-оксо-бутановой кислоты (15,5 г, 6,10 ммоль) в 2 н. водном растворе NaOH (160 мл) нагревали в течение 4 ч при 100°С (ТСХ-анализ указывал на полное превращение исходного вещества). Затем реакционную смесь охлаждали до 0°С, подкисляли до рН 5 путем добавления АсОН, при этом выпадало в осадок твердое вещество. Данное твердое вещество собирали путем фильтрования, промывали водой (250 мл) и затем холодным ацетоном (1×100 мл) и сушили в условиях глубокого вакуума с получением 3-(5-фтор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (11 г, 80%) в виде желтоватого твердого вещества.

XX-MC (m/z): 237,47 [M+H]⁺.

Стадия 4.

К перемешиваемому раствору 3-(5-фтор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (5,2 г, 22 ммоль) в ДМФА (52 мл) добавляли при комнатной температуре трет-бутил (3S)-3-метилпиперазин-1-карбоксилат (6,6 г, 33,05 ммоль), EDC·HCl (6,2 г, 33,05 ммоль), HOBt (4,4 г, 33,05 ммоль) и DIPEA (12 мл, 66,10 ммоль) и перемешивали в течение 16 ч (ТСХ-анализ указывал на полное превращение исходного вещества). Затем реакционную смесь гасили охлажденной до 0°С водой (160 мл), перемешивали в течение 30 мин, при этом выпадало в осадок твердое вещество, которое отфильтровывали. Полученный фильтрат экстрагировали EtOAc (3×200 мл) и объединенные органические экстракты промывали водой (1×200 мл), солевым раствором (1×200 мл), сушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении с получением в остатке неочищенного вещества, которое очищали путем колоночной хроматографии (100-200 силикагель, 60 г, 5% MeOH-ДХМ) с выходом трет-бутил (3S)-4-[3-(5-фтор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]-3-метил-пиперазин-1-карбоксилата (4 г, 43%) в виде твердого вещества кремового цвета.

XX-MC (m/z): 419,73 [M+H]⁺.

Стадия 5.

К перемешиваемому раствору трет-бутил (3S)-4-[3-(5-фтор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]-3-метил-пиперазин-1-карбоксилата (6 г, 14,35 ммоль) в ДХМ (60 мл) добавляли при комнатной температуре 4 н. раствор НСl в диоксане (60 мл) и перемешивали в течение 3 ч (ТСХ-анализ указывал на полное превращение исходного вещества). Летучие компоненты выпаривали при пониженном давлении, неочищенный остаток подвергали дистилляции с толуолом (2×100 мл) и сушили в условиях глубокого вакуума с получением 5-фтор-2-[3-[(2S)-2-метилпиперазин-1-ил]-3-оксо-пропил]-3H-хиназолин-4-она гидрохлорида (4,7 г, 94%) в виде белого твердого вещества.

ЖХ-МС (m/z): 319,59 $[M+H]^{+}$.

Стадия 6.

Стадия 6

К перемешиваемому раствору 5-фтор-2-[3-[(2S)-2-метилпиперазин-1-ил]-3-оксо-пропил]-3Н-хиназолин-4-она гидрохлорида (5,2 г, 14,73 ммоль) в ДМСО (52 мл), находящемуся в герметично закрываемой пробирке, добавляли при комнатной температуре K_2CO_3 (4 г, 29,40 ммоль), 6-хлорпиридин-3-карбонитрил (2 г, 14,73 ммоль) и тетракис(ацетонитрил)меди(I) гексафторфосфат (109 мг, 0,29 ммоль). Данную реакционную смесь дегазировали аргоном в течение 5 мин и перемешивали в течение 3 ч при 110°С (ЖХ-МС-анализ указывал на полное превращение исходного вещества). Затем реакционную смесь гасили водой (300 мл) и экстрагировали EtOAc (3×200 мл). Объединенные органические экстракты промывали холодной водой (1×200 мл), солевым раствором (1×200 мл), органический слой отделяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении с получением в остатке неочищенного вещества, которое очищали путем колоночной хроматографии (100-200 силикагель, 60 г, 5% MeOH-ДХМ) с выходом желтоватого твердого вещества. Данное твердое вещество промывали, используя 5% MeOH-EtOAc, с получением 6-[(3S)-4-[3-(5-фтор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]-3-метил-пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила (1,4 г, 23%) в виде белого твердого вещества.

 1 H ЯМР [400 МГц, ДМСО-d₆] δ 12.22 (s, 1H), 8.47 (d, J=2.0 Гц, 1H), 7.85 (dd, J=9.2, 2.4 Γц, 1H), 7.73-7.65 (m, 1H), 7.32 (t, J=8.4 Γц, 1H), 7.19-7.14 (m, 1H), 6.91(d, J=8.0 Γц, 1H), 4.55-4.35 (m, 1H), 4.29-4.11 (m, 3H), 3.48 (t, J=9.2 Γц, 1H), 3.26-3.18 (m, 1H), 3.04-2.94 (m, 1H), 2.91-2.84 (m, 4H), 1.21-0.98 (m, 3H).

ЖХ-МС (m/z): 421,72 [M+H]⁺.

Пример 31. Синтез 6-[3-(гидроксиметил)-4-[3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила.

Стадия 1.

СІН.НN + СІ
$$\frac{K_2CO_3}{2}$$
 Си(MeCN)₄PF₆, ДМСО, 140°С, 12 Ч СІН.НN $\frac{1}{2}$ ОН

К перемешиваемому раствору пиперазин-2-илметанола дигидрохлорида (100 мг, 0,53 ммоль) в ДМСО (3 мл) добавляли при комнатной температуре 6-хлорпиридин-3-карбонитрил (88 мг, 0,63 ммоль), K_2CO_3 (146 мг, 1,062 ммоль) и $Cu(MeCN)_4PF_6$ (3,9 мг, 0,01 ммоль). Данную реакционную смесь нагревали в течение 12 ч при 140°С (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано), гасили водой (10 мл) и экстрагировали EtOAc (3×10 мл). Объединенные органические экстракты сушили над Na_2SO_4 , концентрировали при пониженном давлении с получением в остатке неочищенного вещества, которое очищали путем колоночной хроматографии (100-200 силикагель, 5 г, 5% MeOH-ДХМ) с выходом 6-[3-(гидроксиметил)пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила гидрохлорида (50 мг, 32%) в виде белого твердого вещества.

ЖХ-МС (m/z): 219 $[M+H]^+$.

Стадия 2.

К перемешиваемому раствору 6-[3-(гидроксиметил)пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила гидрохлорида (120 мг, 0,55 ммоль) и 3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (120 мг, 0,55 ммоль) в сухом ДМФА (2 мл) добавляли при комнатной температуре EDC·HCl (157 мг, 0,825 ммоль), HOBt (113 мг, 0,825 ммоль) и DIPEA (0,2 мл, 1,1 ммоль) и перемешивали в течение 16 ч (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь гасили холодной водой (20 мл) и экстрагировали EtOAc (3×10 мл). Объединенные органические экстракты сушили над Na₂SO₄, концентрировали при пониженном давлении, полученный остаток очищали путем препаративной ВЭЖХ с выходом 6-[3-(гидроксиметил)-4-[3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила (26 мг, 11%) в виде белого твердого вещества.

 1 H ЯМР [400 МГц, ДМСО-d₆] δ 12.17 (s, 1H), 8.49 (d, J=1.6 Гц, 1H), 8.08-8.06 (m, 1H), 7.88-7.85 (m, 1H), 7.74 (t, J=8 Γц, 1H), 7.53 (d, J=8.4 Γц, 1H), 7.46-7.42 (m, 1H), 6.93-6.86 (m, 1H), 5.0-4.82 (m, 2H), 4.42-3.88 (m, 4H), 3.56-3.47 (m, 2H), 2.99-2.89 (m, 6H).

ЖХ-МС (m/z): 419,76 [M+H]⁺.

Пример 32. Синтез 6-[4-[3-(6-фтор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]-3-(гидроксиметил)пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила.

К перемешиваемому раствору 3-(6-фтор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (300 мг, 1,27 ммоль) и 6-[3-(гидроксиметил)пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила (277 мг, 1,27 ммоль) в ДМФА (4 мл) добавляли при комнатной температуре DIPEA (0,68 мл, 3,81 ммоль), ТЗР (0,8 мл, 2,54 ммоль). Данную реакционную смесь нагревали в течение 30 мин при 80°С в микроволновой печи (СЕМ) (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано), температуру реакционной смеси медленно доводили до комнатной температуры, смесь гасили водой (10 мл) и экстрагировали ЕtOAc (3×60 мл). Объединенные органические экстракты промывали холодной водой (3×30 мл), солевым раствором (20 мл), сушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении с получением в остатке неочищенного вещества. Данное неочищенное вещество очищали путем колоночной хроматографии (100-200 силикагель, 15 г, 5-10% MeOH-ДХМ) с выходом 6-[4-[3-(6-фтор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]-3-(гидроксиметил)пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила (90% ЖХ-МС, 300 мг), который дополнительно очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением чистого соединения (154 мг, 27%) в виде белого твердого вещества.

¹Н ЯМР [400 МГц, ДМСО-d₆] δ 12.31 (уш. s, 1H), 8.48 (s, 1H), 7.85 (dd, J=9.2, 2.4 Гц, 1H), 7.74 (dd, J=8.8, 2.4 Гц, 1H), 7.66-7.61 (m, 2H), 6.92-6.86 (m, 1H), 5.07-4.84 (m, 2H), 4.44-4.37 (m, 1H), 4.33-4.16 (m, 2H), 4.44-4.37 (m, 2H), 4.44-4.37 (m, 2H), 4.33-4.16 (m, 2H), 4.44-4.37 (m, 2H),

4H), 3.94-3.86 (m, 1H), 3.12-2.78 (m, 6H).

ЖХ-МС (m/z): 437,75 [M+H]⁺.

Пример 33. Синтез 6-[4-[3-(5-фтор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]-3-(гидроксиметил)пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила.

К перемешиваемому раствору 3-(5-фтор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (400 мг, 1,69 ммоль) и 6-[3-(гидроксиметил)пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила (369 мг, 1,69 ммоль) в ДМФА (4 мл) при комнатной температуре добавляли DIPEA (0,88 мл, 5,08 ммоль) и затем ТЗР (1,0 мл, 3,39 ммоль). Данную реакционную смесь нагревали в течение 30 мин при 80°С в микроволновой печи (СЕМ) (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано), температуру реакционной смеси медленно доводили до комнатной температуры, смесь гасили водой (10 мл) и экстрагировали ЕtOAc (3×60 мл). Объединенные органические экстракты промывали холодной водой (3×30 мл), солевым раствором (20 мл), сушили над Na₂SO₄ и концентрировали при пониженном давлении с получением в остатке неочищенного вещества. Остаток очищали путем колоночной хроматографии (100-200 силикагель, 15 г, 5-10% МеOH-ДХМ) с выходом 6-[4-[3-(5-фтор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]-3-(гидроксиметил)пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила (90% ЖХ-МС, 300 мг), который очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением чистого соединения (160 мг, 21%) в виде белого твердого вещества

 1 Н ЯМР [400 МГц, ДМСО-d₆] δ 12.36 (уш. s, 1H), 8.49 (s, 1H), 7.86 (dd, J=8.8, 2.0 Гц, 1H), 7.70 (q, J=8.0 Гц, 1H), 7.34 (d, J=8.4 Гц, 1H), 7.20-7.15 (m, 2H), 6.93-6.86 (m, 1H), 5.02-4.81 (m, 1H), 4.42-4.39 (m, 1H), 4.33-3.88 (m, 3H), 3.53-3.41 (m, 2H), 2.95-2.87 (m, 6H).

XX-MC (m/z): 437,75 [M+H]⁺.

Пример 34. Синтез 2-[3-оксо-3-[4-(2-пиридил)пиперазин-1-ил]пропил]-3Н-хиназолин-4-она. Стадия 1.

$$K_2CO_3$$
, $Cu(MeCN)_4PF_6$, $AmcO$,

К перемешиваемому раствору 2-хлорпиридина (750 мг, 6,60 ммоль) в ДМСО (10 мл) добавляли при комнатной температуре трет-бутил пиперазин-1-карбоксилат (1,4 г, 7,92 ммоль), K_2CO_3 (1,8 г, 13,27 ммоль) и $Cu(MeCN)_4PF_6$ (49 мг, 0,132 ммоль) и нагревали в течение 12 ч при 140°С (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь гасили водой (40 мл) и экстрагировали EtOAc (3×60 мл). Объединенные органические экстракты сушили над Na_2SO_4 , концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного желаемого соединения, которое очищали путем флэш-хроматографии (100-200 силикагель, 8 г, 20% EtOAc-гексаны) с выходом трет-бутил 4-(2-пиридил)пиперазин-1-карбоксилата (350 мг, 20%) в виде желтого масла.

WX-MC (m/z): 264,55 [M+H]⁺.

Стадия 2.

К перемешиваемому раствору трет-бутил 4-(2-пиридил)пиперазин-1-карбоксилата (350 мг, 1,32 ммоль) в 1,4-диоксане (4 мл) добавляли при 0°С в атмосфере аргона 4н. раствор HCl в диоксане (1,3 мл, 5,30 ммоль). Данную реакционную смесь медленно нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 3 ч (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Летучие компоненты удаляли при пониженном давлении с получением неочищенного желаемого соединения, которое промывали Et_2O (50 мл) с выходом 1-(2-пиридил)пиперазина гидрохлорида (210 мг, 96%) в виде белого твердого вещества.

ЖХ-МС (m/z): 164,48 $[M+H]^+$.

Стадия 3.

К перемешиваемому раствору 1-(2-пиридил)пиперазина гидрохлорида (100 мг, 0,609 ммоль) и 3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (121 мг, 0,609 ммоль) в сухом ДМФА (2 мл) добавляли при комнатной температуре EDC·HCl (174 мг, 0,913 ммоль), HOBt (123 мг, 0,913 ммоль) и DIPEA (0,2 мл, 1,2 ммоль) и перемешивали в течение 16 ч (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь гасили холодной водой (20 мл), перемешивали в течение 15 мин, выпадало в осадок твердое вещество, которое собирали путем фильтрования, промывали Et_2O (2×5 мл) и сушили под вакуумом с получением 2-[3-оксо-3-[4-(2-пиридил)пиперазин-1-ил]пропил]-3H-хиназолин-4-она (55 мг, 24%) в виде белого твердого вещества.

 1 Н ЯМР [300 МГц, ДМСО-d₆] δ 12.20 (s, 1H), 8.13-8.11 (dd, J=4.8, 1.5 Гц, 1H), 8.08 (dd, J=7.8, 1.2 Гц, 1H), 7.76-7.74 (m, 1H), 7.58-7.52 (m, 2H), 7.46-7.41 (m, 1H), 6.84 (d, J=8.7 Гц, 1H), 6.68-6.64 (m, 1H), 3.62 (s, 2H), 3.59-3.51 (m, 4H), 3.46-3.46 (m, 2H), 2.89 (уш. s, 4H).

WX-MC (m/z): 364,62 [M+H]⁺.

Пример 35. Синтез 2-[3-[4-(5-метил-2-пиридил)пиперазин-1-ил]-3-оксо-пропил]-3Н-хиназолин-4-она.

Стадия 1.

К перемешиваемому раствору 2-хлор-5-метил-пиридина (500 мг, 2,68 ммоль) в толуоле (10 мл) добавляли при комнатной температуре трет-бутил пиперазин-1-карбоксилат (409 мг, 3,22 ммоль), $Pd_2(dba)_3$ (122 мг, 0,13 ммоль), BINAP (167 мг, 0,27 ммоль) и трет-BuOK (903 мг, 8,06 ммоль) и нагревали в течение 2 ч при 100°C (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь гасили водой (30 мл) и экстрагировали EtOAc (3×30 мл). Объединенные органические экстракты сушили над Na_2SO_4 , концентрировали при пониженном давлении и остаток очищали путем флэш-хроматографии (100-200 силикагель, 8 г, 30% EtOAc-гексаны) с получением трет-бутил 4-(5-метил-2-пиридил)пиперазин-1-карбоксилата (560 мг, 92%) в виде желтого масла.

Стадия 2.

К перемешиваемому раствору 1-(5-метил-2-пиридил)пиперазина (560 мг, 1,80 ммоль) в 1,4-диоксане (5 мл), охлажденному до 0°С, добавляли в атмосфере аргона 4 н. раствор HCl в диоксане (1,8 мл, 7,22 ммоль) и перемешивали в течение 3 ч (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Летучие компоненты удаляли при пониженном давлении, полученный остаток промывали Et_2O (50 мл) и сушили с выходом 1-(5-метил-2-пиридил)пиперазина гидрохлорида (350 мг, 98%) в виде белого твердого вещества.

¹Н ЯМР [300 МГц, ДМСО-d₆] δ 9.64 (уш. s, 2H), 7.95 (s, 1H), 7.85 (d, J=8.7 Гц, 1H), 7.25 (d, J=8.7 Гц, 1H), 3.90 (m, 4H), 3.22 (m, 4H), 2.22 (s, 3H).

Стадия 3.

К перемешиваемому раствору 1-(5-метил-2-пиридил)пиперазина гидрохлорида (100 мг, 0,56 ммоль) и 3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (135 мг, 0,67 ммоль) в сухом ДМФА (2 мл) добавляли при комнатной температуре EDC·HCl (161 мг, 0,84 ммоль), HOBt (114 мг, 0,84 ммоль) и DIPEA (0,2 мл, 1,1 ммоль) и перемешивали в течение 16 ч (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь гасили водой (10 мл) и экстрагировали ДХМ (3×10 мл).

Объединенные органические экстракты сушили над Na_2SO_4 , концентрировали при пониженном давлении и остаток очищали путем флэш-хроматографии (100-200 силикагель, 4 г, 5% MeOH-ДХМ) с получением соединения 2-[3-[4-(5-метил-2-пиридил)пиперазин-1-ил]-3-оксо-пропил]-3H-хиназолин-4-он (50 мг, 23%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР [400 МГц, ДМСО-d₆] δ 12.18 (s, 1H), 8.07 (dd, J=6, 0.9 Гц, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.75-7.71 (m, 1H), 7.54 (d, J=6 Гц, 1H), 7.46-7.38 (m, 2H), 6.78 (d, J=6.6 Гц, 1H), 3.62-3.61 (m, 2H), 3.59-3.51 (m, 4H), 3.39-3.38 (m, 2H), 2.88 (уш. s, 4H), 2.14 (уш. s, 3H).

