

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(11) 041662

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента  
2022.11.18

(21) Номер заявки  
201892241

(22) Дата подачи заявки  
2015.01.23

(51) Int. Cl. C07D 487/04 (2006.01)  
A61K 31/5025 (2006.01)  
A61K 31/519 (2006.01)

(54) СПОСОБ ИНГИБИРОВАНИЯ ПРОТЕИН- ИЛИ ТИРОЗИНКИНАЗЫ В КЛЕТКЕ С ПРИМЕНЕНИЕМ ДИАРИЛЬНОГО МАКРОЦИКЛИЧЕСКОГО СОЕДИНЕНИЯ

(31) 61/931,506; 62/049,326; 62/106,301

(32) 2014.01.24; 2014.09.11; 2015.01.22

(33) US

(43) 2019.02.28

(62) 201691492; 2015.01.23

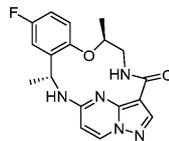
(56) US-A1-20130203776  
US-A1-20110294801  
US-A1-20130245021  
WO-A1-2012138859  
WO-A1-2013028465

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:  
ТЁРНИНГ ПОИНТ ТЕРАПЬЮТИКС,  
ИНК. (US)

(72) Изобретатель:  
Цуй Цзинжун Джин, Ли Ишань,  
Роджерс Эван В., Чжай Даюн (US)

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

(57) Изобретение относится к способу ингибирования в клетке протеин- или тирозинкиназы, выбранной из MET, ALK, ROS1, AXL, TRK и/или JAK, включающему приведение в контакт клетки с эффективным количеством конкретного диарильного макроциклического соединения или его фармацевтически приемлемой соли.



B1

041662

041662

B1

### Перекрестная ссылка на родственные заявки

В заявке на данное изобретение заявлен приоритет согласно 35 U.S.C. § 119(e) предварительных заявок США серийный номер 61/931506, поданной 24 января 2014 г., серийный номер 62/049326, поданной 11 сентября 2014 г., и серийный номер 62/106301, поданной 22 января 2015 г., полное содержание которых настоящим включено в данный документ путем ссылки во всей их полноте.

### Область техники

Данное изобретение относится к определенным диарил макроциклическим производным, фармацевтическим композициям, содержащим их, и способам их использования для лечения рака, боли, неврологических заболеваний, аутоиммунных заболеваний и воспаления.

### Уровень техники

Протеинкиназы являются основными регуляторами клеточного роста, пролиферации и выживания. Генетические и эпигенетические изменения накапливаются в раковых клетках, приводя к ненормальной активации путей сигнальной трансдукции, которая запускает злокачественные процессы. Manning, G. et al., *Science*, 2002, 298, 1912-1934. Фармакологическое ингибирование таких сигнальных путей представляет собой многообещающие возможности вмешательства для направленного лечения рака. Sawyers, C., *Nature*, 2004, 432, 294-297.

MET, вместе с RON, относится к уникальному подсемейству рецепторных тирозинкиназ и главным образом продуцируется в клетках эпителиального или эндотелиального происхождения. Park, M. et al., *Cell*, 1986, 45, 895-904. Фактор роста гепатоцитов (HGF), также известный как рассеивающий фактор (SF), является единственным известным природным высокоаффинным лигандом MET и в основном экспрессируется в клетках мезенхимального происхождения. Bottaro, D.P. et al., *Science*, 1991, 251, 802-804. HGF/MET сигналы контролируют MET-зависимые процессы клеточной пролиферации, выживания и миграции, которые являются критическими для инвазивного роста во время развития зародышей и постнатальной регенерации органов, и полностью активны у взрослых только для процессов исцеления ран и регенерации тканей, Trusolino, L. et al., *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 2010, 11, 834-848. HGF/MET ось часто положительно регулируют при многих видах рака посредством активирующей мутации, генной модификации, aberrантного паракрина или продуцирования аутокринного лиганда и сильно связан с опухолеогенезом, инвазивным ростом и метастазами, Gherardi, E. et al., *Nature Rev. Cancer*, 2012, 12, 89-103. Дополнительно, активация HGF/MET сигнализации возникает как важный механизм сопротивления EGFR и BRAF ингибиторных лечений посредством MET амплификации и/или положительной регуляции стромальной HGF, Engelman, J.A. et al., *Science*, 2007, 316, 1039-1043; Wilson, T.R. et al., *Nature*, 2012, 487, 505-509. Благодаря роли в aberrантной HGF/MET сигнализации в человеческом онкогенезе, инвазии/метастазах и сопротивлению ингибированию HGF/MET сигнального пути имеет огромный потенциал в терапии рака.