XX-MC (m/z): 378,37 [M+H]⁺.

Пример 36. Синтез 2-[3-[4-(3-метил-2-пиридил)пиперазин-1-ил]-3-оксо-пропил]-3Н-хиназолин-4-она. Стадия 1.

К перемешиваемому раствору 2-хлор-3-метил-пиридина (500 мг, 2,68 ммоль) в толуоле (10 мл) добавляли при комнатной температуре трет-бутил пиперазин-1-карбоксилат (409 мг, 3,22 ммоль), $Pd(dba)_3$ (122 мг, 0,13 ммоль), $Pd(dba)_3$ мг, 0,13 ммоль), $Pd(dba)_3$ мг, 8,06 ммоль) и нагревали в течение 2 ч при 100°C (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь гасили водой (30 мл) и экстрагировали $Pd(dba)_3$ мл). Объединенные органические экстракты сушили над $Pd(dba)_3$ концентрировали при пониженном давлении, полученный остаток очищали путем флэш-хроматографии (100-200 силикагель, 8 г, 30% $Pd(dba)_3$ в виде желтого масла.

Стадия 2.

К перемешиваемому раствору трет-бутил 4-(3-метил-2-пиридил)пиперазин-1-карбоксилата (560 мг, 1,80 ммоль) в 1,4-диоксане (5 мл), охлажденному до 0°С, добавляли в атмосфере аргона 4н. раствор HCl в диоксане (1,8 мл, 7,2 ммоль). Данную реакционную смесь медленно нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 3 ч (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Летучие компоненты удаляли при пониженном давлении и остаток промывали Et_2O (50 мл) с получением 1-(3-метил-2-пиридил)пиперазина гидрохлорида (350 мг, 98%), который использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

Стадия 3.

К перемешиваемому раствору 1-(3-метилпиридин-2-ил)пиперазина гидрохлорида (100 мг, 0,46 ммоль) и 3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (135 мг, 0,67 ммоль) в сухом ДМФА (2 мл) добавляли при комнатной температуре EDC·HCl (161 мг, 0,84 ммоль), HOBt (114 мг, 0,84 ммоль) и DIPEA (0,2 мл, 1,1 ммоль) и перемешивали в течение 16 ч (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь гасили водой (10 мл) и экстрагировали EtOAc (3×10 мл). Объединенные органические экстракты сушили над Na_2SO_4 , концентрировали при пониженном давлении и полученный остаток очищали путем флэш-хроматографии (100-200 силикагель, 3 г, 5% МеOH-ДХМ) с выходом соединения 2-[3-[4-(3-метил-2-пиридил)пиперазин-1-ил]-3-оксопропил]-3H-хиназолин-4-он (50 мг, 23%) в виде белого твердого вещества.

 1 Н ЯМР [400 МГц, ДМСО-d₆] δ 12.18 (s, 1H), 8.12-8.06 (m, 2H), 7.77-7.73 (m, 1H), 7.59-7.57 (m, 1H), 7.53-7.51 (m, 1H), 7.46-7.42 (m, 1H), 6.96-6.93 (m, 1H), 3.66 (уш. s, 2H), 3.59 (уш. s, 2H), 3.11 (уш. s, 2H), 2.98 (уш. s, 2H), 2.89 (s, 4H), 2.26 (s, 3H).

XX-MC (m/z): 378,61 [M+H]⁺.

Пример 37. Синтез 2-[3-[4-(6-метил-2-пиридил)пиперазин-1-ил]-3-оксо-пропил]-3Н-хиназолин-4-она. Стадия 1.

К перемешиваемому раствору 2-хлор-6-метил-пиридина (500 мг, 2,68 ммоль) в толуоле (10 мл) добавляли при комнатной температуре трет-бутил пиперазин-1-карбоксилат (409 мг, 3,22 ммоль), $Pd_2(dba)_3$ (122 мг, 0,13 ммоль), BINAP (167 мг, 0,26 ммоль), Tet-BuOK (903 мг, 8,06 ммоль). Данную реакционную смесь нагревали в течение 2 ч при 100°C (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано), разбавляли водой (20 мл), экстрагировали EtOAc (3×30 мл). Объединенные органические экстракты сушили над Na_2SO_4 , концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного желаемого соединения, которое очищали путем флэш-хроматографии (100-200 силикагель, 8 г, 30% EtOAc-гексан) с выходом трет-бутил 4-(6-метил-2-пиридил)пиперазин-1-карбоксилата (560 мг, 75%) в виде желтого твердого вещества.

ЖХ-МС (m/z): 278,59 [M+H]⁺. Стадия 2.

К перемешиваемому раствору трет-бутил 4-(6-метил-2-пиридил)пиперазин-1-карбоксилата (560 мг, 1,80 ммоль) в 1,4-диоксане (5 мл), охлажденному до 0° С, добавляли в атмосфере аргона 4 н. раствор HCl в диоксане (1,8 мл, 7,22 ммоль). Температуру реакционной смеси медленно доводили до комнатной температуры и смесь перемешивали в течение 3 ч (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Летучие компоненты удаляли при пониженном давлении и остаток промывали Et_2O (50 мл) и EtOAc (50 мл) с получением 1-(6-метил-2-пиридил)пиперазина гидрохлорида (350 мг, 98%) в виде желтоватого твердого вещества.

ЖХ-MC (m/z): 178,48 [M+H]⁺. Стадия 3.

К перемешиваемому раствору соединения 5 (100 мг, 0,45 ммоль), 1-(6-метил-2-пиридил)пиперазина гидрохлорида (81 мг, 0,45 ммоль) в ДМФА (2 мл) добавляли EDC·HCl (131 мг, 0,68 ммоль), HOBt (92 мг, 0,68 ммоль) и DIPEA (0,16 мл, 0,91 ммоль). Данную реакционную смесь перемешивали в течение 6 ч при комнатной температуре (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано), разбавляли холодной водой (30 мл) и перемешивали в течение 10 мин, при этом выпадало в осадок твердое вещество. Данное твердое вещество собирали путем фильтрования, промывали EtOAc (3×10 мл) и сушили под вакуумом с получением 2-[3-[4-(6-метил-2-пиридил)пиперазин-1-ил]-3-оксо-пропил]-3Н-хиназолин-4-она (62 мг, 36%) в виде белого твердого вещества.

 1 H ЯМР [400 М Γ ц, ДМСО-d₆] δ 12.19 (s, 1H), 8.07 (dd, J=7.6, 1.2 Γ ц, 1H), 7.76-7.72 (m, 1H), 7.545 (d, J=8.0 Γ ц, 1H), 7.44 (t, J=7.6 Γ ц, 2H), 6.62 (d, J=8.8 Γ ц, 1H), 6.53 (d, J=7.2 Γ ц, 1H), 3.63-3.61 (m, 2H), 3.57-3.53 (m, 4H), 3.45-3.43 (m, 2H), 2.89 (s, 4H), 2.31 (s, 3H).

XX-MC (m/z): 378,57 [M+H]⁺.

Пример 38. Синтез 2-[3-[4-(4-метил-2-пиридил)пиперазин-1-ил]-3-оксо-пропил]-3Н-хиназолин-4-она. Стадия 1.

К перемешиваемому раствору 2-хлор-4-метил-пиридина (200 мг, 1,07 ммоль) в ДМСО (3 мл) добав-

ляли при комнатной температуре трет-бутил пиперазин-1-карбоксилат (161 мг, 1,29 ммоль), $Pd_2(dba)_3$ (49 мг, 0,05 ммоль), $Pd_2(dba)_3$ (49 мг, 3,22 ммоль). $Pd_2(dba)_3$ (49 мг, 3,22 ммоль), $Pd_2(dba)_3$ (49 мг, 3,22 мг

Стадия 2.

К перемешиваемому раствору трет-бутил 4-(4-метил-2-пиридил)пиперазин-1-карбоксилата (560 мг, 1,805 ммоль) в 1,4-диоксане (5 мл), охлажденному до 0°С, добавляли в атмосфере аргона 4 н. раствор НСІ в диоксане (1,8 мл, 7,220 ммоль). Данную реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 3 ч (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Летучие компоненты удаляли при пониженном давлении, остаток промывали Еt₂О (50 мл) и сушили с получением 1-(4-метил-2-пиридил)пиперазина гидрохлорида (350 мг, выход: 98%) в виде белого твердого вещества.

Стадия 3.

К перемешиваемому раствору 1-(4-метил-2-пиридил)пиперазина гидрохлорида (100 мг, 0,564 ммоль) и 3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (135 мг, 0,677 ммоль) в сухом ДМФА (2 мл) добавляли при комнатной температуре EDC·HCl (161 мг, 0,84 ммоль), HOBt (114 мг, 0,84 ммоль) и DIPEA (0,2 мл, 1,1 ммоль) и перемешивали в течение 16 ч (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь гасили водой (10 мл) и экстрагировали ДХМ (3×10 мл). Объединенные органические экстракты сушили над Na_2SO_4 , концентрировали при пониженном давлении с получением в остатке неочищенного вещества, которое очищали путем флэш-хроматографии (100-200 силикагель, 8 г, 5% MeOH-ДХМ) с выходом 2-[3-[4-(4-метил-2-пиридил)пиперазин-1-ил]-3-оксопропил]-3H-хиназолин-4-она (50 мг, 23%) в виде белого твердого вещества.

 1 Н ЯМР [400 МГц, ДМСО-d₆] δ 12.18 (s, 1H), 8.08-8.06 (d, J=9.2 Гц, 1H), 7.99-7.97 (d, J=5.2 Гц, 1H), 7.77-7.73 (m, 1H), 7.54 (d, J=8 Гц, 1H), 7.46-7.42 (m, 1H), 6.67 (s, 1H), 6.51 (d, J=5.2 Гц, 1H), 3.62-3.43 (m, 8H), 2.89 (s, 4H), 2.22 (s, 3H).

ЖХ-МС (m/z): 378,63 $[M+H]^+$.

Пример 39. Синтез 5-[4-[3-(4-оксо-3Н-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиразин-2-карбонитрила.

Стадия 1.

К перемешиваемому раствору 5-бромпиразин-2-карбонитрила (350 мг, 1,90 ммоль) в NMP (4 мл) добавляли при комнатной температуре трет-бутил пиперазин-1-карбоксилат (424 мг, 2,28 ммоль), $Pd_2(dba)_3$ (35 мг, 0,04 ммоль), X-Phos (72 мг, 0,152 ммоль) и K_2CO_3 (367 мг, 2,66 ммоль). Данную реакционную смесь нагревали в течение 20 мин при 200°С (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). После завершения реакции реакционную смесь разбавляли EtOAc (50 мл), промывали холодной водой (2×20 мл), органический слой сушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного желаемого соединения. Данное неочищенное вещество очищали путем флэш-хроматографии (100-200 силикагель, 5 г, 30% EtOAc-гексан) с получением трет-бутил 4-(5-цианопиразин-2-ил)пиперазин-1-карбоксилата (320 мг, 58%) в виде белого твердого вещества.

WX-MC (m/z): 290,61 [M+H]⁺.

К перемешиваемому раствору трет-бутил 4-(5-цианопиразин-2-ил)пиперазин-1-карбоксилата (310 мг, 1,07 ммоль) в 1,4-диоксане (4 мл), охлажденному до 0°С, добавляли 4 н. раствор НСІ в 1,4-диоксане (1,07 мл, 4,29 ммоль). Данную реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 4 ч (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Летучие компоненты удаляли под вакуумом с получением неочищенного 5-пиперазин-1-илпиразин-2-карбонитрила гидрохлорида (210 мг, количественный выход), который использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

WX-MC (m/z): 190,46 $[M+H]^+$.

Стадия 3.

К перемешиваемому раствору 3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (200 мг, 0,917 ммоль) и 5-пиперазин-1-илпиразин-2-карбонитрила гидрохлорида (208 мг, 1,10 ммоль) в ДМФА (4 мл) добавляли при комнатной температуре EDC·HCl (262 мг, 1,37 ммоль), HOBt (185 мг, 1,37 ммоль) и DIPEA (0,64 мл, 3,66 ммоль) и перемешивали в течение 4 ч (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь разбавляли холодной водой (40 мл) и экстрагировали EtOAc (3×40 мл). Объединенные органические экстракты сушили над Na₂SO₄, концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного желаемого соединения, которое очищали путем флэш-хроматографии (100-200 силикагель, 5 г, 5% МеОН-ДХМ) с выходом 5-[4-[3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиразин-2-карбонитрила (70 мг, 20%) в виде желтоватого твердого вещества.

 1 H ЯМР [400 М Γ ц, ДМСО-d₆] δ 12.19 (s, 1H), 8.58 (d, J=1.2 Γ ц, 1H), 8.43 (d, J=1.2 Γ ц, 1H), 8.07 (dd, J=1.6, 8.0 Γ ц, 1H), 7.77-7.72 (m, 1H), 7.55 (d, J=8.0 Γ ц, 1H), 7.47-7.43 (m, 1H), 3.87-3.83 (m, 2H), 3.76-3.66 (m, 4H), 3.63-3.57 (m, 2H), 2.90 (s, 4H).

XX-MC (m/z): 390,68 [M+H]⁺.

Пример 40. Синтез 2-[4-[3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]тиазол-5-карбонитрила.

Стадия 1.

Перемешиваемый раствор 2-бромтиазол-5-карбонитрила (200 мг, 1,05 ммоль), трет-бутил пиперазин-1-карбоксилата (800 мг, 4,3 ммоль), ортофосфата калия (260 мг, 1,22 ммоль), ацетата палладия (тримера) (40 мг, 0,06 ммоль), три-трет-бутилфосфина тетрафторбората (20 мг, 0,06 ммоль) в толуоле (4 мл), находящийся в пробирке для микроволновой печи, нагревали в атмосфере аргона СВЧ-излучением в течение 30 мин при 80°С (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь разбавляли водой (10 мл) и экстрагировали ЕtOAc (3×30 мл). Объединенные органические экстракты промывали солевым раствором (10 мл), сушили над Na₂SO₄ и концентрировали при пониженном давлении. Полученный неочищенный продукт очищали путем колоночной хроматографии (100-200 силикагель, 20 г, 10-30% EtOAc-гексан) с выходом трет-бутил 4-(5-цианотиазол-2-ил)пиперазин-1-карбоксилата (200 мг, 64%) в виде белого твердого вещества.

WX-MC (ESI+) (m/z): 295,60 [M+H]⁺.

Стадия 2.

К перемешиваемому раствору трет-бутил 4-(5-цианотиазол-2-ил)пиперазин-1-карбоксилата (200 г, 0,680 ммоль) в диоксане (10 мл) добавляли при комнатной температуре 4 н. раствор HCl в диоксане (5 мл) и перемешивали в течение 4 ч (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Летучие компоненты удаляли при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который промывали EtOAc (2×15 мл) и затем диэтиловым эфиром (15 мл) с выходом 2-пиперазин-1-илтиазол-5-карбонитрила гидрохлорида (155 мг, 98%) в виде белого твердого вещества.

XX-MC (ESI+) (m/z): 195,44 [M+H]⁺.

Стадия 3.

К перемешиваемому раствору 2-пиперазин-1-илтиазол-5-карбонитрила гидрохлорида (155 мг, 0,55 ммоль) в безводном ДМФА добавляли DIPEA (0,3 мл, 1,74 ммоль), 3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановую кислоту (120 мг, 0,67 ммоль) и 50% раствор ТЗР в EtOAc (0,53 мл, 0,82 ммоль), перемешивали в течение 16 ч при комнатной температуре (согласно ЖХ-МС-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь гасили ледяной водой (60 мл), экстрагировали ДХМ (2×50 мл), объединенные органические экстракты промывали солевым раствором (25 мл), сушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении. Данный неочищенный остаток очищали путем колоночной хроматографии (100-200 силикагель, 200 г, 2-5% MeOH-ДХМ) с получением 2-[4-[3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]тиазол-5-карбонитрила (50 мг, 23%) в виде бледножелтого твердого вещества.

 1 Н ЯМР [400 МГц, ДМСО-d₆] δ 12.18 (уш. s, 1H), 8.09-8.05 (m, 2H), 7.77-7.72 (m, 1H), 7.55 (d, J=8.0 Гц, 1H), 7.45 (t, J=7.2 Гц, 1H), 3.75-3.55 (m, 6H), 3.53-3.50 (m, 2H), 2.89 (s, 4H).

XX-MC (ESI+) (m/z): 395,62 [M+H]⁺.

Пример 41. Синтез 6-[4-[3-(4-оксо-3H-пиридо[4,3-d]пиримидин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила.

Стадия 1.

К перемешиваемому раствору КОН (5,82 г, 0,104 моль) в ЕtOH (80 мл) добавляли при комнатной температуре 1H-пиримидин-6-он (10 г, 0,104 моль) и затем МеI (7,20 мл, 0,114 моль). Данную реакционную смесь подвергали дефлегмации в течение 2 ч (согласно ТСХ-анализу оставалось 10-15% непрореагировавшего исходного вещества). Добавляли дополнительное количество МеI (1,5 г, 0,01 моль), смесь подвергали дефлегмации в течение 1 ч (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано) и температуру реакционной смеси медленно доводили до комнатной температуры. Затем реакционную смесь фильтровали, промывали ДХМ (100 мл) и фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали путем колоночной хроматографии (100-200 силикагель, 200 г, 2-5% МеОН-ДХМ) с выходом 3-метилпиримидин-4-она (4,5 г, 39%) в виде желтоватого твердого вещества.

ЖХ-MC (ESI+) (m/z): 111,30 [M+H]⁺. Стадия 2.

К серной кислоте (50 мл), охлажденной до 10° С, добавляли 3-метилпиримидин-4-он (5,5 г, 50,00 моль) и затем дымящуюся азотную кислоту (6,6 мл, 157,15 моль). Температуру реакционной смеси медленно доводили до комнатной температуры, смесь нагревали в течение 4 ч при 100° С (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано), реакционную смесь снова охлаждали до комнатной температуры и выливали на дробленый лед (500 г), затем медленно добавляли 50° 6-ный водный раствор гидроксида натрия до рН 5. Реакционную смесь экстрагировали CHCl $_3$ (3×250 мл), объединенные органические экстракты сушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного желаемого соединения, которое перекристаллизовывали из EtOH (15 мл) с выходом 3-метил-5-нитро-пиримидин-4-она (2 г, 26° 6) в виде желтого твердого вещества.

ЖХ-MC (ESI+) (m/z): 156,36 $[M+H]^+$. Стадия 3.