ALK вместе с лейкоцит-тирозинкиназой (LTK) группируется внутри инсулинового рецепторного (IR) суперсемейства рецепторных тирозинкиназ. ALK главным образом экспрессируется в центральной и периферической нервной системе, предполагая возможную роль в нормальном развитии и функционировании нервной системы, Pulford, K. et al., *Cell Mol. Life Sci.* 2004, 61, 2939. ALK сначала открыли как химерный белок, NPM (нуклеофосмин)-ALK, кодированный химерным геном, возникающим из t(2; 5)(p23; q35) хромосомальной транслокации в клеточных линиях анапластической неметаллоцелочной лимфомы (ALCL). Morris, S.W. et al., *Science*, 1994, 263, 1281. Более 200 отчетливо различимых ALK партнеров транслокации были обнаружены во многих видах рака, включая ALCL (60-90% встречаемость), воспалительных миофибробластных опухолях (IMT, 50-60%), неметаллоцелочных легочных карциномах (NSCLC, 3-7%), видах рака ободочной и прямой кишки (CR<sup>C</sup>, 0-2,4%), видах рака молочной железы (0-2,4%) и других карциномах. Grande, E. et al., *Mol. Cancer Ther.* 2011, 10, 569-579. ALK-химерные белки расположены в цитоплазме, и партнеры слияния с ALK участвуют в димеризации или олигомеризации химерных белков посредством взаимодействия виток-виток для генерации конститутивной активации ALK киназной функции. Bischof, D. et al., *Mol. Cell Biol.*, 1997, 17, 2312-2325. EML4-ALK, содержащая части микротубулин-ассоциированный белково-образный e4 (EML4) ген иглокожих и ALK ген, впервые обнаруженный в NSCLC, является высокоонкогенным и, как было показано, вызывает аденокарциному легких у трансгенных мышей. Soda, M. et al., *Nature*, 2007, 448, 561-566. Онкогенные точечные мутации ALK происходят как в семейных, так и в спорадических случаях нейробластомы. Mosse, Y.P. et al., *Nature*, 2008, 455, 930-935. ALK является привлекательной молекулярной мишенью для терапевтического вмешательства при раке ввиду важной роли в гематопозитических, солидных и мезенхимальных опухолях. Grande, supra.

Тропомозин-связанные рецепторные тирозинкиназы (Trks) являются высокоаффинным рецептором для нейротрофинов (NTs), семейства факторов роста нервов (NGF) белков. Члены семьи Trk сильно экспрессируются в клетках нервного происхождения. Активация Trks (TrkA, TrkB и TrkC) их предпочтительными нейротрофинами (NGF в TrkA, полученный из головного мозга нейротрофический фактор [BDNF] и NT4/5 в TrkB и NT3 в TrkC) опосредует выживание и дифференциацию нейронов во время развития. Сигнальный путь NT/Trk функционирует в качестве эндогенной системы, которая защищает нейроны после биохимических инсультов, преходящей ишемии или физической травмы. Thiele, C.J. et

al., *Clin. Cancer Revs.* 2009, 15, 5962-5967. Тем не менее Trk первоначально был клонирован как онкоген, слитый с геном тропомиозина во внеклеточном домене. Активирующие мутации, вызванные хромосомными перестройками или мутациями в NTRK1 (TrkA), были идентифицированы в папиллярной и медуллярной карциноме щитовидной железы и в последнее время в немелкоклеточном раке легких. Pierotti, M.A. et al., *Cancer Lett.* 2006, 232, 90-98; Vaishnavi, A. et al., *Nat. Med.* 2013, 19, 14 69-1472. Поскольку Trks играют важную роль в болевых ощущениях, а также в росте опухолевых клеток и сигнализации выживаемости, ингибиторы Trk рецепторных киназ могут обеспечить преимущества в качестве способов лечения боли и рака.