В пробирку для микроволновой печи (СЕМ) добавляли 3-метил-5-нитро-пиримидин-4-он (300 мг, 1,94 ммоль), метил ацетоацетат (2,7 г, 23,27 ммоль), ацетат аммония (1,79 г, 23,22 ммоль) и МеОН (8,0 мл) и нагревали с использованием СВЧ-излучения в течение 2 ч при 80°С (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали путем колоночной хроматографии (100-200 силикагель, 40 г, 5-10% МеОН-ДХМ) с выходом метил 4-аминопиридин-3-карбоксилата; получали 6 партий данной реакционной смеси (300 мг в каждой), полученное неочищенное вещество после выделения объединяли и очищали с выходом метил 4-аминопиридин-3-карбоксилата (900 мг, 51%) в виде желтого твердого вещества.

ЖХ-MC (ESI+) (m/z): 153,43 [M+H]⁺. Сталия 4.

NH_2
 со $_2$ Ме $^{20^{\circ}\text{C}}$ Стадия 4

К перемешиваемому раствору метил 4-аминопиридин-3-карбоксилата (2 г, 13,15 ммоль) в смеси ЕtOH-вода (120 мл, 1:1) добавляли при комнатной температуре LiOH-H₂O (1,21 г, 28,80 ммоль) и нагревали в течение 2 ч при 80°С (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Летучие компоненты удаляли при пониженном давлении с получением неочищенного желаемого соединения, которое растворяли в воде (30 мл), промывали EtOAc (2×25 мл) для удаления неполярных примесей. Водный слой подкисляли до рН 1 путем добавления 1 н. HCl и экстрагировали EtOAc (2×10 мл). Объединенные органические экстракты концентрировали при пониженном давлении с получением в остатке неочищенного вещества, которое кристаллизовали в МеОН (20 мл) с выходом 4-аминопиридин-3-карбоновой кислоты (1 г, 55%) в виде желтоватого твердого вещества.

ЖХ-MC (ESI+) (m/z): $139,31 [M+H]^+$. Стадия 5.

К перемешиваемому раствору 4-аминопиридин-3-карбоновой кислоты (3 г, 0,013 моль) в ТГФ (50 мл) добавляли при комнатной температуре $SOCl_2$ (3,6 мл, 0,045 моль) и каталитическое количество ДМФА (30 мкл) и перемешивали в течение 3 ч в атмосфере аргона (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Летучие компоненты удаляли при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который растворяли в ТГФ (30 мл), охлаждали до 0°С, и добавляли 7 н. NH_3 -метанол (22 мл). Затем реакционную смесь медленно нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 4 ч, осадок отфильтровывали, фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного желаемого соединения, которое очищали путем колоночной хроматографии (100-200 силикагель, 60 г, 10% MeOH-10% NH_4 OH-ДXM) с выходом 4-аминопиридин-3-карбоксамида (475 мг, 27%), который использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

WX-MC (ESI+) (m/z): 138,33 [M+H]⁺.

Стадия 6.

К перемешиваемому раствору 4-аминопиридин-3-карбоксамида (500 мг, 3,65 ммоль), 4-трет-бутокси-4-оксо-бутановой кислоты (762 мг, 4,38 ммоль), ТЕА (1 мл, 7,29 ммоль) в ДМФА (10 мл) добавляли при комнатной температуре 50%-ный раствор ТЗР в EtOAc (3,5 мл, 5,5 ммоль) и перемешивали в течение 12 ч (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакци-

онную смесь гасили водой (50 мл) и экстрагировали ДХМ (2×35 мл). Объединенные органические экстракты промывали солевым раствором (30 мл), сушили над Na_2SO_4 , концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали путем колоночной хроматографии (100-200 силикагель, 20 г, 10% MeOH-10% NH₄OH-ДХМ) с выходом трет-бутил 4-[(3-карбамоил-4-пиридил)амино]-4-оксо-бутаноата (500 мг, 47%) в виде желтого твердого вещества.

 1 Н ЯМР [400 МГц, CDCl₃] δ 11.74 (s, 1H), 9.07 (s, 1H), 8.69 (d, J=5.2 Гц, 1H), 8.52 (d, J=5.2 Гц, 1H), 7.11 (уш. s, 1H), 5.83 (уш. s, 1H), 2.75-2.70 (m, 2H), 2.68-2.63 (m,2H), 1.44 (s, 9H).

XX-MC (ESI+) (m/z): 316,59 [M+Na]⁺.

Стадия 7.

К перемешиваемому раствору трет-бутил 4-[(3-карбамоил-4-пиридил)амино]-4-оксо-бутаноата (900 мг, 3,071 ммоль) в ТГФ (31 мл) добавляли при 0°С воду (0,9 мл), LiOH· $\rm H_2O$ (645 мг, 15,35 ммоль). Температуру реакционной смеси медленно доводили до комнатной температуры, смесь перемешивали в течение 2 ч (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано) и экстрагировали $\rm EtOAc$ (2×30 мл). Объединенные органические экстракты промывали солевым раствором (30 мл) сущили над $\rm Na_2SO_4$, концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который промывали пентаном (2×15 мл) с выходом трет-бутил 3-(4-оксо-3H-пиридо[4,3-d]пиримидин-2-ил)пропаноата (700 мг, 83%) в виде бледно-желтого твердого вещества.

XX-MC (ESI+) (m/z): 276,48 [M+H]⁺.

Стадия 8.

К перемешиваемому раствору трет-бутил 3-(4-оксо-3H-пиридо[4,3-d]пиримидин-2-ил)пропаноата (700 мг, 2,545 ммоль) в ДХМ (26 мл) добавляли при комнатной температуре ТФУ (5,7 мл, 74,50 ммоль) и перемешивали в течение 4 ч (согласно ЖХ-МС-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Летучие компоненты удаляли при пониженном давлении, остаток подвергали дистилляции с толуолом (2×10 мл) с получением неочищенного продукта, который растирали с пентаном (2×20 мл) с выходом 3-(4-оксо-3H-пиридо[4,3-d]пиримидин-2-ил)пропановой кислоты (351 мг, 63%) в виде бледножелтого твердого вещества.

XX-MC (ESI+) (m/z): 220,42 [M+H]⁺.

Стадия 9.

К перемешиваемому раствору 3-(4-оксо-3H-пиридо[4,3-d]пиримидин-2-ил)пропановой кислоты (250 мг, 1,141 ммоль), 6-пиперазин-1-илпиридин-3-карбонитрила гидрохлорида (256 мг, 1,361 ммоль) в ДМФА (2,5 мл) добавляли DIPEA (0,4 мл, 2,325 ммоль) и 50%-ный раствор T3P в EtOAc (0,75 мл, 1,711 ммоль). Данную реакционную смесь перемешивали в течение 4 ч при комнатной температуре (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь гасили водой (25 мл), экстрагировали ДХМ (3×30 мл), объединенные органические экстракты промывали солевым раствором (10 мл) и сушили над Na_2SO_4 . Растворитель частично выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали путем колоночной хроматографии (100-200 силикагель, 10 г, 10% МеOH-5% NH₄OH-ДХМ) с выходом 6-[4-[3-(4-оксо-3H-пиридо[4,3-4]пиримидин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила (45 мг, 10%) в виде желтоватого твердого вещества.

 1 Н ЯМР [400 МГц, ДМСО-d₆] δ 12.57 (уш. s, 1H), 9.22 (s, 1H), 8.74 (d, J=5.6 Гц, 1H), 8.50 (d, J=2.0 Гц, 1H), 7.88 (dd, J=8.8, 2.0 Гц, 1H), 7.45 (d, J=5.6 Гц, 1H), 6.94 (d, J=9.2 Гц, 1H), 3.78-3.76 (m, 2H), 3.64 (t, J=4.8 Гц, 4H), 3.57-3.54 (m, 2H), 3.31 (s, 4H).

WX-MC (ESI+) (m/z): 390,63 [M+H]⁺.

Пример 42. Синтез 6-[4-[3-(4-оксо-3H-пиридо[2,3-d]пиримидин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила.

Стадия 1.

Раствор DIPEA (4,16 мл, 29,3 ммоль) в сухом ТГФ (60 мл) охлаждали до -78°C в бане сухой ледацетон. Добавляли по каплям при -78°C н-ВиLi в гексанах (1,6 М, 18,3 мл, 29,3 ммоль) и перемешивали в течение 30 мин. В реакционную колбу добавляли по каплям бензилацетат (3,8 мл, 26,6 ммоль) в сухом ТГФ (30 мл), поддерживая температуру ниже -78°C. После завершения добавления колбу переносили в баню сухой лед- $\rm Et_2O$ и реакционную смесь перемешивали до тех пор, пока температура не опускалась ниже -90°C. К полученному раствору добавляли по каплям трет-бутил 2-бромацетат (5,9 мл, 40,0 ммоль) в ТГФ (30 мл) и перемешивали в течение 1 ч при -90°C. Затем реакционную смесь гасили путем медленного добавления воды (100 мл), нагревали до комнатной температуры и экстрагировали $\rm Et_2O$ (2×150 мл). Объединенные органические экстракты сушили над $\rm Na_2SO_4$, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением в остатке неочищенного вещества, которое очищали путем колоночной хроматографии (100-200 силикагель, 60 г, 5% $\rm EtOAc$ -гексан) с выходом бензил трет-бутил бутандиоата (2,3 г, 27%) в виде бледно-желтого масла.

XX-MC (m/z): 287,6 [M+Na]⁺.

Стадия 2.

$$Ph$$
 О $\frac{\text{O}^{t}\text{Bu}}{3}$ $\frac{\text{Pd-C, H}_{2}, \text{ TГ\Phi,}}{\text{Стадия 2}}$ $\frac{\text{O}^{t}\text{Bu}}{4}$ $\frac{\text{O}^{t}\text{Bu}}{4}$

К перемешиваемому раствору бензил трет-бутил бутандиоата $(2,3\,\mathrm{r},\,8,71\,\mathrm{ммоль})$ в сухом ТГФ $(30\,\mathrm{мл})$ добавляли 10% Pd-C $(0,23\,\mathrm{r})$ и перемешивали в атмосфере H_2 (баллон) в течение $16\,\mathrm{u}$ (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь фильтровали через диатомовую землю (Celite) и промывали CHCl₃ $(100\,\mathrm{мл})$. Фильтрат концентрировали под вакуумом, полученный неочищенный остаток очищали путем колоночной хроматографии $(100\text{-}200\,\mathrm{силика-гель},\,30\,\mathrm{r},\,35\%\,$ EtOAc-гексан) с выходом 4-трет-бутокси-4-оксо-бутановой кислоты $(0,8\,\mathrm{r},\,52\%)$ в виде беспветного масла.

 1 Н ЯМР [400 МГц, CDCl $_{3}$] δ 2.65-2.61 (m, 2H), 2.56-2.52 (m, 2H), 1.44 (s, 9H). Стадия 3.

К перемешиваемому раствору 2-аминопиридин-3-карбоновой кислоты $(0.9\ r,\ 6.52\ \text{ммоль})$ в ТГФ $(15\ \text{мл})$, добавляли EDC·HCl $(1.86\ r,\ 9.78\ \text{ммоль})$, HOBt·NH $_3$ $(1.46\ r,\ 9.78\ \text{ммоль})$ и DIPEA $(4.67\ \text{мл},\ 26.08\ \text{ммоль})$ при комнатной температуре. Данную реакционную смесь перемешивали в течение 5 ч при комнатной температуре (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано), разбавляли водой $(30\ \text{мл})$ и экстрагировали EtOAc $(3\times75\ \text{мл})$. Объединенные органические экстракты промывали холодной водой $(2\times40\ \text{мл})$, солевым раствором $(40\ \text{мл})$, отделяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении с получением в остатке неочищенного вещества, которое очищали путем колоночной хроматографии $(100\text{-}200\ \text{силикагель},\ 20\ \text{г},\ 60\%$ EtOAc-гексан) с выходом 2-аминопиридин-3-карбоксамида $(0.4\ \text{r},\ 45\%)$ в виде белого твердого вещества.

WX-MC (m/z): 138,3 [M+H]⁺.

Стадия 4.

К перемешиваемому раствору 2-аминопиридин-3-карбоксамида $(0,35\ \Gamma,\ 2,55\ \text{ммоль})$ в ДМФА $(15\ \text{мл})$ добавляли при комнатной температуре 4-трет-бутокси-4-оксо-бутановую кислоту $(0,66\ \Gamma,$

3,83 ммоль), НАТU (1,45 г, 3,83 ммоль) и $\rm Et_3N$ (0,7 мл, 5,04 ммоль). Полученную реакционную смесь перемешивали в течение 24 ч при 60°С (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь разбавляли водой (30 мл) и экстрагировали $\rm EtOAc$ (3×50 мл). Объединенные органические экстракты промывали холодной водой (2×30 мл), солевым раствором (30 мл), сушили над $\rm Na_2SO_4$ и концентрировали при пониженном давлении с получением в остатке неочищенного вещества, которое очищали путем колоночной хроматографии (100-200 силикагель, 10 г, 2% MeOH-ДХМ) с выходом трет-бутил 4-[(3-карбамоил-2-пиридил)амино]-4-оксо-бутаноата (0,22 г, 26%) в виде бледножелтого твердого вещества.

ЖХ-МС (m/z): 294,6 [M+H]⁺. Стадия 5.

К перемешиваемому раствору трет-бутил 4-[(3-карбамоил-2-пиридил)амино]-4-оксо-бутаноата $(0,22~\mathrm{r},0,75~\mathrm{mmoль})$ в смеси ТГФ (8 мл) и воды $(0,3~\mathrm{mn})$ при 0°С добавляли LiOH·H₂O $(0,16~\mathrm{r},3,88~\mathrm{mmoль})$. Температуру реакционной смеси доводили до комнатной температуры, смесь перемешивали в течение 6 ч (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано), разбавляли водой $(10~\mathrm{mn})$ и экстрагировали EtOAc $(2\times75~\mathrm{mn})$. Объединенные органические экстракты промывали солевым раствором $(20~\mathrm{mn})$, сушили над $\mathrm{Na}_2\mathrm{SO}_4$ и концентрировали при пониженном давлении с получением трет-бутил 3-(4-оксо-3H-пиридо[2,3-d]пиримидин-2-ил)пропаноата $(140~\mathrm{mr}, 63\%)$ в виде бледно-желтого твер-дого вещества.

ЖХ-МС (m/z): 276,4 [M+H]⁺. Стадия 6.

К перемешиваемому раствору трет-бутил 3-(4-оксо-3H-пиридо[2,3-d]пиримидин-2-ил)пропаноата (0,14 г, 0,50 ммоль) в ДХМ (5 мл) добавляли при комнатной температуре ТФУ (1,1 мл, 15,0 ммоль) и перемешивали в течение 3 ч (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением 3-(4-оксо-3H-пиридо[2,3-d]пиримидин-2-ил)пропановой кислоты в виде соли трифторуксусной кислоты (0,14 г, 75%), которую использовали на следующей стадии без дополнительной очистки, в виде бледно-желтой жидкости.

ЖХ-МС (m/z): 220,3 [M+H]⁺. Стадия 7.

К перемешиваемому раствору 3-(4-оксо-3H-пиридо[2,3-d]пиримидин-2-ил)пропановой кислоты в виде соли трифторуксусной кислоты (0,087 г, 0,39 ммоль) и 6-пиперазин-1-илпиридин-3-карбонитрила гидрохлорида (0,133 г, 0,59 ммоль) в ДМФА (4 мл) добавляли при комнатной температуре DIPEA (0,14 мл, 0,79 ммоль) и 50%-ный раствор 13Р в 14 ЕtOAc (0,15 мл, 0,18 ммоль) и перемешивали в течение 19 ч (согласно 110 мл) и экстрагировали ДХМ (110 мл). Объединенные органические экстракты промывали солевым раствором (110 мл), сушили над 110 мг, 120 и концентрировали 121 получением неочищенного продукта (120 мг, 124% согласно 124 жх-мС), который подвергали препаративной очистке 125 выходом 126-13-(14-оксо-13H-пиридо[13,14] пиримидин-12-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-13-карбонитрила (129 мг, 138%) в виде белого твердого вещества.

 1 Н ЯМР [400 МГц, ДМСО-d₆] δ 12.49 (уш. s, 1H), 8.86 (dd, J=4.0, 1.6 Гц, 1H), 8.50 (d, J=2.4 Гц, 1H), 8.45 (dd, J=7.6, 1.6 Гц, 1H), 7.88 (dd, J=8.8, 2.0 Гц, 1H), 7.47 (dd, J=8.0, 4.8 Гц, 1H), 6.94 (d, J=9.2 Гц, 1H), 3.83-3.77 (m, 2H), 3.69-3.62 (m, 4H), 3.58-3.53 (m, 2H), 2.93 (s, 4H).

ЖХ-МС (m/z): 390,67 [M+H]⁺.

Пример 43. Синтез 6-[4-[3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)бутаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила.

Стадия 1.

Порошкообразный КОН (6,0 г, 0,10 моль) добавляли к раствору 3-метилтетрагидрофуран-2-она (2,0 г, 0,02 моль) и бензилбромида (14,0 г, 0,08 моль) в толуоле (36 мл). Полученную реакционную смесь перемешивали в течение 5 ч при 110° С и толуол удаляли под вакуумом с получением в остатке неочищенного вещества, которое растворяли в MeOH (40 мл). К полученному раствору добавляли КОН (2,0 г, 0,035 моль) и воду (20 мл) и данную реакционную смесь подвергали дефлегмации в течение 16 ч. Температуру реакционной смеси доводили до комнатной температуры, смесь промывали Et_2O (2×50 мл), водный слой подкисляли до pH 2-3 концентрированной HCl и смесь экстрагировали ДХМ (3×50 мл). Объединенные органические экстракты сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали под вакуумом с получением 4-бензилокси-2-метил-бутановой кислоты (3,4 г, 81%) в виде бледно-желтого масла.

 1 Н ЯМР [400 МГц, CDCl₃] δ 7.37-7.26 (m, 5H), 4.53-4.50 (m, 2H), 3.54 (t, J=6.4 Гц, 2H), 2.73-2.64 (m, 1H), 2.09-2.00 (m, 1H), 1.76-1.68 (m, 1H), 1.21 (d, J=7.2 Гц, 3H).

Стадия 2.

К перемешиваемому раствору 2-аминобензамида $(0,3~\mathrm{r},2,20~\mathrm{ммоль})$ в ДМФА $(5~\mathrm{mn})$ добавляли при комнатной температуре 4-бензилокси-2-метил-бутановую кислоту $(0,59~\mathrm{r},2,83~\mathrm{ммоль})$, НАТИ $(1,25~\mathrm{r},3,28~\mathrm{ммоль})$ и $\mathrm{Et}_3\mathrm{N}$ $(0,61~\mathrm{mn},4,35~\mathrm{ммоль})$. Полученную реакционную смесь перемешивали в течение 6 ч при $80^{\circ}\mathrm{C}$ (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь разбавляли водой $(30~\mathrm{mn})$ и экстрагировали EtOAc $(3\times50~\mathrm{mn})$. Объединенные органические экстракты промывали холодной водой $(2\times30~\mathrm{mn})$, солевым раствором $(30~\mathrm{mn})$, сушили над $\mathrm{Na}_2\mathrm{SO}_4$ и концентрировали при пониженном давлении с получением в остатке неочищенного вещества, которое очищали путем колоночной хроматографии $(100\text{-}200~\mathrm{силикагель},\ 20~\mathrm{r},\ 30\%~\mathrm{EtOAc}$ -гексаны) с выходом 2-[(4-бензилокси-2-метил-бутаноил)амино]бензамида $(0,63~\mathrm{r},\ 79\%)$ в виде бесцветной жидкости.

XX-MC (m/z): 327,6 [M+H]⁺.

Стадия 3.

2-[(4-Бензилокси-2-метил-бутаноил)амино]бензамид (0,63 г, 1,93 ммоль) в 2 н. водном растворе NaOH (12 мл) перемешивали в течение 3 ч при 100°С (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь охлаждали до 0°С, подкисляли до рН 3-4 2 н. водным раствором HCl и экстрагировали EtOAc (3×50 мл). Объединенные органические экстракты промывали солевым раствором (30 мл), сушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении с получением 2-(3-бензилокси-1-метил-пропил)-3H-хиназолин-4-она (450 мг, 67%), который использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

ЖХ-МС (m/z): 309,5 [M+H]⁺.

Стадия 4.

К перемешиваемому раствору 2-(3-бензилокси-1-метил-пропил)-3H-хиназолин-4-она (0,55 г, 1,78 ммоль) в ТГФ (15 мл) добавляли в качестве катализатора 10% Pd-C (50%-ная влажность, 1,0 г) и перемешивали в атмосфере H_2 (баллон) в течение 5 ч (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь фильтровали через диатомовую землю (Celite) и промывали ТГФ (30 мл). Фильтрат концентрировали под вакуумом с получением 2-(3-гидрокси-1-метил-пропил)-3H-хиназолин-4-она (0,3 г, 78%) в виде желтоватого твердого вещества.

WX-MC (m/z): 219,49 [M+H]⁺.

Стадия 5.

К перемешиваемому раствору 2-(3-гидрокси-1-метил-пропил)-3H-хиназолин-4-она $(0,40~\rm f,1,83~\rm mmoль)$ в ДХМ $(25~\rm mn)$, охлажденному до 0° С, добавляли периодинан Десса-Мартина $(0,85~\rm f,2,00~\rm mmoль)$. Данную реакционную смесь медленно нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 5 ч (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь гасили насыщенным водным раствором $Na_2S_2O_3$ и экстрагировали EtOAc $(2\times30~\rm mn)$. Объединенные органические экстракты промывали солевым раствором $(25~\rm mn)$, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали под вакуумом с получением в остатке неочищенного вещества, которое очищали путем колоночной хроматографии на силикагеле $(100-200~\rm силикагель, 10~\rm f, 15\%~EtOAc$ -гексан) с выходом 3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)бутанала $(220~\rm mf, 56\%)$ в виде белого твердого вещества.

XX-MC (m/z): 217,5 [M+H]⁺.

Стадия 6.

К перемешиваемому раствору 3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)бутанала $(0,20\ \Gamma,\ 0,92\ \text{ммоль})$ в ТГФ $(10\ \text{мл})$ при 5°С добавляли трет-ВиОН $(5\ \text{мл})$, воду $(1,5\ \text{мл})$ и 2-метил-2-бутен $(0,51\ \Gamma,\ 7,28\ \text{ммоль})$ и затем NaClO $_2$ $(0,25\ \Gamma,\ 2,77\ \text{ммоль})$ и NaH $_2$ PO $_4$ ·H $_2$ O $(0,43\ \Gamma,\ 2,75\ \text{ммоль})$. Температуру реакционной смеси медленно доводили до комнатной температуры, смесь перемешивали в течение $12\ \text{ч}$, разбавляли водой $(15\ \text{мл})$ и экстрагировали EtOAc $(2\times30\ \text{мл})$. Объединенные органические экстракты промывали солевым раствором $(25\ \text{мл})$, сушили над Na $_2$ SO $_4$ и концентрировали под вакуумом с получением в остатке неочищенного вещества, которое очищали путем колоночной хроматографии $(100\text{-}200\ \text{силикагель},\ 10\ \Gamma,\ 10\%\ \text{МеOH-ДXM})$ с выходом 3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)бутановой кислоты $(150\ \text{мг},\ 52\%)$, которую использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

XX-MC (m/z): 233,4 [M+H]⁺.

Стадия 7.

К перемешиваемому раствору 3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)бутановой кислоты $(0,15\ \Gamma,\,0,64\ \text{ммоль})$ и 6-пиперазин-1-илпиридин-3-карбонитрила $(0,15\ \Gamma,\,0,71\ \text{ммоль})$ в ДМФА $(5\ \text{мл})$ добавляли в атмосфере аргона EDC·HCl $(0,18\ \Gamma,\,0,96\ \text{ммоль})$, HOBt $(0,13\ \Gamma,\,0,96\ \text{ммоль})$ и DIPEA $(0,34\ \text{мл},\,1,93\ \text{ммоль})$ и перемешивали в течение 8 ч при комнатной температуре (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Летучие компоненты удаляли при пониженном давлении и остаток разбавляли водой $(30\ \text{мл})$ и экстрагировали EtOAc $(3\times50\ \text{мл})$. Объединенные органические экстракты промывали холодной водой $(2\times25\ \text{мл})$, солевым раствором $(20\ \text{мл})$, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении с получением в остатке неочищенного вещества $(100\ \text{мг},\ 71\%\ \text{ЖX-MC})$, которое подвергали препаративной очистке с выходом $6\text{-}[4\text{-}[3\text{-}(4\text{-okco-}3\text{H-хиназолин-}2\text{-ил})бутаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила <math>(28\ \text{мг},\ 9\%)$ в виде белого твердого вещества.

 1 H ЯМР [400 М Γ ц, ДМСО-d₆] δ 12.19 (уш. s, 1H), 8.50 (d, J=2.4 Γ ц, 1H), 8.06 (d, J=7.6 Γ ц, 1H), 7.87 (dd, J=8.8, 2.4 Γ ц, 1H), 7.75-7.70 (m, 1H), 7.53 (d, J=8.0 Γ ц, 1H), 7.43 (t, J=8.0 Γ ц, 1H), 6.92 (d, J=9.2 Γ ц, 1H), 3.76-3.66 (m, 4H), 3.62-3.51 (m, 4H), 3.25-3.08 (m, 2H), 2.64-2.59 (m, 1H), 1.26 (d, J=7.2 Γ ц, 3H).

XX-MC (m/z): 403,7 [M+H]⁺.

Пример 44. Синтез 6-[(3S)-4-[3-(5,6-дифтор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил) пропаноил]-3-метил-пиперазин-1-ил] пиридин-3-карбонитрила.

Стадия 1.

К 3,4-дифторанилину (5,5 г, 25,2 ммоль) в сухом ТГФ (45 мл) добавляли ди-трет-бутил дикарбонат (3,0 г, 23,2 ммоль) и полученную реакционную смесь перемешивали в течение 12 ч при комнатной температуре (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Летучие компоненты удаляли при пониженном давлении и остаток промывали гексанами (15 мл). Полученное белое твердое вещество сушили в условиях глубокого вакуума с выходом трет-бутил N-(3,4-дифторфенил)карбамата (5 г, 93%), который использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

¹H ЯМР [400 МГц, CDCl₃] δ 7.45-7.40 (m, 1H), 7.08-7.01 (m, 1H), 6.92-6.89 (m, 1H), 6.45 (уш. s, 1H), 1.51 (s, 9H).

ЖХ-МС (m/z): 174,4 [M+H-56]⁺. Стадия 2.

К перемешиваемому раствору трет-бутил N-(3,4-дифторфенил)карбамата (1 г, 4,36 ммоль) в ТГФ (30 мл) при -78°С добавляли по каплям трет-ВиLi (7,54 мл, 9,82 ммоль), и перемешивали в течение 3 ч. Этил хлорформиат (0,48 г, 5,1 ммоль) медленно добавляли к реакционной смеси при -78°С и перемешивали в течение 1 ч (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Температуру реакционной смеси доводили до 0°С, смесь обрабатывали насыщенным водным раствором хлорида аммония (24 мл) в течение 10 мин, затем нагревали до комнатной температуры и разбавляли ЕtOAc (100 мл) и водой (50 мл). Слои разделяли и водную фазу экстрагировали EtOAc (2×30 мл). Объединенные органические экстракты промывали солевым раствором (50 мл), сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением в остатке неочищенного вещества, которое очищали путем колоночной хроматографии (100-200 силикагель, 20 г, 2% EtOAc-гексан) с выходом этил 6-(трет-бутоксикарбониламино)-2,3-дифтор-бензоата (0,5 г, 38%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР [400 МГц, CDCl₃] δ 9.44 (уш. s, 1H), 8.11-8.08 (m, 1H), 7.30-7.23 (m, 1H), 4.45 (q, J=6.8 Гц, 2H), 1.51 (s, 9H), 1.41 (t, J=7.2 Гц, 3H).

ЖХ-МС (m/z): 202,4 [M+H-100]⁺. Стадия 3.

К перемешиваемому раствору этил 6-(трет-бутоксикарбониламино)-2,3-дифтор-бензоата (0,5 г, 1,66 ммоль) в ДХМ (14 мл) добавляли по каплям при комнатной температуре ТФУ (2,27 мл) и перемешивали в течение 12 ч (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением этил 6-амино-2,3-дифторбензоата (0,43 г, 89%), который использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

XX-MC (m/z): 202,3 [M+H]⁺.

Стадия 4.

К перемешиваемому раствору этил 6-амино-2,3-дифтор-бензоата $(0,43\ \Gamma,\ 1,44\ \text{ммоль})$ в смеси ТГФ: H_2O (2:1, 15 мл) добавляли LiOH· H_2O (0,46 г, 14,3 ммоль). Полученную реакционную смесь перемешивали в течение 18 ч при комнатной температуре (согласно TCX-анализу исходное вещество было

полностью израсходовано), подкисляли до pH 4-5 путем добавления 1 н. HCl и экстрагировали EtOAc (50 мл). Органический слой отделяли, сушили над безводным Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении с получением 6-амино-2,3-дифтор-бензойной кислоты (0,2 г, 80%), которую использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

XX-MC (m/z): 174,39 [M+H]⁺.

Стадия 5.

К перемешиваемому раствору 6-амино-2,3-дифтор-бензойной кислоты $(0,7\,\mathrm{r},4,0\,\mathrm{ммоль})$ в ТГФ (15 мл) добавляли в атмосфере аргона EDC·HCl (1,15 г, 6,0 ммоль), HOBt·NH $_3$ (0,91 г, 6,0 ммоль) и DIPEA (2,17 мл, 12,0 ммоль) и перемешивали в течение 6 ч при комнатной температуре (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Летучие компоненты удаляли при пониженном давлении и остаток разбавляли холодной водой (40 мл) и EtOAc (100 мл). Органический слой отделяли, промывали холодной водой (2×20 мл), солевым раствором (2×20 мл), сушили над Na $_2$ SO $_4$ и концентрировали при пониженном давлении с получением в остатке неочищенного вещества, которое очищали путем колоночной хроматографии (100-200 силикагель, 20 г, 25% EtOAc-гексан) с выходом 6-амино-2,3-дифтор-бензамида (0,45 г, 65%) в виде белого твердого вещества.

ЖХ-МС (m/z): 173,4 [M+H]⁺.

Стадия 6.

К перемешиваемому раствору 6-амино-2,3-дифтор-бензамида (0,45 г, 2,61 ммоль) в АсОН (4,5 мл), при комнатной температуре, добавляли янтарный ангидрид (0,31 г, 3,13 ммоль) и перемешивали в течение 3 ч при комнатной температуре (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь вливали в охлажденную до 0°С воду (10 мл) и перемешивали в течение 30 мин при комнатной температуре. Выпавшее в осадок твердое вещество собирали путем фильтрования, промывали водой (10 мл), холодным ацетоном (5 мл) и сушили в условиях глубокого вакуума с получением 4-(2-карбамоил-3,4-дифтор-анилино)-4-оксо-бутановой кислоты (500 мг, 70%), которую использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

ЖХ-МС (m/z): 273,5 $[M+H]^+$.

Стадия 7.

4-(2-Карбамоил-3,4-дифтор-анилино)-4-оксо-бутановую кислоту (0,50 г, 1,83 ммоль) в 2 н. водном растворе NaOH (5 мл) перемешивали в течение 3 ч при 100°С (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь охлаждали до 0°С и подкисляли до рН 3-4 2 н. водным раствором HCl, при этом выпадало в осадок белое твердое вещество. Данную суспензию перемешивали в течение 30 мин при 0°С, фильтровали, промывали водой (10 мл), холодным ацетоном (2 мл) и сушили в условиях глубокого вакуума с получением 3-(5,6-дифтор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (300 мг, 65%), которую использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

XX-MC (m/z): 255,46 [M+H]⁺.

Стадия 8.

$$_{\text{CI}}$$
 $_{\text{NH}}$ $_{\frac{1}{2}}$ $_{\text{Стадия 8}}^{\text{K}_2\text{CO}_3, DMA, 60°C,}}$ $_{\text{HN}}$ $_{\frac{1}{2}}$ $_{\text{Стадия 8}}$ $_{\text{HN}}$ $_{\frac{1}{2}}$

К перемешиваемому раствору (2S)-2-метилпиперазина (0,30 г, 2,1 ммоль) в DMA (6 мл) добавляли 6-хлорпиридин-3-карбонитрил (0,29 г, 2,3 ммоль) и K_2CO_3 . Полученную реакционную смесь нагревали до 60°C в течение 2 ч (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь разбавляли холодной водой (20 мл) и экстрагировали EtOAc (3×25 мл). Объединенные органические экстракты промывали холодной водой (20 мл) и солевым раствором (2×20 мл). Органический слой отделяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении с получением в остатке неочищенного вещества, которое очищали путем колоночной хроматографии (100-200 силикагель, 10 г, 10% MeOH-ДХМ) с выходом 6-[(3S)-3-метилпиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила (0,29 г, 67%) в виде желтоватого твердого вещества.

ЖХ-MC (m/z): 203,4 [M+H]⁺. Стадия 9.

К перемешиваемому раствору 3-(5,6-дифтор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (0,25 г, 1,0 ммоль) и 6-[(3,5)-3-метилпиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрила (0,19 г, 1,0 ммоль) в ДМФА (5 мл) добавляли в атмосфере аргона EDC·HCl (0,28 г, 1,4 ммоль), HOBt (0,22 г, 1,4 ммоль) и DIPEA (0,5 мл, 2,9 ммоль) и перемешивали в течение 24 ч при комнатной температуре (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Летучие компоненты удаляли при пониженном давлении и остаток разбавляли ледяной водой (30 мл) и EtOAc (50 мл). Органический слой отделяли, промывали ледяной водой (2×15 мл), солевым раствором (2×15 мл), сушили над 10 Na10 концентрировали при пониженном давлении с получением в остатке неочищенного вещества (100 мг, 100 м

 1 H ЯМР [400 МГц, CDCl₃] δ 12.33 (уш. s, 1H), 8.48 (d, J=2.4 Гц, 1H), 7.86 (dd, J=9.2, 2.4 Γц, 1H), 7.84-7.76 (m, 1H), 7.39-7.33 (m, 1H), 6.95-6.91 (m, 1H), 4.55-4.34 (m, 1H), 4.30-3.86 (m, 3H), 3.49-3.42 (m, 1H), 3.23-3.15 (m, 1H), 3.05-2.94 (m, 1H), 2.89-2.78 (m, 4H), 1.20-0.98 (m, 3H). ЖХ-МС (m/z): 439,1 [M+H] $^{+}$.

Пример 45. Синтез 2-[4-[3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиримидин-5-карбонитрила.

Стадия 1.

$$Br$$
 1 2 K_2CO_3 , 1,4-диоксан, 2 дефлегмация, 4 ч Стадия 1 Roc 1 Roc 3

К раствору 5-бром-2-хлор-пиримидина $(0,5\ \Gamma,2,58\ \text{ммоль})$ в 1,4-диоксане $(20\ \text{мл})$ добавляли при комнатной температуре трет-бутил пиперазин-1-карбоксилат $(0,722\ \Gamma,3,88\ \text{ммоль})$ и $K_2\text{CO}_3$ $(0,713\ \Gamma,5,17\ \text{ммоль})$. Данную реакционную смесь подвергали дефлегмации в течение 4 ч (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Температуру реакционной смеси доводили до комнатной температуры, смесь разбавляли водой $(20\ \text{мл})$ и экстрагировали EtOAc $(3\times50\ \text{мл})$. Объединенные органические экстракты промывали водой $(2\times40\ \text{мл})$, солевым раствором $(1\times40\ \text{мл})$, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток дополнительно очищали путем колоночной хроматографии $(100\text{-}200\ \text{силикагель},\ 15\ \Gamma,\ 10\%\ \text{EtOAc-гексан})$ с выходом трет-бутил 4-(5-6ромпиримидин-2-ил)пиперазин-1-карбоксилата $(0,7\ \Gamma,78\%)$ в виде белого твердого вещества.

 1 Н ЯМР [400 МГц, CDCl₃] δ 8.29 (s, 2H), 3.75 (t, J=4.8 Гц, 4H), 3.47 (t, J=5.2 Гц, 4H), 1.47 (s, 9H). ЖХ-МС (m/z): 287,44 [M-tBu] $^{+}$.