Рецепторная тирозинкиназа AXL относится к семейству TAM белков и первоначально была обнаружена у пациентов с хронической миелоидной лейкемией (CML) как неидентифицированный трансформирующий ген. Verma, A. et al., *Mol. Cancer Ther.* 2011, 10, 1763-1773. Первичный лиганд для рецепторов TAM является рост-останавливающим специфичным 6 белком (Gas6). AXL экспрессируется повсеместно и был обнаружен в самых разных органах и клетках, в том числе гиппокампе и мозжечке, моноцитах, макрофагах, тромбоцитах, эндотелиальных клетках (EC), сердце, скелетных мышцах, печени, почках и семенниках. Положительная регуляция Gas6/AXL сообщалась при многих раковых заболеваниях человека, включая рак толстой кишки, пищевода, щитовидной железы, молочной железы, легких, печени и астроцитому-глиобластому. Повышенная активация AXL наблюдалась в моделях рака легкого EGFR-мутантов *in vitro* и *in vivo* с приобретенной устойчивостью к эрлотинибу в отсутствие изменения EGFR T790M или активации MET. Zhang, Z. et al., *Nat. Genet.* 2012, 44, 852-860. Генетическое или фармакологическое ингибирование AXL восстанавливало чувствительность к эрлотинибу в этих моделях опухолей. Повышенная экспрессия AXL и в некоторых случаях его лиганда Gas6 была найдена в EGFR-мутантном раке легких, полученном от лиц с приобретенной устойчивостью к ингибиторам тирозинкиназ. Поэтому AXL является перспективной терапевтической мишенью для пациентов с EGFR-мутантным раком легких, которые приобрели устойчивость к действию ингибиторов EGFR.

Кризотиниб (PF-02341066) является тирозинкиназным препаратом, направленным на MET/ALK/ROS1/ROS с умеренной активностью против TRKs и AXL. Cui, J.J. et al., *J. Med. Chem.* 2011, 54, 6342-6363. Он был одобрен для лечения некоторых пациентов с поздней стадией (местно-распространенного или метастатического) NSCLC, экспрессирующего аномальный слитый ген ALK, идентифицированный с помощью диагностического теста-компаньона (набор Vysis ALK Break Apart FISH Probe). Подобно иматинибу и другим препаратам ингибиторам киназы, сопротивление неизменно развивается через определенное время лечения кризотинибом. Механизмы сопротивления включают амплификацию гена ALK, вторичные мутации ALK и аномальную активацию других киназ, включая KIT и EGFR. Katayama, R. et al., *Sci. Transl. Med.* 2012, 4, 120ra17. На основании клинического успеха второго поколения ABL ингибиторов для лечения резистентности к иматинибу у пациентов с CML возникает второе поколение ингибиторов ALK. Эти препараты нацелены на лечение кризотиниб-резистентных пациентов с NSCLC с более мощным ингибированием против как диких, так и мутантных белков ALK. Gridelli, C. et al., *Cancer Treat Rev.* 2014, 40, 300-306.

Модулируя несколько мишеней в группе структурно родственных тирозинкиназ MET, ALK, AXL и TRK, соединения, описанные в данном документе, направлены на резистентность к кризотинибу, резистентности к препарату ингибитору EGFR и другие первичные показания с аномальной клеточной сигнализацией вследствие MET, ALK, AXL и/или TRK мутаций и генной амплификации. Соединения, которые описаны в настоящем документе, являются ингибиторами MET, диких и мутантных ALKs, AXL и TRKs и будут полезны при лечении онкологических больных с аномальными сигналами от любого одного или нескольких из MET, ALK, AXL или TRKs.

Семейство янус-киназ (JAKs) включает JAK1, JAK2, JAK3 и TYK2, и они являются цитоплазматическими тирозинкиназами, необходимыми для физиологической сигнализации цитокинов и факторов роста. Quintas-Cardama, A. et al., *Nat. Rev. Drug Discov.* 2011, 10(2), 127-40; Pesu, M. et al., *Immunol. Rev.* 2008, 223, 132-142; Murray, P.J., *J. Immunol.* 2007, 178(5), 2623-2329. JAKs активируются с помощью индуцированной лигандами олигомеризации, что приводит к активации нижнего пути транскрипционной передачи сигнала под названием STAT (преобразователи сигналов и активаторов транскрипции). Фосфорилированные STATs димеризуются и транслоцируются в ядро для запуска экспрессии специфических генов, участвующих в пролиферации, апоптозе, дифференциации, которые необходимы для кроветворения, воспаления и иммунного ответа. Murray, *supra*.

Исследования мышиноного нокаута подразумевали основные роли JAK-STAT сигналов с некоторым их перекрытием. JAK1 играет критическую роль в сигнализации различных провоспалительных цитокинов, таких как IL-1, IL-4, IL-6 и альфа-фактор некроза опухолей (TNF $\alpha$ ). Muller, M. et al., *Nature*, 1993, 366(6451), 129-135. JAK2 функции для для сигналов гематопозитичных факторов роста, таких как Epo, IL-3, IL-5, GM-CSF, тромбопоэтинового соматотропина и пролактин-опосредованных сигналов. Neubauer, H. et al., *Cell*, 1998 93(3), 397-409. JAK3 участвует в опосредовании иммунных ответов, и TYK2 связан с JAK2 или JAK3 для передачи сигналов цитокинов, таких как IL-12. Nosaka, T. et al., *Science*, 1995, 270(5237), 800-802; Vainchenker, W. et al., *Semin. Cell. Dev. Biol.* 2008, 19(4), 385-393.

Аберрантное регулирование JAK/STAT путей участвовало во многих человеческих патологических

заболеваниях, включая рак (JAK2) и ревматоидный артрит (JAK1, JAK3). Мутация восстановления функций JAK2 (JAK2V617F) была обнаружена у многих пациентов с MPN. Levine, R.L. et al., *Cancer Cell*, 2005, 7(4), 387-397; Kralovics, R. et al., *N. Engl. J. Med.* 2005, 253(17), 1779-1790; James, C. et al., *Nature*, 2005, 434(7037), 1144-1148; Baxter, E.J. et al., *Lancet*, 2005, 365(9464), 1054-1061. Мутация в JH2 псевдокинажном домене JAK2 приводит к существенно киназной активности. Клетки, содержащие JAK2V617F мутацию, приобретают цитокин-независимую способность к росту и часто превращаются в опухоль, обеспечивая надежную основу для развития JAK ингибиторов в качестве целевой терапии.

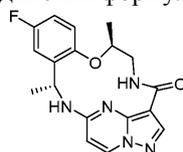
Многие ингибиторы JAK в клинических испытаниях продемонстрировали значительное преимущество при спленомегалии и связанными с заболеванием конституциональными симптомами для пациентов с миелофиброзом, включая первый одобренный FDA (Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США) ингибитор руксолитиниб в 2011 г. Quintas-Cardama, supra, Sonbol, M.B. et al., *Ther. Adv. Hematol.* 2013, 4(1), 15-35; La Fave, L.M. et al., *Trends Pharmacol. Sci.* 2012, 33(11), 574-582. Недавно собранные клинические данные относились к лечению руксолитинибом, указывая на то, что ингибиторы JAK работают как в случаях JAK2 дикого типа, так и в случаях JAK2 мутаций. Verstovsek, S. et al., *N. Engl. J. Med.* 2012, 366(9), 799-807; Quintas-Cardama, A. et al., *Blood*, 2010, 115(15), 3109-3117. Открытие селективных ингибиторов JAK2 в отношении JAK1/3 остается нерешенной задачей. Кроме того, гиперактивация JAK2/преобразователей сигналов и активаторов транскрипции 3 (JAK2/STAT3) отвечает за ненормальную дифференциацию дендритных клеток, что приводит к ненормальной дендритной дифференциации клеток и накоплению иммуносупрессивных миелоидных клеток при раке (Nefedova, Y. et al., *Cancer Revs.* 2005; 65(20):9525-35). В Pten-нулевых стареющих опухолях активация пути Jak2/Stat3 устанавливает иммунодепрессивное микроокружение опухоли, что способствует росту опухолей и резистивности к химиотерапевтическим средствам (Toso, A. et al., *Cell Reports* 2014, 9, 75-89). Таким образом, фармакологическое ингибирование JAK2/STAT3 пути может быть важной новой терапевтической стратегией для повышения противоопухолевой активности с помощью регуляции противоопухолевого иммунитета.