К перемешиваемому раствору трет-бутил 4-(5-бромпиримидин-2-ил)пиперазин-1-карбоксилата (500 мг, 1,46 ммоль) в ДМФА (15 мл) добавляли при комнатной температуре $Zn(CN)_2$ (513 мг, 4,37 ммоль) и X-phos (84 мг, 0,15 ммоль). Данную реакционную смесь дегазировали с использованием газообразного аргона в течение 20 мин, затем добавляли $Pd(PPh_3)_4$ (168 мг, 0,15 ммоль) и нагревали в течение 18 ч при $100^{\circ}C$ (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Температуру реакционной смеси медленно доводили до комнатной температуры, смесь разбавляли водой (20 мл) и экстрагировали EtOAc (3×100 мл). Объединенные органические экстракты промывали водой (2×40 мл), солевым раствором (1×40 мл), сушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного вещества. Данное неочищенное вещество очищали путем колоночной хроматографии (100-200 силикагель, 12 г, 10% EtOAc-гексан) с получением трет-бутил 4-(5-цианопиримидин-2-ил)пиперазин-1-карбоксилата (300 мг, 71%) в виде белого твердого вещества.

XX-MC (m/z): 290,49 [M+H]⁺.

Стадия 3.

К перемешиваемому раствору трет-бутил 4-(5-цианопиримидин-2-ил)пиперазин-1-карбоксилата (300 мг, 0,5 ммоль) в ДХМ (5 мл) при 0°С добавляли 4 н. раствор НС1 в диоксане (5 мл). Данную реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 4 ч (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением в остатке неочищенного вещества, которое промывали E_2O (5 мл) и сушили под вакуумом с выходом 2-пиперазин-1-илпиримидин-5-карбонитрила гидрохлорида (200 мг, 80%) в виде белого твердого вещества.

XX-MC (m/z): 190,46 [M+H]⁺.

Стадия 4.

К перемешиваемому раствору 2-пиперазин-1-илпиримидин-5-карбонитрила гидрохлорида (130 мг, 0,69 ммоль) и 3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (100 мг, 0,46 ммоль) в ДМФА (2 мл) добавляли при комнатной температуре DIPEA (0,3 мл, 1,38 ммоль) и 7 (291 мг, 0,92 ммоль) и перемешивали в течение 8 ч (согласно 7 СХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь гасили водой (10 мл) и экстрагировали 10 СОБъединенные органические экстракты промывали холодной водой (10 мл), солевым раствором (10 мл), сушили над 10 Концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Данный неочищенный остаток очищали путем колоночной хроматографии (100-200 силикагель, 10 г, 10 меОН-ДХМ) с получением 10 г. 10 мг, 10 в виде белого твердого вещества.

 1 H ЯМР [400 МГц, ДМСО-d₆] δ 12.20 (s, 1H), 8.79 (s, 2H), 8.06 (dd, J=7.6, 1.2 Гц, 1H), 7.78-7.73 (m, 1H), 7.57 (d, J=8.0 Γц, 1H), 7.47-7.43 (m, 1H), 3.93 (t, J=4.4 Γц, 2H), 3.81 (t, J=4.4 Γц, 2H), 3.66 (t, J=4.8 Γц, 2H), 3.57 (t, J=5.6 Γц, 2H), 2.90 (s, 4H).

KX-MC (m/z): 390,67 [M+H]⁺.

Пример 46. Синтез 2-метил-5-[4-[3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиразол-3-карбонитрила.

Стадия 1.

К раствору диметил бут-2-индиоата (8 г, 0,05 ммоль) в MeOH (80 мл), H_2O (40 мл) добавляли Et_3N (17,3 мл, 0,12 моль) и перемешивали в течение 30 мин при комнатной температуре. Добавляли метилгидразина сульфат (8,92 г, 61,9 моль) и данную реакционную смесь перемешивали в течение 22 ч при 70°С. Полученный раствор выдерживали в течение ночи при комнатной температуре и образовавшееся твердое вещество собирали путем фильтрования, сушили в условиях глубокого вакуума с выходом метил 5-гидрокси-2-метил-пиразол-3-карбоксилата (3,5 г, 40%) в виде бледно-коричневого твердого вещества.

ЖХ-МС (m/z): 157,3 [M+H]⁺.

Стадия 2.

К перемешиваемому раствору метил 5-гидрокси-2-метил-пиразол-3-карбоксилата (0,3 г, 1,92 ммоль) в ДХМ (30 мл) при 0°С добавляли по каплям пиридин (0,18 г, 2,30 ммоль) и затем Tf_2O (0,59 г, 2,11 ммоль). Данную реакционную смесь медленно нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 2 ч (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь медленно разбавляли водой (15 мл) и экстрагировали ДХМ (2×30 мл). Объединенные органические экстракты промывали солевым раствором (25 мл), сушили над Na₂SO₄ и концентрировали при пониженном давлении c получением метил 2-метил-5-(трифторметилсульфонилокси)пиразол-3-карбоксилата (580 мг, 93%), который использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

XX-MC (m/z): 289,4 [M+H]⁺.

Стадия 3.

В герметично закрываемую пробирку вносили метил 2-метил-5-(трифторметилсульфонилокси)пиразол-3-карбоксилат (1,7 г, 5,90 ммоль), бис(пинаколато)дибор (1,64 г, 6,48 ммоль), КОАс (1,73 г, 17,6 ммоль) в 1,4-диоксане (40 мл) и данную смесь дегазировали в атмосфере N_2 в течение 15 мин. Добавляли dppf (0,15 г, 0,29 ммоль) и PdCl₂(dppf)·CH₂Cl₂ (0,24 г, 0,29 ммоль) и смесь снова дегазировали в атмосфере N_2 дополнительно в течение 10 мин. Полученную реакционную смесь перемешивали в течение 4 ч при 90°C (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано), разбавляли толуолом (30 мл), водой (20 мл) и фильтровали через подушку диатомовой земли (Celite)®. Подушку диатомовой земли (Celite) промывали толуолом (50 мл), объединенные органические слои, полученные в результате промывания, отделяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении с получением в остатке неочищенного вещества, которое растирали с пентаном (70 мл) и фильтровали. Пентановый слой концентрировали при пониженном давлении с получением (5-метоксикарбонил-1-метил-пиразол-3-ил)бороновой кислоты (1 г, 92%) в виде бледно-желтого твердого вещества.

XX-MC (m/z): 185,5 [M+H]⁺.

Стадия 4.

К перемешиваемому раствору (5-метоксикарбонил-1-метил-пиразол-3-ил)бороновой кислоты (1,05 г, 5,64 ммоль) и N-Вос-пиперазина (0,8 г, 4,34 ммоль) в ДХМ (20 мл) при комнатной температуре добавляли пиридин (1,03 г, 13,03 ммоль), молекулярные сита 4 Å и $Cu(OAc)_2$ (1,57 г, 8,67 ммоль). Данную реакционную смесь перемешивали в атмосфере O_2 (баллон под давлением) в течение 14 ч при комнатной температуре (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь разбавляли водой (10 мл) и экстрагировали ДХМ (2×30 мл). Объединенные органические экстракты промывали солевым раствором (20 мл), сушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении с получением в остатке неочищенного вещества (чистота 41%), которое очищали путем колоночной хроматографии (100-200 силикагель, 30 г, 15% EtOAc-гексан) с выходом трет-бутил 4-(5-метоксикарбонил-1-метил-пиразол-3-ил)пиперазин-1-карбоксилата (0,43 г, 60% согласно KX-MC) в

виде белого твердого вещества.

XX-MC (m/z): 325,7 [M+H]⁺.

Стадия 5.

К перемешиваемому раствору трет-бутил 4-(5-метоксикарбонил-1-метил-пиразол-3-ил)пиперазин-1-карбоксилата (0,43 г, 1,32 ммоль) в смеси $T\Gamma\Phi$:МеОН: H_2O (1:1:1, 15 мл) добавляли при комнатной температуре LiOH· H_2O (0,27 г, 6,63 ммоль) и перемешивали в течение 5 ч (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь подкисляли до pH 4-5 путем добавления 1 н. HCl и экстрагировали EtOAc (2×30 мл). Объединенные органические экстракты промывали солевым раствором (20 мл), сушили над безводным Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении с получением 5-(4-трет-бутоксикарбонилпиперазин-1-ил)-2-метил-пиразол-3-карбоновой кислоты (0,24 г, 58%) в виде белого твердого вещества.

 $XX-MC (m/z): 311,4 [M+H]^+.$

Стадия 6.

К перемешиваемому раствору 5-(4-трет-бутоксикарбонилпиперазин-1-ил)-2-метил-пиразол-3-карбоновой кислоты (0,47 г, 1,51 ммоль) в ТГФ (20 мл) добавляли в атмосфере аргона EDC·HCl (0,43 г, 2,27 ммоль), HOBt·NH $_3$ (0,34 г, 2,27 ммоль) и DIPEA (0,8 мл, 4,55 ммоль) и перемешивали в течение 6 ч при комнатной температуре (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Летучие компоненты удаляли при пониженном давлении и остаток разбавляли водой (40 мл) и EtOAc (100 мл). Органический слой отделяли, промывали холодной водой (2×20 мл), солевым раствором (2×20 мл), сушили над Na $_2$ SO $_4$ и концентрировали при пониженном давлении с получением в остатке неочищенного вещества, которое очищали путем колоночной хроматографии (100-200 силикагель, 20 г, 2,5% MeOH-ДХМ) с выходом трет-бутил 4-(5-карбамоил-1-метил-пиразол-3-ил)пиперазин-1-карбоксилата (0,40 г, 86%) в виде белого твердого вещества.

WX-MC (m/z): 310,7 [M+H]⁺.

Стадия 7.

К перемешиваемому раствору трет-бутил 4-(5-карбамоил-1-метил-пиразол-3-ил)пиперазин-1-карбоксилата (0,17 г, 0,55 ммоль) в ТГФ (5,0 мл), охлажденному до 0°С, добавляли Et_3N (0,19 мл, 1,37 ммоль) и затем Tf_2O (0,27 мл, 1,90 ммоль). Температуру реакционной смеси медленно доводили до комнатной температуры и смесь перемешивали в течение 1 ч (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь разбавляли водой (10 мл) и экстрагировали EtOAc (2×25 мл). Объединенные органические экстракты промывали насыщенным раствором $NaHCO_3$ (10 мл), сушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении с получением трет-бутил 4-(5-циано-1-метил-пиразол-3-ил)пиперазин-1-карбоксилата (0,11 г, 68%) в виде бледно-желтого твердого вещества.

XX-MC (m/z): 292,5 [M+H-100]⁺.

Стадия 8.

К перемешиваемому раствору трет-бутил 4-(5-циано-1-метил-пиразол-3-ил)пиперазин-1-карбоксилата (0,11 г, 0,37 ммоль) в 1,4-диоксане (5 мл), охлажденному до 0°С, добавляли 4 н. раствор НСІ в диоксане (3 мл). Температуру реакционной смеси доводили до комнатной температуры, смесь перемешивали в течение 5 ч (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано), концентрировали при пониженном давлении с получением в остатке неочищенного вещества, которое промывали Et₂O (5 мл) и сушили в условиях глубокого вакуума с выходом 2-метил-5-пиперазин-1-илпиразол-3-карбонитрила гидрохлорида (70 мг, 73%) в виде белого твердого вещества.

ЖХ-МС (m/z): 192,5 [M+H]⁺.

Стадия 9.

К перемешиваемому раствору 2-метил-5-пиперазин-1-ил-пиразол-3-карбонитрила гидрохлорида $(0,06\ \Gamma,\ 0,28\ \text{ммоль})$ и 3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты $(0,075\ \Gamma,\ 0,34\ \text{ммоль})$ в ДМФА $(2\ \text{мл})$ при комнатной температуре добавляли 50%-ный ТЗР в EtOAc $(0,36\ \text{мл},\ 0,57\ \text{ммоль})$ и DIPEA $(0,1\ \text{мл},\ 0,57\ \text{ммоль})$ и перемешивали в течение 4 ч (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь концентрировали в условиях глубокого вакуума с получением в остатке неочищенного вещества, которое разбавляли смесью 5% МеOH-ДХМ $(75\ \text{мл})$ и промывали холодной водой $(2\times10\ \text{мл})$. Органический слой отделяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении с получением в остатке неочищенного вещества $(110\ \text{мг},\ 37\%$ согласно ЖХ-МС), которое подвергали препаративной очистке с выходом 2-метил-5-[4-[3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиразол-3-карбонитрила $(22\ \text{мг},\ 16\%)$ в виде белого твердого вещества.

 1 Н ЯМР [400 МГц, ДМСО-d₆] δ 12.15 (уш. s, 1H), 8.07 (d, J=6.8, 1.2 Гц, 1H), 7.76-7.72 (m, 1H), 7.53 (d, J=8.0 Гц, 1H), 7.44 (t, J=7.2 Гц, 1H), 6.62 (s, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.61 (t, J=4.8 Γц, 2H), 3.54 (t, J=5.2 Γц, 2H), 3.18 (t, J=6.4 Гц, 2H), 3.06 (t, J=4.8 Γц, 2H), 2.87 (s, 4H).

XX-MC (m/z): 392,7 [M+H]⁺.

Пример 47. Синтез 3-хлор-N,N-диметил-4-[4-[3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]бензамида.

Стадия 1.

К перемешиваемому раствору 3-хлор-4-фтор-бензойной кислоты $(0,5~\mathrm{r},2,87~\mathrm{ммоль})$ в ТГФ $(5~\mathrm{m})$ добавляли при комнатной температуре $\mathrm{Me_2NH}$ $(0,3~\mathrm{m},5,74~\mathrm{ммоль},1~\mathrm{M}$ в ТГФ) и CDI $(0,7~\mathrm{r},4,31~\mathrm{ммоль})$, и перемешивали в течение 5 ч (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь гасили водой $(40~\mathrm{m})$ и экстрагировали EtOAc $(3\times30~\mathrm{m})$. Объединенные органические экстракты сушили над $\mathrm{Na_2SO_4}$, летучие компоненты удаляли при пониженном давлении, полученный остаток промывали $\mathrm{Et_2O}$ и сушили с выходом 3-хлор-4-фтор-N,N-диметил-бензамида $(450~\mathrm{mr},78\%)$ в виде белого твердого вещества.

XX-MC (m/z): 202,40 [M+H]⁺.

Стадия 2.

Раствор 3-хлор-4-фтор-N,N-диметил-бензамида (0,4 г, 1,99 ммоль) и пиперазина (0,8 г, 9,38 ммоль)

в ДМСО (5 мл) перемешивали в атмосфере аргона в течение 16 ч при 120°C (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь гасили водой (40 мл) и экстрагировали EtOAc (3×10 мл). Объединенные органические экстракты сушили над Na_2SO_4 , концентрировали при пониженном давлении и полученный остаток промывали Et_2O (10 мл) с выходом 3-хлор-N,N-диметил-4-пиперазин-1-ил-бензамида (550 мг, 65%) в виде желтоватого твердого вещества.

XX-MC (m/z): 268,56 [M+H]⁺.

Стадия 3.

К перемешиваемому раствору 3-хлор-N,N-диметил-4-пиперазин-1-ил-бензамида (150 мг, 0,55 ммоль) и 3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (122 мг, 0,55 ммоль) в сухом ДМФА (2 мл) добавляли при комнатной температуре EDC·HCl (160 мг, 0,83 ммоль), HOBt (113 мг, 0,83 ммоль) и DIPEA (0,2 мл, 1,16 ммоль) и перемешивали в течение 16 ч (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь гасили водой (20 мл) и экстрагировали EtOAc (3×10 мл). Объединенные органические экстракты сушили над Na_2SO_4 , концентрировали при пониженном давлении и полученный остаток очищали путем флэш-хроматографии (100-200 силикагель, 5 г, 5% MeOH-ДXM) с выходом 3-хлор-N,N-диметил-4-[4-[3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин1-ил]бензамида (80 мг, 43%) в виде белого твердого вещества.

¹Н ЯМР [400 МГц, ДМСО-d₆] δ 12.20 (s, 1H), 8.07 (dd, J=8, 1.2 Гц, 1H), 7.78-7.74 (m, 1H), 7.57 (d, J=8 Гц, 1H), 7.47-7.43 (m, 2H), 7.36 (dd, J=8.4, 2 Гц, 1H), 7.15 (d, J=8.4 Гц, 1H), 3.70 (уш. s, 2H), 3.61 (уш. s, 2H), 3.05 (уш. s, 2H), 2.94 (s, 8H), 2.89 (s, 4H).

XX-MC (m/z): 468,73 [M+H]⁺.

Пример 48. Синтез N-метил-6-[4-[3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбоксамидина гидрохлорида.

Стадия 1.

$$\begin{array}{c} \text{Xantphos, pd}_2\text{dba}_3, \\ mpem\text{-BuONa, PhMe,} \\ \text{- герметичная пробирка, } 80^{\circ}\text{C}, 4\text{ч} \\ \text{- Стадия 1} \\ \text{- ВосN} \\ \text{- 3} \end{array}$$

Перемешиваемый раствор 2,5-дибромпиридина (2 г, 10,7 ммоль), натрия трет-бутилата (1,6 г, 16,6 ммоль), хаптрhos (400 мг, 0,7 ммоль) и толуола (100 мл) в герметично закрываемой пробирке продували аргоном в течение 5 мин. К данной реакционной смеси добавляли трет-бутил пиперазин-1-карбоксилат (3,4 г, 14,30 ммоль) и затем $Pd_2(dba)_3$ (200 мг, 0,21 ммоль) и нагревали в течение 4 ч при 80° С (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь разбавляли EtOAc (200 мл), водой (100 мл), фильтровали через подушку диатомовой земли (Celite) и промывали EtOAc (2×30 мл). Объединенные органические экстракты промывали солевым раствором (50 мл), сушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали путем колоночной хроматографии (100-200 силикагель, 50 г, 10-20% EtOAcгексаны) с выходом трет-бутил 4-(5-бром-2-пиридил)пиперазин-1-карбоксилата (3 г, 82%) в виде желтого твердого вещества.

WX-MC (ESI+) (m/z): 342,57 [M+H]⁺.

Стадия 2.

К перемешиваемому раствору трет-бутил 4-(5-бром-2-пиридил)пиперазин-1-карбоксилата (3 г, 8,77 ммоль) в диоксане (30 мл) добавляли при комнатной температуре 4н. раствор HCl в диоксане (10 мл) и перемешивали в течение 4 ч (согласно TCX-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). К реакционной смеси добавляли EtOAc (50 мл), перемешивали в течение 30 мин, твердое вещество собирали путем фильтрования, промывали диэтиловым эфиром (20 мл) и сушили при пониженном давлении с получением 1-(5-бром-2-пиридил)пиперазина гидрохлорида (2,1 г, 93%) в виде желтова-

того твердого вещества.

ЖХ-МС (ESI+) (m/z): 242,43 $[M+H]^+$. Стадия 3.

К перемешиваемому раствору 1-(5-бром-2-пиридил)пиперазина гидрохлорида (2,1 г, 8,12 ммоль) в ДМФА (20 мл) добавляли при комнатной температуре DIPEA (3,8 мл, 22,01 ммоль), 3-(4-оксо-3Н-хиназолин-2-ил)пропановую кислоту (1,6 г, 7,34 ммоль) и затем 50%-ный раствор ТЗР в EtOAc (7 мл, 11,00 ммоль) и перемешивали в течение 12 ч (согласно ЖХ-МС-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь гасили ледяной водой (200 мл), перемешивали в течение 2 ч, полученное твердое вещество собирали путем фильтрования, промывали водой (50 мл), ацетоном (20 мл) и сушили под вакуумом с выходом 2-[3-[4-(5-бром-2-пиридил)пиперазин-1-ил]-3-оксо-пропил]-3Н-хиназолин-4-она (1,6 г, 50%) в виде желтоватого твердого вещества.

ЖХ-MC (ESI+) (m/z): 442,59 [M+H]⁺. Стадия 4.

К перемешиваемому раствору 2-[3-[4-(5-бром-2-пиридил)пиперазин-1-ил]-3-оксо-пропил]-3Н-хиназолин-4-она (1,6 г, 3,62 ммоль) в диоксане (30 мл), находящемуся в герметично закрываемой пробирке, добавляли в атмосфере аргона ацетат калия (1,1 г, 11,21 ммоль) и затем бис(пинаколато)дибор (1,3 г, 5,12 ммоль) и Pd(dppf) Cl_2 (89 мг, 0,11 ммоль). Данную реакционную смесь нагревали в течение 12 ч при 80°C (согласно XX-MC-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь разбавляли EtOAc (75 мл), фильтровали через подушку диатомовой земли (20 жл), промывали 21 в 22 мл); объединенные органические экстракты промывали солевым раствором (25 мл), сушили над сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который промывали пентаном (210 мл) с получением смеси 2-[3-оксо-3-[4-[5-(44,5,5-тетраметил-13,2-диоксаборолан-2-ил)-2-пиридил]пиперазин-1-ил]пропил]-3Н-хиназолин-4-она и [41-[42-(40-оксо-43Н-хиназолин-42-ил)пропаноил]пиперазин-41-ил]-43-пиридил]бороновой кислоты (41,42 г), которую использовали в следующей реакции без дополнительной очистки.

ЖХ-МС (ESI+) (m/z): 408,69 [M+H]⁺ (бороновая кислота). Стадия 5.

К перемешиваемому раствору смеси 2-[3-оксо-3-[4-[5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-2-пиридил]пиперазин-1-ил]пропил]-3Н-хиназолин-4-она и [6-[4-[3-(4-оксо-3Н-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]-3-пиридил]бороновой кислоты (1,16 г), тиофен-2-карбоксилата меди(I) (1,1 г, 5,77 ммоль), три-2-фурил фосфина (140 мг, 0,60 ммоль) в ТГФ в атмосфере аргона добавляли Pd₂(dba)₃ (91 мг, 0,10 ммоль). Данную реакционную смесь продували аргоном в течение 5 мин, затем добавляли в атмосфере аргона N,N'-бис(трет-бутоксикарбонил)-S-метилизотиомочевину (600 мг, 1,97 ммоль) в ТГФ (18 мл), получали мутный гомогенный раствор. Данную реакционную смесь нагревали в течение 18 ч при 65°С (согласно ЖХ-МС-анализу оставалось 16% бороновой кислоты), затем температуру реакционной смеси доводили до комнатной температуры, добавляли насыщенный водный раствор NаНСО₃ (20 мл) и ЕtOAc (30 мл). Органический слой отделяли, промывали солевым раствором (25 мл), сушили над Na₂SO₄ и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали путем колоночной хроматографии (100-200 силикагель, 100 г, 2-5% МеОН-ДХМ) с выходом

трет-бутил N-[(E)-N-трет-бутоксикарбонил-C-[6-[4-[3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]-3-пиридил]карбонимидоил]-N-метил-карбамата (240 мг, 12% согласно ЖХ-МС), который повторно очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением чистого соединения (13 мг) в виде белого твердого вещества.

ЖХ-МС (ESI+) (m/z): 620,92 $[M+H]^+$. Стадия 6.

К перемешиваемому раствору трет-бутил N-[(E)-N-трет-бутоксикарбонил-C-[6-[4-[3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]-3-пиридил]карбонимидоил]-N-метил-карбамата (13 мг, 0,021 ммоль) в диоксане (0,5 мл) добавляли 4 н. раствор HCl в диоксане (0,4 мл, 1,744 ммоль) и перемешивали в течение 2 ч при комнатной температуре (согласно ЖХ-МС-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который промывали EtOAc (2×5 мл) и затем Et_2O (2×5 мл), и затем лиофилизировали в смеси Et_3CN (Et_3CN (Et_3CN мл) и воды (Et_3CN мл) с получением N-метил-6-[4-[3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбоксамидина гидрохлорида (Et_3CN мг, 99%) в виде желтоватого твердого вещества.

 1 Н ЯМР [400 МГц, ДМСО-d₆] δ 8.58 (уш. s, 1H), 8.14 (d, J=7.6 Гц, 2H), 7.99 (уш. s, 1H), 7.92-7.78 (m, 2H), 7.63-7.57 (m, 1H), 7.35 (уш. s, 1H), 7.13-7.08 (m, 1H), 4.26 (уш. s, 5H), 3.81 (s, 2H), 3.68 (s, 4H), 3.60 (s, 2H), 3.06 (s, 3H).

ЖХ-МС (ESI+) (m/z): 420,70 $[M+H]^+$. Стадия 7.

К раствору трет-бутил N-[(трет-бутоксикарбониламино)-метилсульфанил-метилен]карбамата (1 г, 3,44 ммоль) в ДМФА (20 мл), охлажденному до 0°С, добавляли порциями 60%-ный гидрид натрия (276 мг, 6,916 ммоль) и затем MeI (0,32 мл, 5,162 ммоль). Данную реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 3 ч (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Затем реакционную смесь гасили ледяной водой (30 мл) и экстрагировали EtOAc (2×50 мл). Объединенные органические экстракты промывали солевым раствором (30 мл), сушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении, полученный остаток очищали путем колоночной хроматографии (100-200 силикагель, 20 г, 5-10% EtOAc-гексаны) с выходом трет-бутил N-(N-трет-бутоксикарбонил-C-метилсульфанил-карбонимидоил)-N-метил-карбамата (650 мг, 63%) в виде бесцветного масла.

XX-MC (ESI+) (m/z): 305,66 [M+H]⁺.

Пример 49. Синтез 2-[3-[4-[5-(4,5-дигидро-1H-имидазол-2-ил)-2-пиридил]пиперазин-1-ил]-3-оксопропил]-3H-хиназолин-4-она.

Стадия 1.

К перемешиваемому раствору метил 6-хлорпиридин-3-карбоксилата (500 мг, 2,91 ммоль) в ДМФА (5 мл) добавляли при комнатной температуре трет-бутил пиперазин-1-карбоксилат (720 мг, 3,87 ммоль), K_2CO_3 (1,2 г, 8,74 ммоль) и DMAP (35 мг, 0,29 ммоль). Данную реакционную смесь нагревали в микроволновой печи (СЕМ) в течение 30 мин при 80°С (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано) и разбавляли водой (20 мл), при этом выпадало в осадок твердое вещество. Данное твердое вещество собирали путем фильтрования и растворяли в EtOAc (50 мл), сушили над Na_2SO_4 , концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного желаемого соединения, которое очищали путем флэш-хроматографии (100-200 силикагель, 5 г, 30% EtOAc-гексан) с выходом третбутил 4-(5-метоксикарбонил-2-пиридил)пиперазин-1-карбоксилата (510 мг, 54%) в виде белого твердого вещества.

ЖХ-МС (m/z): 322,63 [M+H] $^+$. Стадия 2.

К перемешиваемому раствору триметилалюминия (1,86 мл, 3,73 ммоль, 2 М в толуоле) в толуоле (12 мл), охлажденному до 0°С, добавляли этилендиамин (0,25 мл, 3,73 ммоль). Данную реакционную смесь нагревали до комнатной температуры, перемешивали в течение 5 мин и добавляли при комнатной температуре трет-бутил 4-(5-метоксикарбонил-2-пиридил)пиперазин-1-карбоксилат (200 мг, 0,62 ммоль) в толуоле (4 мл). Реакционную смесь подвергали дефлегмации в течение 3 ч (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано), температуру реакционной смеси медленно доводили до комнатной температуры, смесь гасили водой (5 мл) и растворяли в МеОН (15 мл) и ДХМ (15 мл). Затем реакционную смесь фильтровали через Na₂SO₄, полученный фильтрат упаривали под вакуумом с получением в остатке неочищенного вещества. Остаток растворяли в EtOAc (50 мл), нагревали в течение 5 мин при 80°С, фильтровали через Na₂SO₄ и концентрировали под вакуумом с получением неочищенного желаемого соединения. Данный неочищенный остаток очищали путем колоночной хроматографии (100-200 силикагель, 4 г, 10% МеОН-80% ДХМ-10% водный NН₃) с получением трет-бутил 4-[5-(4,5-дигидро-1Н-имидазол-2-ил)-2-пиридил]пиперазин-1-карбоксилата (160 мг, 78%) в виде белого твердого вещества.

ЖХ-МС (m/z): 332,70 [M+H]⁺. Сталия 3.

К перемешиваемому раствору трет-бутил 4-[5-(4,5-дигидро-1H-имидазол-2-ил)-2-пиридил]пиперазин-1-карбоксилата (160 мг, 0,48 ммоль) в 1,4-диоксане (3 мл), охлажденному до 0°С, добавляли 4 н. раствор НСІ в 1,4-диоксане (0,48 мл, 1,93 ммоль). Данную реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 4 ч (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Летучие компоненты выпаривали при пониженном давлении с получением 1-[5-(4,5-дигидро-1H-имидазол-2-ил)-2-пиридил]пиперазина гидрохлорида (130 мг, 100%), который использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

XX-MC (m/z): 232,56 [M+H]⁺.

Стадия 4.

К перемешиваемому раствору 3-(4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (100 мг, 0,458 ммоль) в ДМФА (5 мл) добавляли при комнатной температуре 1-[5-(4,5-дигидро-1H-имидазол-2-ил)-2-пиридил]пиперазина гидрохлорид (127 мг, 0,55 ммоль), EDC·HCl (131 мг, 0,68 ммоль), HOBt (93 мг, 0,68 ммоль) и DIPEA (0,32 мл, 1,83 ммоль) и перемешивали в течение 16 ч (согласно ТСХ-анализу исходное вещество было полностью израсходовано). Летучие компоненты удаляли при пониженном давлении с получением в остатке неочищенного вещества, которое разбавляли холодной водой (30 мл), при этом выпадало в осадок твердое вещество. Данный осадок собирали путем фильтрования, сушили под вакуумом с получением неочищенного продукта (120 мг, 92% согласно ЖХ-МС), который очищали путем препаративной ВЭЖХ с выходом 2-[3-[4-[5-(4,5-дигидро-1H-имидазол-2-ил)-2-пиридил]пиперазин-1-ил]-3-оксо-пропил]-3H-хиназолин-4-она (55 мг, 28%) в виде белого твердого вещества.

 1 Н ЯМР [400 МГц, ДМСО-d₆] δ 12.0 (s, 1H), 8.54 (d, J=2.0 Гц, 1H), 8.07 (dd, J=1.6, 8.0 Гц, 1H), 7.92 (dd, J=2.4, 9.2 Гц, 1H), 7.76-7.71 (m, 1H), 7.54 (d, J=8.0 Гц, 1H), 7.46-7.42 (m, 1H), 6.87(d, J=9.2 Гц, 1H), 3.70-3.65 (m, 4H), 3.56 (уш. s, 8H), 2.89 (уш. s, 4H).

XX-MC (m/z): 432,73 [M+H]⁺.

Пример 50. Синтез 8-хлор-2-(3-(4-(4-фторфенил)-3,6-дигидропиридин-1(2H)-ил)-3-оксопропил)хиназолин-4(3H)-она.

Стадия 1.

2-Амино-3-хлорбензойную кислоту ($10\ r$, $58,3\ mmoль$) растворяли в ДМФА ($30\ mn$) и затем последовательно добавляли HOBt ($10,2\ r$, $75,8\ mmoль$), EDCI ($13,4\ r$, $69,9\ mmoль$), хлорид аммония ($12,5\ r$, $233\ mmoль$) и DIEA ($40,6\ mn$, $233\ mmoль$). Полученную смесь перемешивали в течение $20\ ч$ при комнатной температуре. Затем смесь распределяли между H_2O ($200\ mn$) и EtOAc ($200\ mn$) и фазы разделяли. Водный слой экстрагировали EtOAc ($2\times150\ mn$). Объединенные органические экстракты промывали 50% насыщенным солевым раствором, сушили ($MgSO_4$) и фильтровали. Фильтрат концентрировали с получением желтого/белого твердого остатка. Данный твердый остаток растворяли в ДМФА ($10\ mn$). Добавление ДХМ ($10\ mn$) приводило к образованию белого осадка, который собирали путем фильтрования. Данный процесс повторяли еще два раза с получением 2-амино-3-хлор-бензамида ($5,1\ r$) в виде белого рыхлого твердого вещества.

WX-MC (m/z): 171,1 [M+H]⁺.

Стадия 2.

Суспензию 2-амино-3-хлор-бензамида (500 мг, 2,93 ммоль) и янтарного ангидрида (293 мг, 2,93 ммоль) в толуоле (5 мл) перемешивали при 110°С. Смесь становилась гомогенной через 1 ч. Для образования осадка потребовалось дополнительно 16 ч. Смесь охлаждали до комнатной температуры и концентрировали под вакуумом. К остатку добавляли 1 н. раствор NaOH (10 мл), и полученную смесь нагревали в течение 10 мин при 110°С, затем охлаждали до комнатной температуры. Добавляли 1 н. раствор HCl, пока рН не достигал ~1. Образовавшийся белый осадок собирали путем фильтрования. Данное твердое вещество промывали водой (2×5 мл) и сушили с получением 3-(8-хлор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (294 мг) в виде белого твердого вещества.

XX-MC (m/z): 253,0 [M+H]⁺.

 1 Н ЯМР (500 МГц, ДМСО-d₆) δ 12.45 (s, 1H), 12.20 (уш. s, 1H), 8.04 (dd, J=7.9, 1.5 Гц, 1H), 7.92 (dd, J=7.8, 1.4 Гц, 1H), 7.43 (t, J=7.8 Гц, 1H), 2.89 (dd, J=10.6, 3.7 Гц, 2H), 2.78 (dd, J=10.6, 3.6 Гц, 2H). Стадия 3.

К раствору 4-(4-фторфенил)-1,2,3,6-тетрагидропиридина гидрохлорида (18,6 мг, 0,087 ммоль) и 3-(8-хлор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропановой кислоты (20,0 мг, 0,079 ммоль) в ДМФА (3 мл) добавляли НАТИ (33,1 мг, 0,087 ммоль) и затем DIEA (33,9 мкл, 0,190 ммоль). Полученную смесь перемешивали в течение 3 ч при комнатной температуре, затем разбавляли EtOAc (40 мл) и промывали насыщенным водным раствором NaHCO₃ (10 мл), 50% насыщенным солевым раствором (3×5 мл), сушили (MgSO₄), фильтровали и концентрировали под вакуумом. Остаток очищали путем флэш-хроматографии на силикагеле с получением неочищенного продукта (13 мг) в виде белого твердого вещества, чистота которого составляла 90% согласно ЖХ-МС и ЯМР. Данное твердое вещество растирали с EtOAc (3 мл), затем твердое вещество собирали путем декантации жидкой фазы с получением 8-хлор-2-(3-(4-(4-фторфенил)-3,6-дигидропиридин-1(2H)-ил)-3-оксопропил)хиназолин-4(3H)-она (1,2 мг) в виде белого твердого вещества.

ЖХ-МС (m/z): 412,1 [M+H]⁺.

 1 H ЯМР (500 М Γ ц, CDCl₃) δ 11.08 (s, 1H), 8.18 (d, J=8.0 Γ ц, 1H), 7.79 (d, J=7.7 Γ ц, 1H), 7.38-7.28 (m, 3H), 7.03 (td, J=8.7, 2.0 Γ ц, 2H), 5.98 (d, J=45.0 Γ ц, 1H), 4.23 (d, J=77.1 Γ ц, 2H), 3.80 (dt, J=100.6, 5.7 Γ ц, 2H), 3.17 (dd, J=13.7, 7.8 Γ ц, 2H), 3.02-2.84 (m, 2H), 2.65-2.48 (m, 2H).

Пример 51. Синтез 2-(3-(4-(4-фторфенил)-3,6-дигидропиридин-1(2H)-ил)-3-оксопропил)хиназолин-

4(3Н)-она.

Данное соединение синтезировали в соответствии с методикой получения 8-хлор-2-(3-(4-(4-фторфенил)-3,6-дигидропиридин-1(2H)-ил)-3-оксопропил)хиназолин-4(3H)-она (пример 50) с использованием подходящего исходного вещества.

XX-MC (m/z): 378,4 [M+H]⁺.

 1 H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d₆) δ 12.19 (s, 1H), 8.07 (d, J=7.9 Гц, 1H), 7.72 (ddd, J=8.5, 7.2, 1.6 Гц, 1H), 7.53 (d, J=8.1 Γц, 1H), 7.50-7.46 (m, 2H), 7.46-7.41 (m, 1H), 7.18 (t, J=8.8 Γц, 2H), 6.20-6.12 (m, 1H), 4.24 (d, J=2.6 Γц, 1H), 4.09 (d, J=2.7 Γц, 1H), 3.72 (t, J=5.6 Γц, 1H), 3.66 (t, J=5.7 Γц, 1H), 2.98-2.85 (m, 4H), 2.58 (s, 1H), 2.42 (s, 1H).

Пример 52. Синтез 2-(3-(4-(4-фторфенил)пиперазин-1-ил)-3-оксопропил)хиназолин-4(3H)-она.