ROS1 киназа представляет собой рецепторную тирозинкиназу с неизвестным лигандом. Нормальные функции человеческой ROS1 киназы не были полностью понятны. Однако сообщалось, что ROS1 киназа претерпевает генетические перестановки для создания конститутивно активных химерных белков во множестве видов человеческого рака, включая глиобластому, немелкоклеточный рак легких (NSCLC), холангиокарциному, рак яичников, аденокарциному желудка, рак ободочной и прямой кишки, воспалительную миофибробластную опухоль, ангиосаркому и эпителиоидную гемангиоэндотелиому (Davies, K.D. et al., *Clin. Cancer Revs.* 2013, 19(15):4040-4045). Направленные на ROS1 химерные белки с кризотинибом показали многообещающую клиническую эффективность у пациентов с NSCLC, опухоли которых являются позитивными для ROS1 генетических аномалий (Shaw, A.T. et al., *N. Engl. J. Med.* 2014, 371(21):1963-1971). Приобретенные резистентные мутации наблюдались у пациентов, которых лечили кризотинибом (Awad, M.M. et al., *N. Engl. J. Med.* 2013, 368(25):2396-2401). Необходимо срочно разработать второе поколение ингибиторов ROS1 для преодоления резистентности к кризотинибу ROS1.

Остается потребность в малых молекулах ингибиторов этих нескольких белковых или тирозинкиназных мишеней с желательными фармацевтическими свойствами. Определенные диарильные макроциклические соединения, как было обнаружено в контексте в соответствии с данным изобретением, имеют такой благоприятный профиль активности.

### Сущность изобретения

В одном аспекте данное изобретение относится к способу ингибирования в клетке протеин- или тирозинкиназы, выбранной из MET, ALK, ROS1, AXL, TRK и/или JAK, включающему приведение в контакт клетки с эффективным количеством соединения формулы



или его фармацевтически приемлемой соли,

где приведение в контакт происходит *in vitro*, *ex vivo* или *in vivo*.

Для краткости, описания публикаций, процитированных в данном описании, включая патенты, настоящим включены в данный документ путем ссылки.

### Описание графических материалов

Фиг. 1 иллюстрирует порошковую рентгенограмму кристаллической полиморфной формы 1 свободного основания 11-фторо-14-метил-6,7,13,14-тетрагидро-1,15-этенонипиразола[4,3-f][1,4,8,10]бензоксатриазациклотридецин-4(5H)-она (пример 20).

Фиг. 2 демонстрирует термограмму дифференциальной сканирующей калориметрии кристаллической полиморфной формы 1 свободного основания 11-фторо-14-метил-6,7,13,14-тетрагидро-1,15-тиенопипиразола[4,3-f][1,4,8,10]бензоксатриазациклотридецин-4(5H)-она (пример 20).

### Подробное описание изобретения

Перед тем как настоящее изобретение описывать далее, следует понимать, что данное изобретение не ограничено конкретными описанными вариантами реализации, поскольку таковые могут, конечно, варьироваться. Кроме того, следует понимать, что терминология, используемая в данном документе для целей описания конкретных вариантов реализации изобретения, не предназначена для ограничения, поскольку объем данного изобретения будет ограничен только прилагаемой формулой изобретения.

Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют то же значение, которое обычно понимается обычным специалистом в данной области техники, к которой относится данное изобретение. Все патенты, заявки, опубликованные заявки и другие публикации, указанные в данном документе, включены в него в качестве ссылки во всей их полноте. Если определение, изложенное в данном разделе, противоречит или иным образом не согласуется с определением, изложенным в патенте, патентной заявке, или другой публикации, которая включена в данный документ в качестве ссылки, то определение, изложенное в этом разделе, превалирует над определением, которое включено в данный документ путем ссылки.

Как используют в данном документе и в прилагаемой формуле изобретения, формы единственного числа включают множественное число, если из контекста явно следует иное. Следует также отметить, что пункты формулы изобретения могут быть составлены таким образом, чтобы исключить любой необязательный элемент. Таким образом, это утверждение предназначено служить в качестве предшествующей основы для использования такой исключительной терминологии, как "исключительно", "только" и т.п., в связи с перечислением элементов пункта формулы изобретения или для использования "негативного" ограничения.

Как используют в данном документе, термины "включая" и "содержащий" используют в их открытом, не ограничивающем смысле.

Для обеспечения более краткого описания некоторые количественные выражения, приведенные в данном документе, определяются термином "приблизительно". Понятно, что, будет ли использован термин "приблизительно" явным образом или нет, каждое количество, указанное в данном документе, предназначено для обозначения фактического заданного значения и также предназначено для обозначения приближения к такому данному значению, которое разумно будет выведено исходя из обычной квалификации в данной области техники, включая эквиваленты и приближения вследствие экспериментальных условий и/или условий измерения для такой заданной величины. Всякий раз, когда выход приведен в процентах, такой выход относится к массе объекта, для которого выход приведен относительно максимального количества того же объекта, который может быть получен в соответствии с конкретными стехиометрическими условиями. Концентрации, которые выражены в процентах, относятся к массовым соотношениям, если не указано иное.

Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют такое же значение, которое обычно понимает средний специалист в данной области, к которой относится данное изобретение. Хотя любые способы и материалы, подобные или эквивалентные описанным в данном документе, также могут быть использованы при реализации на практике или при тестировании в соответствии с данным изобретением, предпочтительные способы и материалы описаны ниже. Все публикации, указанные в данном документе, включены в данный документ в качестве ссылки для раскрытия и описания способов и/или материалов, в связи с которыми эти публикации цитируются.

Если иное не указано, методы и приемы вариантов реализации данного изобретения, как правило, выполняют в соответствии с обычными способами, хорошо известными в данной области техники и как описано в различных общих и более конкретных ссылках, которые цитируются и обсуждаются в настоящем описании. См., например, Loudon, *Organic Chemistry, Fourth Edition*, New York: Oxford University Press, 2002, p. 360-361, 1084-1085; Smith and March, *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, Fifth Edition*, Wiley-Interscience, 2001.

Химическая номенклатура для соединений, описанных в настоящем документе, в целом была получена с использованием коммерчески доступных программы ACD/Name 2014 (ACD/Labs) или ChemBioDraw Ultra 13.0 (Perkin Elmer).

Следует понимать, что определенные признаки изобретения, которые для ясности описаны в контексте отдельных вариантов реализации изобретения, также могут быть представлены в комбинации в одном варианте реализации изобретения. Наоборот, различные признаки изобретения, которые для краткости описаны в контексте одного варианта реализации изобретения, могут также быть представлены по отдельности или в любой подходящей подкомбинации. Все комбинации вариантов реализации изобретения, относящиеся к химическим группам, представленные переменными, конкретно охватываются настоящим изобретением и описаны в данном документе таким образом, как если бы каждая и все комбинации были описаны по отдельности и в явном виде в той степени, что такие комбинации охватывают соединения, которые являются стабильными соединениями (т.е. соединениями, которые могут быть выделены, охарактеризованы и испытаны на биологическую активность). Дополнительно, все подкомбинации химических групп, перечисленные в вариантах исполнения изобретения, описывающих такие переменные, также конкретно охватываются настоящим изобретением и описаны в данном документе так,

как если бы каждые и все такие подкомбинации химических групп были описаны по отдельности и в явном виде в данном документе.