Данное соединение синтезировали в соответствии с методикой получения 8-хлор-2-(3-(4-(4-фторфенил)-3,6-дигидропиридин-1 (2H)-ил)-3 -оксопропил)хиназолин-4(3H)-она (пример 50) с использованием подходящего исходного вещества.

WX-MC (m/z): 381,4 [M+H]⁺.

 1 H ЯМР (500 М Γ ц, ДМСО-d₆) δ 12.18 (s, 1H), 8.07 (dd, J=8.0, 1.2 Γ ц, 1H), 7.77-7.71 (m, 1H), 7.55 (d, J=8.0 Γ ц, 1H), 7.44 (ddd, J=8.1, 7.3, 1.1 Γ ц, 1H), 7.10-7.04 (m, 2H), 7.01-6.95 (m, 2H), 3.70-3.63 (m, 2H), 3.63-3.54 (m, 2H), 3.15-3.10 (m, 2H), 3.04-2.98 (m, 2H), 2.89 (s, 4H).

Пример 53. Синтез 2-(3-(4-(4-фторфенил)-3,6-дигидропиридин-1(2H)-ил)-3-оксопропил)-7-метил-3,7-дигидро-4H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-она.

Данное соединение синтезировали в соответствии с методикой получения 8-хлор-2-(3-(4-(4-фторфенил)-3,6-дигидропиридин-1(2H)-ил)-3-оксопропил)хиназолин-4(3H)-она (пример 50) с использованием подходящего исходного вещества (2-амино-1-метил-1H-пиррол-32-карбоксамида, САЅ № 1894093-24-3).

WX-MC (m/z): 381,4 [M+H]⁺.

 1 H ЯМР (500 МГц, ДМСО) δ 11.70 (s, 1H), 7.48 (ddd, J=8.7, 5.6, 2.1 Гц, 2H), 7.21-7.14 (m, 2H), 6.98 (d, J=3.3 Γц, 1H), 6.37 (d, J=3.3 Γц, 1H), 6.16 (t, J=3.3 Γц, 1H), 4.23 (d, J=2.5 Γц, 1H), 4.10 (d, J=2.6 Γц, 1H), 3.71 (t, J=5.6 Γц, 1H), 3.67 (t, J=5.7 Γц, 1H), 3.61 (d, J=6.5 Γц, 3H), 2.92-2.80 (m, 4H), 2.60-2.54 (m, 1H), 2.46-2.40 (m, 1H).

Пример 54. Анализ PARP человека.

Поли(АДФ-рибоза)полимераза 1 (PARP-1) и поли(АДФ-рибоза)полимераза 2 (PARP-2) - два ядерных фермента, вовлеченных во множество клеточных процессов, включая репарацию ДНК, которые играют ключевую роль в поддержании целостности ДНК и структуры хроматина. Настоящий анализ разработан для оценки потенциальной способности исследуемого вещества ингибировать активность PARP-1 или PARP-2 с использованием методики сцинтилляционного анализа сближения (SPA).

Сцинтилляционный анализ сближения (SPA) разработан для измерения активности PARP с использованием очищенного рекомбинантного фермента PARP-1 и представляет собой идеальною методику высокопроизводительного скрининга малых молекулярных ингибиторов для поиска новых лекарств. В данном случае рекомбинантный фермент PARP-1 или PARP-2 человека инкубировали с субстратной смесью (НАД, ³Н-НАД и биотинилированный НАД) и [³Н]- и биотин-меченые полимеры АДФ-рибозы иммобилизировали с использованием SPA-гранул с конъюгатом стрептавидина и пероксидазы хрена. При отсутствии ингибирования фермента получали 100%-ный сигнал. Ингибиторы идентифицировали по ослаблению сигнала, вызываемому уменьшением PARP-1- или PARP-2-опосредованного образования полимеров поли(АДФ-рибоза).

040674

Химические вещества и реагенты, использованные в данном анализе, перечислены ниже с указанием их номера по каталогу и источника.

Порядко- вый №	материалы и Реагенты	Поставщик	Номер по
			каталогу
1	рекомбинантный фермент PARP-1	Trevigen	4668-500-01
	человека		
	(высокая удельная активность)		
2	фермент rh-PARP-2,	BPS Bioscience	80502
	10 мкг/пробирку		
3	96-луночный микропланшет,	Corning	3600 или
	белый, FB		CLS3600-100EA
4	96-луночный микропланшет,	Corning	3365 или Р070
	полипропилен, прозрачный		
5	Активированная ДНК тимуса	Amersham	27-4575
	теленка	Biosciences	
6	Никотинамидадениндинуклеотид	Sigma	N1511-250MG
7	Биотинилированный НАД (6-	Trevigen	4670-500-01
	биотин-17-НАД)		
8	[Аденин-2,8-3Н]-НАД,	Perkin Elmer	NET443H250UC
	250 мкКи/пробирку		
9	Стрептавидин-SPA-гранулы	Perkin Elmer	RPNQ 0007
10	DL-дитиотрейтол	Sigma	43815-1G
11	Trizma® основание	Sigma	T6791-100G
12	Магния хлорид	Sigma	449172-10G
13	Спермин	Sigma	85590-5G
14	Калия хлорид	Sigma	746436-500G
15	Заменитель NONIDET® P-40	Amresco	M158
16	Диметилсульфоксид, ACS-	Sigma	472301-500 мл
	реагент, ≥99,9%		
17	4-Амино-1,8-нафталимид (4-ANI)	Alfa Aesar	J64358
18	TOPSEAL-A 96	Perkin Elmer	6005185
19	Пипетки	Eppendorf	
	l .	l .	L

Примечание: все химические вещества взвешивали с использованием весов, обеспечивающих точность 0,01 мг.

Измерительные приборы: Perkin Elmer; TopCount NXT.

Реагенты и буферные препараты.

Буфер А 4Х:

Трис рН 8: 100 мМ; MgCl₂: 4 мМ; спермин: 4 мМ; KCl: 200 мМ; заменитель NonidetP-40: 0,04%. Смесь А для анализа (в расчете на одну лунку).

Буфер А 4Х: 12,5 мкл; DTT 100 мМ: 0,5 мкл;

фермент PARP-1: 1 единица/лунку, объем зависит от удельной активности конкретной партии; фермент PARP-2: 30 нг/лунку, объем зависит от удельной активности конкретной партии; Н₂О: до 35 мкл.

Смесь В для анализа (в расчете на одну лунку).

[Аденин-2,8-3H]-НАД 100 мкКи/мл: 1 мкл (0,1 мкКи/лунку); ³Н-НАД 100 мкКи/мл: 2 мкл (0,2 мкКи/лунку);

НАД 1,5 мМ: 0,05 мкл;

биотинилированный НАД 2501.іМ: 0,03 мкл; активированная ДНК тимуса теленка: 50 мкг; Н₂О: до 10 мкл.

Смесь С для анализа.

стрептавидин-SPA-гранулы: 2,5 мг/мл в 200 мМ ЭДТА рН 8,0 (для анализа PARP-1);

стрептавидин-SPA-гранулы: 2,5 мг/мл dH₂O (для анализа PARP-2).

Методика анализа.

10 мМ Раствор контрольного соединения, 4-амино-1,8-нафталимида (4-ANI), получали с использованием 100% ДМСО. 10 мМ Раствор 4-ANI разбавляли до концентрации 2 мМ и затем разбавляли до концентрации 200 мкМ с использованием 100% ДМСО. Выполняли последовательные 3-кратные разбавления 200 мкМ раствора 4-ANI в 100% ДМСО с получением десяти концентраций. 5 мкл Каждой из проб, полученных в результате последовательных разбавлений, переносили в 95 мкл воды с получением 10-кратных (10X) конечных концентраций, используемых для анализа. Наибольшая концентрация 4-ANI в данном анализе составляла 1 мкМ.

Полученный ранее 2 мМ раствор 4-ANI разбавляли водой до концентрации 100 мкМ. По 5 мкл данного 100 мкМ раствора 4-ANI добавляли в лунки с отрицательным контролем ("NC"). Конечная концентрация 4-ANI в "NC'-лунках составляла 10 мкМ. "NC"-лунки определяли как лунки, дающие самый низкий сигнал.

10 мМ Раствор исследуемого соединения получали с использованием 100% ДМСО. Данный 10 мМ раствор разбавляли до 200-кратной (200X) желаемой конечной концентрации, используемой для анализа. Выполняли последовательные 3-кратные разбавления 200X-раствора соединения в 100% ДМСО с получением десяти концентраций.

Планшет для предварительного разбавления: 5 мкл каждой из проб, полученных в результате последовательных разбавлений, переносили в лунки полипропиленового планшета, содержащие 95 мкл воды, с получением 10-кратных (10X) конечных концентраций, используемых для анализа.

Проведение реакции с участием PARP: планшет для анализа.

Пробы объемом 5 мкл из микропланшета для предварительного разбавления переносили в лунки 96-луночного белого микропланшета (Corning 3600). Добавляли по 35 мкл/лунку смеси А для анализа и инкубировали в течение 5 мин при комнатной температуре. Для инициации реакции добавляли по 10 мкл/лунку смеси В для анализа. Планшет для анализа инкубировали в течение 3 ч при комнатной температуре.

Регистрация сигналов, считываемых с планшета для анализа.

Добавляли по 50 мкл/лунку смеси С для анализа. Планшет герметично закрывали с использованием TOP SEAL-A 96. Планшет для анализа инкубировали в течение 15 мин с легким покачиванием. Планшет для анализа считывали на счетчике TopCount с использованием протокола, оптимизированного для трития и PVT-SPA-гранул.

Условия анализа.

TRIS pH 8: 25 MM;

MgCl₂: 1 MM;

Спермин: 1 мМ;

KCl: 50 MM;

NonidetP-40: 0,01%;

DTT: 1 MM;

PARP-1: 1 единица/лунку;

PARP-2: 20-30 нг (в зависимости от удельной активности конкретной партии);

Активированная ДНК тимуса теленка: 1 мкг/мл;

Холодный НАД: 1,5 мкМ;

Биотинилированный НАД: 150 нМ;

³Н-НАД: 0,2 мкКи;

Стрептавидин-SPA-гранулы: 1,25 мг/мл.

Результаты и анализ данных.

В качестве исходных данных использовали СРМ. Для подгонки кривой концентрация-ответ и вычисления значений ИК₅₀ использовали четырехпараметрическую нелинейную регрессию. Дублированные значения СРМ для групп NC и PC усредняли. Среднее значение СРМ для NC вычитали из всех исходных значений СРМ. Затем полученные после вычитания фона значения СРМ делили на среднее значение СРМ положительного контроля с получением % активности. Данный % активности вычитали из 100 с получением % ингибирования. Эти данные наносили на график и выполняли их подгонку к следующему уравнению:

% Ингибирования = MIN +
$$\frac{\text{(MAX - MIN)}}{1 + \frac{|P^{(\kappa o \ni \phi \phi u u u e n m \ X u n n a)}}{[X]}}$$

Пример 55. Клеточный анализ PARP-1.

В ответ на повреждение ДНК поли-(АДФ-рибоза)полимераза 1 (PARP-1), которая является основ-

ной изоформой семейства PARP, быстро активируется разрывами цепей ДНК, вызванными воздействием факторов окружающей среды, терапией рака, воспалением, ишемически-реперфузионным повреждением и нейродегенерацией. После активации начинается синтез полимера поли-АДФ-рибозы (PAR) с высоким отрицательным зарядом, требующий расходования $HAД^+$, данный полимер найден на ядерных белкахмишенях, включая PARP-1 в качестве основного акцептора. Из-за активации PARP обширное повреждение ДНК может приводить к истощению $HAД^+$ в клетке и вызывать некроз клеток. Поэтому PARP-1 рассматривают как перспективную мишень для разработки лекарств, которые могут быть использованы в различных схемах лечения рака, воспаления, ишемии и нейродегенеративного заболевания.

В данном анализе для наблюдения активности PARP внутри клеток клетки линии HeLa обрабатывали ингибиторами PARP-1 и затем индуцировали повреждение ДНК с использованием H_2O_2 . Конечную активность PARP-1 оценивали путем измерения уровня $HAД^+$ и HAД(H) в собранных клеточных лизатах обработанных и необработанных клеток.

Материалы и реагенты.

Порядко-	Материалы и Реагенты	Поставщик	Номер по	
вый №	татериалы и геагенты	поставщик	каталогу	
1	Клетки линии HeLa	ATCC	ATCC® CCL-2TM	
2	Эмбриональная телячья сыворотка, НІ	Invitrogen	10438-026	
3	Пенициллин-стрептомицин (10000 единиц/мл), 100 мл	Invitrogen	15140-122	
4	DMEM, высокий уровень глюкозы, пируват, 6 х 1000 мл	Invitrogen	11995-065	
5	0,25% Трипсин-ЭДТА (1X), феноловый красный, 100 мл	Invitrogen	25200-056	
6	175 см², Матрас для клеточных культур, 100/упаковку	Corning	CLS431306- 84EA	
7	1X PBS (фосфатно-солевой буфер), pH 7,4, 500 мл	Invitrogen	10010-023	
8	96-луночный планшет, белый, плоское дно, стерильный, 100/упаковку	Corning	CLS3917-100EA	
9	96-луночный микропланшет, полипропилен, прозрачный	Corning	P070	
10	Диметилсульфоксид, ACS-реагент, ≥99,9%	Sigma	472301-500 мл	
11	Универсальные наконечники, прозрачные, 0,5-10 мкл, 1000/пакет	Axygen	T-300	

12	Универсальные наконечники, прозрачные, 1-200 мкл, 1000/пакет	Axygen	T-200-C
13	Набор NAD/NADH-Glo	Promega	G9072
14	Додецилтриметиламмония бромид	Sigma	D5047-5G
15	NaOH	Sigma	S8045-500G
16	Натрия бикарбонат	Sigma	S5761-500G
17	Натрия карбонат	Sigma	S7795-500G
18	Никотинамид	Sigma	N5535-100G
19	ТритонХ-100	Sigma	Т9284-100 мл
20	Trizma® основание	Sigma	93362-250G
21	Соляная кислота	Sigma	Н1758-100 мл
22	Олапариб	Medchem Express	HY-10162
23	Envision Plate Reader	Perkin Elmer	2104
24	СО2 Инкубатор-увлажнитель	Thermo Scientific	
25	Пипетки/серологические пипетки	Eppendorf/ Corning	

Измерительные приборы. Регистрация: регистрация люминесценции в Envision Plate Read-er/TopCount (Perkin Elmer).

Получение реагентов и сред.

Получение культуральных сред.

DMEM-среды: 1X;

FBS (инактивированная нагреванием): 10%;

Пенициллин-стрептомицин (10000 единиц/мл): 0,1 мг/мл;

L-Глутамин: 2 мМ.

Получение реагента для регистрации люциферина.

Размораживали буфер для перерастворения. Температуру буфера для перерастворения и реагента для регистрации люциферина уравновешивали с комнатной температурой. Все содержимое флакона с буфером для перерастворения переносили в темный флакон с лиофилизированным реагентом для регистрации люциферина. Данные два реагента смешивали путем вращения или переворачивания флакона с получением однородного раствора. Без встряхивания. Реагент для регистрации люциферина должен легко переходить в раствор менее чем за 1 мин.

Получение NAD/NADH-GloTM-реагента для регистрации.

В каждую пробу, содержащую $HAД^+$ или HAД(H), добавляли равный объем NAD/NADH- Glo^{TM} -реагента для регистрации.

Температуру перерастворенного реагента для регистрации люциферина уравновешивали с комнатной температурой. Редуктазу, субстрат для редуктазы и субстрат для циклического превращения $HAД^+$ размораживали при комнатной температуре или на льду непосредственно перед использованием. Фермент для циклического превращения $HAД^+$ перерастворяли путем добавления 275 мкл воды. Данную смесь перемешивали, осторожно вращая пробирку, и хранили на льду. Необходимое количество NAD/NADH-GloTM-реагента для регистрации получали путем добавления 5 мкл редуктазы, 5 мкл субстрата для редуктазы, 5 мкл фермента для циклического превращения $HAД^+$ и 25 мкл субстрата для риклического превращения $HAД^+$ и 1 мл перерастворенного реагента для регистрации люциферина. Данную смесь осторожно переворачивали пять раз.

```
Конечные условия анализа.
```

Объем смеси для анализа: 100 мкл;

тип клеток: клетки линии HeLa;

плотность посева клеток: 10000 клеток/лунку;

среды: DMEM, 10% FBS, 0,1 мг/мл пенициллин-стрептомицин, 2 мМ L-глутамин;

концентрация ДМСО: 0,5%;

планшет для анализа: 96-луночный белый, ТС (с культуральной подложкой), стерильный, с Крышкой:

```
длительность инкубации соединения: 18 ч; уровень СО<sub>2</sub>: 5%;
```

влажность: 95%; температура: 37°С;

концентрация H_2O_2 : 200 мкМ.

Посев клеток и их обработка соединениями.

В 96-луночный микропланшет для клеточных культур высевали клетки линии HeLa с плотностью $10000~\rm k$ леток/лунку в культуральной среде объемом 90 мкл. Планшеты инкубировали в течение 4 ч при $37^{\circ}\rm C$ в атмосфере $5\%~\rm CO_2$. Добавляли пробы объемом $10~\rm k$ мкл из $8~\rm noc$ ледовательных разбавлений $10\rm X$ -растворов соединений в $5\%~\rm ДMCO$ (диапазон концентраций: 0,3- $100~\rm kM$). Подготовленные планшеты инкубировали в течение $18~\rm v$ при $37^{\circ}\rm C$ в атмосфере $5\%~\rm CO_2$. Добавляли $5~\rm k$ мкл раствора $H_2\rm O_2$ в $H_2\rm O$ (конечная концентрация $200~\rm kMM$), чтобы вызвать повреждение ДНК. Клетки, необработанные $H_2\rm O_2$, хранили в лунках для отрицательного контроля. Планшет инкубировали в течение $5~\rm k$ мин при $37^{\circ}\rm C$ и затем осторожно переворачивали для удаления среды. Во все лунки добавляли по $50~\rm k$ мкл $1\times \rm PBS$.

Определение активности PARP: раздельное измерение уровня NAD+ и NADH.

Данный протокол разработан для анализа клеток в 50 мкл PBS на лунку в 96-луночном белом планшете для люминометра. Содержимое каждой лунки с клетками делили на две пробы: одну пробу обрабатывали кислотой для последующего количественного определения $HAД^+$, а другую пробу обрабатывали основанием для последующего количественного определения HAД(H). На этапе высева клеток в планшет на планшете резервировали лунки для последующего деления проб. Альтернативно для деления проб можно использовать второй планшет.

В каждую лунку, содержащую клетки в 50 мкл РВS, добавляли 50 мкл раствора основания с 1% DTAB (Додецилтриметиламмония бромидом). Содержимое планшета быстро перемешивали на планшетном шейкере для обеспечения гомогенности и лизиса клеток. 50 мкл каждой пробы переносили в пустую лунку для последующей обработки кислотой. К данным пробам добавляли по 25 мкл 0,4 н. HCl на лунку; данные лунки содержали пробы, обработанные кислотой. Пробы в исходных лунках представляли собой пробы, обработанные основанием. Планшет закрывали и инкубировали в течение 15 мин при 60°C. Затем температуру планшета уравновешивали в течение 10 мин с комнатной температурой. Для нейтрализации кислоты в каждую лунку, содержащую клетки, обработанные кислотой, добавляли 25 мкл 0,5 M Тріzma® основания. В каждую лунку, содержащую пробу, обработанную основанием, добавляли 50 мкл раствора HCl/Tpizma®. NAD/NADH-Glo^{тм}-реагент для регистрации получали так, как описано выше. В каждую лунку добавляли равный объем NAD/NADH-Glo^{тм}-реагента для регистрации (например, 100 мкл). Планшет осторожно встряхивали для перемешивания проб. Планшет инкубировали в течение 30-60 мин при комнатной температуре. Люминесценцию регистрировали с использованием люминометра (Envision, PerkinElmer). Осуществляли сбор данных, полученных при регистрации люминесценции. Для построения кривой доза-ответ и расчета значений ИК50 использовали модель нелинейной регрессии.

В таблице ниже приведены результаты анализа ингибирующего действия типичных соединений по настоящему изобретению в отношении активности PARP1-1 и PARP-2. Данные результаты показывают, что соединения по настоящему изобретению избирательно ингибируют PARP1-1 в сравнении с PARP-2 и могут применяться для увеличения количества $HAД^{+}$ в клетках.

Пример №	Структура	Средняя ИК ₅₀ РАRР-1 (наибольшая концентрация 10 мкМ) (нМ)	Средняя ИК ₅₀ РАRР-2 (наибольшая концентрация 10 мкМ) (нМ)	H ₂ O ₂ NAD⁺ HeLa клеточный анализ EC ₅₀ (нМ)
Приме р 1	NH CI NH	27	181	909
Приме р 2	NH CI	7	69	

Приме р 3	2 + E	16	196	1322
Приме р 4	NH NH NH CI	26		1658
Приме р 5		51		1096
Приме р 6		29		1271
Приме р 7		30		2630
Приме р 8	NH NH	325		
Приме р 9	NH NH NN N	160		
Приме р 10	NH NH CI	180		
Приме р 11	ONH NO CO	6	338	50
Приме р 12	NH NH2	25		

Приме р 13	NH NN NN CN	54		
Приме р 14	NH NN CN	23		974
Приме р 15	NH N N N CN	196		
Приме р 16	NH NN NN NN CN	7	40	163
Приме р 17	F ONH N N N N N N N N N N N N N N N N N N	8	215	16
Приме р 18	F NH N N N N	7	216	24
Приме р 19	F NH NN NN CN	83		
Приме р 20	P N H N N N N C N C N	12		288
Приме р 21	NA N	99		
Приме р 22	NH NN N	395		

Приме	c CN			
р	N V V V V V V V V V V V V V V V V V V V	35	10294	552
23	's N N N N N N N N N N N N N N N N N N N			
Приме	- CN			
р	s Nyh Cyky	11	1591	341
24	NA N			
Приме	o ≠ ^N			
р	CANH CNENT	70		
25				
Приме	↑ # ^N			
р	NAME OF THE PROPERTY OF THE PR	47		770
26				
Приме	"N			
р		94		
27				
Приме	n.N			
р		10	910	138
28				
Приме	-N			
р	F NH NN N	12	611	156
29				
Приме	. <u>"</u> N			
р	F _N _N _H	12	624	110
30				
Приме	o All			
р		6	42	440
31	N OH			
Приме	CN CN			
р	FANNH NH	5		1232
32				
	OII			

Приме р 33	F NH NH N N N N N N N N N N N N N N N N	7		2736
Приме р 34		54		
Приме р 35	JNH NON NON	35		562
Приме р 36	SINH NINI	120		
Приме р 37	SINH NON ON ON	359		
Приме р 38	Junt Now	129		
Приме р 39	NH NN N	14	468	754
Приме р 40	NH SCN	53		1502
Приме р 41	NH NH NN NN CN	97		
Приме р 42	NH NN NN CN	58		12271

Приме р 43		42	3817	440
Приме р 44	F NH NH NN NN CN	11		345
Приме р 45		92		
Приме р 46	NH NN N	278		
Приме р 47	NH NO CI	922		
Приме р 48	NH CIH	30		7564
Приме р 49	NH NN N	36		22383
Приме р 50	NH NH	255		
Приме р 51	NH NH	83	339	
Приме р 52	NH NH NN N	68	999	
Приме р 53	NH NN N	189		

Пример 56. Крысиная модель острого повреждения почек (АКІ).

Животные, хирургическое вмешательство и дозы. В данных экспериментах использовали самцов крыс линии Sprague-Dawley с массой тела приблизительно 300-350 г, которым обеспечивали неограниченный доступ к стандартному корму и воде. Крыс анестезировали с использованием изофлурана и помещали вентральной поверхностью тела на нагреваемую хирургическую платформу с температурным контролем. На дорсальной поверхности тела делали кожный разрез, обнажая обе почки через боковые разрезы. В области ворот обеих почек накладывали зажимы для пережатия сосудов, окклюзия продолжалась 45 мин. Через 45 мин зажимы удаляли, убеждались, что реперфузия почек прошла успешно, и затем на хирургические разрезы накладывали швы. Животных в хирургической плацебо-группе подвергали аналогичному хирургическому вмешательству за тем исключением, что не накладывали окклюзионные зажимы. Препараты соединений получали в день введения в виде прозрачного раствора соединения примера 29 или соединения примера 30 в смеси N-метилпирролидона, ПЭГ300, пропиленгликоля и физиологического раствора (10:30:20:40). Соединения или носитель вводили в/в (внутривенно) через хвостовую вену в дозе 15 мг/кг (3 мл/кг) через 4 ч после реперфузии в день хирургического вмешательства.

В 1-й день (день после хирургического вмешательства) животным вводили носитель или 15 мг/кг соединения примера 29 или соединения примера 30 (3 мл/кг, в/в) в начале светового цикла. Животным в хирургической плацебо-группе аналогичным образом вводили носитель.

Забор плазмы и количественное определение биомаркеров. Через 24 ч после реперфузии во всех группах забирали кровь из ретроорбитального синуса в пробирки с антикоагулянтом K_2 ЭДТА, используя для легкого анестезирования животных изофлуран. Плазму отделяли путем центрифугирования при 3000 об/мин в течение 10 мин при 4°C. Анализ креатинина плазмы и азота мочевины крови (BUN) выполняли с использованием полностью автоматизированного клинического биохимического анализатора (Siemens Dimension® Xpand® Plus Integrated Chemistry System).

Анализ данных и статистический анализ. Для построения графиков и статистического анализа использовали программу GraphPad Prism версии 6.05. Во всех группах тестировали нормальность распределения данных по креатинину и BUN с использованием критерия нормальности Д'Агостино-Пирсона (D'Agostino-Pearson omnibus normality test) или критерия нормальности Шапиро-Уилка. Статистическую достоверность (p<0,05) определяли с использованием критерий Стьюдента, сравнивая группу "Плацебо-операция-Носитель" с группой "ИР-Носитель" или группу "ИР-Носитель" с группой, получавшей соединение. ##p<0,01, ###p<0,001, ###p<0,001 "Плацебо-операция" vs. "ИР-Носитель"; *p<0,05, **p<0,01 "ИР-Носитель" vs. группы, получавшей соединение (пример 29 или пример 30).

Результаты. PARP1-ингибиторы, описанные в примере 29 и примере 30, при в/в введении после ишемически-реперфузионного повреждения (ИРП) уменьшали повреждение почек. Оба соединения значительно уменьшали уровень креатинина в плазме и BUN при введении в дозе 15 мг/кг (см. чертеж).

Пример 57. In vitro и in vivo микроядерный анализ.

У некоторых соединений по настоящему изобретению отсутствовала какая-либо кластогенная активность согласно результатам in vitro и/или in vivo микроядерного анализа.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Фармацевтическая композиция для лечения субъекта, имеющего заболевание, которое может быть ослаблено путем ингибирования поли(АДФ-рибоза)полимеразы (PARP), содержащая фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель и соединение, представленное следующей структурной формулой:

или его фармацевтически приемлемую соль,

где кольцо А представляет собой фенил, необязательно замещенный одной или двумя группами, выбранными из галогена и $(C_1$ - $C_3)$ алкила, или 5-6-членный гетероарил, необязательно замещенный одной или двумя группами, выбранными из галогена и $(C_1$ - $C_3)$ алкила;

кольцо В представляет собой фенил, 5-6-членный гетероарил или 5-6-членный гетероциклил, каждый из которых необязательно имеет один или более заместителей, представленных R^3 ;

"----" отсутствует или представляет собой связь;

Е представляет собой N или CH, когда "-----" отсутствует, или E представляет собой C, когда "-----" представляет собой связь;

необязательно имеет в качестве заместителя (C_1-C_5) алкил или гидрокси (C_1-C_5) алкил;

каждый R^3 независимо выбран из группы, состоящей из -галогена, -CN, -C(=NR e)NR e R f , -C(=O)NR e R f и (C₁-C₅)алкила;

каждый R^e независимо выбран из группы, состоящей из -H и $(C_1$ - $C_5)$ алкила;

каждый R^f независимо выбран из группы, состоящей из -H, $(C_1$ - $C_5)$ алкила, $(C_3$ - $C_6)$ циклоалкила, необязательно имеющего в качестве заместителя $(C_1$ - $C_2)$ алкил, и 4-6-членного кислородсодержащего гетероциклила, необязательно имеющего в качестве заместителя $(C_1$ - $C_2)$ алкил; или

 $-C(=NR^e)NR^eR^f$ образует 4-6-членный гетероциклил, необязательно имеющий в качестве заместителя R^e : и

 R^5 представляет собой -Н или (C_1 - C_3)алкил; и

где гетероарил содержит 1-4 гетероатома, выбранных из кислорода, азота и серы, и гетероциклил содержит 1 или 2 гетероатома, выбранных из кислорода, азота и серы.

2. Фармацевтическая композиция по п.1, в которой соединение представлено структурной формулой, выбранной из группы, состоящей из

$$(\mathbb{R}^{1})_{n} \times^{2} \times^{1} \longrightarrow \mathbb{N}$$

$$(\mathbb{R}^{1})_{n} \times^{5} \longrightarrow \mathbb{N}$$

или его фармацевтически приемлемой солью,

где каждый из X^1 , X^2 , X^3 и X^4 независимо выбран из группы, состоящей из N и CH, при условии, что не более двух из X^1 , X^2 , X^3 и X^4 представляют собой N;

 X^5 представляет собой NR^2 , О или S;

кольцо В представляет собой фенил, 5-6-членный гетероарил или 5-6-членный гетероциклил, каждый из которых необязательно имеет один или более заместителей, представленных R^3 ;

необязательно имеет в качестве заместителя (C_1-C_5) алкил или гидрокси (C_1-C_5) алкил; каждый R^1 независимо выбран из группы, состоящей из -галогена и (C_1-C_3) алкила; R^2 представляет собой -H или (C_1-C_3) алкил; и п имеет значение 0, 1 или 2.

3. Фармацевтическая композиция по п.2, в которой соединение представлено структурной формулой, выбранной из группы, состоящей из

или его фармацевтически приемлемой солью,

где кольцо В представляет собой фенил, 5-6-членный гетероарил или 5-6-членный гетероциклил, каждый из которых необязательно имеет один или более заместителей, представленных R^3 ; и

необязательно имеет в качестве заместителя (C_1 - C_5)алкил или гидрокси(C_1 - C_5)алкил; каждый R^1 независимо выбран из группы, состоящей из галогена и (C_1 - C_3)алкила; и каждый R^3 независимо выбран из группы, состоящей из -галогена, -CN, -C(= NR^e) NR^eR^f , -C(=O) NR^eR^f и (C_1 - C_5)алкила.

4. Фармацевтическая композиция по п.2 или 3, отличающаяся тем, что кольцо В выбрано из группы, состоящей из

$$\begin{cases} (R^3)_m \\ \begin{cases} R^3 \\ N \end{cases} \end{cases} \begin{cases} (R^3)_m \\ \begin{cases} R^3 \\ N \end{cases} \end{cases} \begin{cases} (R^3)_m \\ (R^3)_m \\ N \end{cases}$$

где каждый R^4 представляет собой -H или (C_1 - C_5)алкил;

каждый р независимо имеет значение 0 или 1;

каждый R^1 независимо представляет собой галоген или (C_1 - C_3)алкил;

каждый R^3 независимо выбран из группы, состоящей из -галогена, -CN, -C(=NR $^{\rm e}$)NR $^{\rm e}$ R $^{\rm f}$, -C(=O)NR $^{\rm e}$ R $^{\rm f}$ и (C1-C5)алкила;

каждый R^e и каждый R^f независимо выбраны из группы, состоящей из -Н и метила; или R^e представляет собой -H и R^f представляет собой - (C_3-C_6) циклоалкил или 4-6-членный кислородсодержащий гетероциклил, каждый из которых необязательно имеет в качестве заместителя (C_1-C_2) алкил; и

каждый т имеет значение 0, 1 или 2.

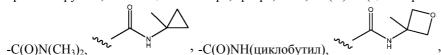
5. Фармацевтическая композиция по любому из пп.2-4, отличающаяся тем, что каждый R^1 независимо представляет собой хлор, фтор или метил;

каждый R^3 независимо выбран из группы, состоящей из хлора, фтора, -CN, -C(=NR $^{\rm e}$)NR $^{\rm e}$ R $^{\rm f}$, - $C(=O)NR^eR^f$ и метила;



необязательно имеет в качестве заместителя метил или гидроксиметил.

6. Фармацевтическая композиция по π .4 или 5, отличающаяся тем, что каждый \mathbb{R}^3 независимо выбран из группы, состоящей из хлора, фтора, -CN, -C(O)NH(циклопропил), -C(O)NH₂, -C(O)NH(CH₃),



, -C(=NH)NHCH₃ и метила. 7. Фармацевтическая композиция по п.2, отличающаяся тем, что R² представляет собой -Н или ме-

- 8. Фармацевтическая композиция по п.1, отличающаяся тем, что соединение представляет собой 6-[(3S)-4-[3-(6-фтор-4-оксо-3Н-хиназолин-2-ил)пропаноил]-3-метил-пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрил или его фармацевтически приемлемую соль.
- 9. Фармацевтическая композиция по п.1, отличающаяся тем, что соединение представляет собой 6-[(3S)-4-[3-(5-фтор-4-оксо-3H-хиназолин-2-ил)пропаноил]-3-метил-пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрил или его фармацевтически приемлемую соль.
 - 10. Соединение следующей структурной формулы:

или его фармацевтически приемлемая соль, где R¹ представляет собой F или метил; и

 R^3 представляет собой -CN, -C(=NH)NHCH₃.

11. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль по п.10, в которых

R¹ представляет собой F; и

 \mathbb{R}^3 представляет собой -CN.

- 12. Соединение по п.10, которое представляет собой 6-[(3S)-4-[3-(6-фтор-4-оксо-3H-хиназолин-2ил)пропаноил]-3-метил-пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрил или его фармацевтически приемлемую соль.
- 13. Соединение по п.10, которое представляет собой 6-[(3S)-4-[3-(5-фтор-4-оксо-3H-хиназолин-2ил)пропаноил]-3-метил-пиперазин-1-ил]пиридин-3-карбонитрил или его фармацевтически приемлемую соль.
- 14. Способ лечения субъекта, имеющего заболевание, которое может быть ослаблено путем ингибирования поли(АДФ-рибоза)полимеразы (РАЯР), включающий введение указанному субъекту эффективного количества фармацевтической композиции по любому из пп.1-9, или соединения, или его фар-

мацевтически приемлемой соли по любому из пп.10-13.

- 15. Способ лечения субъекта с острым повреждением почек, включающий введение указанному субъекту эффективного количества фармацевтической композиции по любому из пп.1-9, или соединения, или его фармацевтически приемлемой соли по любому из пп.10-13.
- 16. Способ лечения субъекта, страдающего раком, который может быть ослаблен путем ингибирования поли(АДФ-рибоза)полимеразы (PARP), включающий введение указанному субъекту эффективного количества фармацевтической композиции по любому из пп.1-9, или соединения, или его фармацевтически приемлемой соли по любому из пп.10-13.
- 17. Способ по п.14, отличающийся тем, что заболевание, которое может быть ослаблено путем ингибирования PARP, выбрано из генетической липодистрофии, неалкогольной жировой дегенерации печени (NAFLD), неалкогольного стеатогепатита (NASH), ишемического/реперфузионного повреждения почек (IRI), мышечной дистрофии Дюшенна и Беккера, диабета (типа I или типа II), ожирения, саркопении, болезни Альперса, хронической прогрессирующей наружной офтальмоплегии (СРЕО), синдрома Кернса-Сейра (KSS), наследственной оптической нейропатии Лебера (LHON), MELAS митохондриальной миопатии, энцефаломиопатии, лактоцидоза и инсультоподобных эпизодов, MERRF миоклонической эпилепсии с рваными мышечными волокнами, NARP нейрогенной мышечной слабости, атаксии и пигментного ретинита, синдрома Пирсона, ототоксичности, индуцированной химиотерапией препаратами платины, синдрома Коккейна, ксеродермы пигментной A, валлеровского перерождения и ВИЧ-индуцированной липодистрофии.
- 18. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-9, предназначенная для лечения раны и/или ожога у субъекта.
- 19. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-9, предназначенная для лечения острого повреждения почек у субъекта.
- 20. Способ лечения раны у субъекта, включающий введение указанному субъекту эффективного количества фармацевтической композиции по любому из пп.1-9, или соединения, или его фармацевтически приемлемой соли по любому из пп.10-13.
- 21. Способ лечения ожога у субъекта, включающий введение указанному субъекту эффективного количества фармацевтической композиции по любому из пп.1-9, или соединения, или его фармацевтически приемлемой соли по любому из пп.10-13.

PARP1-ингибиторы, описанные в Примере 29 и Примере 30, уменьшают повреждение почки