#### Химические определения

Любая формула, изображенная в данном документе, предназначена для представления соединения этой структурной формулы, а также определенных вариантов или форм. Например, формула, приведенная в данном документе, предполагает включение рацемической формы или одного или несколько энантиомерных, диастереомерных или геометрических изомеров или их смеси. Кроме того, любая формула, приведенная в данном описании, предназначена для обозначения также гидрата, сольвата, или полиморфной формы такого соединения или их смеси.

Любая формула, представленная в данном документе, также предназначена для представления немаркированных форм, а также меченных изотопами форм соединений. Меченные изотопами соединения имеют структуры, изображенные формулами, приведенными в данном документе, за исключением того, что один или более атомов заменены атомами, имеющими выбранную атомную массу или массовое число. Примеры изотопов, которые могут быть включены в соединения в соответствии с данным изобретением, включают изотопы водорода, углерода, азота, кислорода, фосфора, фтора, хлора и йода, такие как  $^2\text{H}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{18}\text{O}$ ,  $^{17}\text{O}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{18}\text{F}$ ,  $^{36}\text{Cl}$  и  $^{125}\text{I}$  соответственно. Такие изотопно меченые соединения полезны в метаболических исследованиях (предпочтительно с  $^{14}\text{C}$ ), исследованиях кинетики реакций (например, с  $^2\text{H}$  или  $^3\text{H}$ ), методах детекции или визуализации [таких как позиционно-эмиссионная томография (PET) или однофотонная эмиссионная компьютерная томография (SPECT)], включая анализы распределения лекарственных средств или субстратов в тканях, или радиоактивном лечении пациентов. Кроме того, замещение более тяжелыми изотопами, такими как дейтерий (т.е.  $^2\text{H}$ ), может давать определенные терапевтические преимущества в результате более высокой метаболической стабильности, например повышенного *in vivo* полураспада или уменьшения требований к дозировке. Меченные изотопами соединения в соответствии с данным изобретением и их пролекарства обычно могут быть получены путем проведения процедур, описанных в схемах или в примерах и препаратах, описанных ниже, путем замены легкодоступного меченого изотопами реагента на немеченный изотопами реагент.

Настоящее изобретение также включает фармацевтически приемлемые соли соединения и фармацевтические композиции, содержащих такие соли, и способы применения таких солей.

"Фармацевтически приемлемая соль" означает соль свободной кислоты или основания соединения, представленного в данном документе, которая является нетоксичной, биологически переносимой или иным образом биологически пригодной для введения субъекту. См., в общем, S.M. Berge, et al., "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci., 1977, 66, 1-19. Предпочтительными фармацевтически приемлемыми солями являются фармакологически эффективные и пригодные для контакта с тканями субъектов без чрезмерной токсичности, раздражения или аллергической реакции. Соединение, описанное в данном документе, может обладать достаточно кислотной группой, достаточно основной группой, обоими типами функциональных групп или более чем одной каждого типа и, соответственно, реагировать с рядом неорганических или органических оснований и неорганических и органических кислот с образованием фармацевтически приемлемой соли.

Примеры фармацевтически приемлемых солей включают сульфаты, пиросульфаты, бисульфаты, сульфиты, бисульфиты, фосфаты, монокислые фосфаты, дикислые фосфаты, метафосфаты, пирофосфаты, хлориды, бромиды, йодиды, ацетаты, пропионаты, деканоаты, каприлаты, акрилаты, формиаты, изобутираты, капроаты, гептаноаты, пропиолаты, оксалаты, малонаты, сукцинаты, субераты, себацаты, фумараты, малеаты, бутен-1,4-диоаты, гексин-1,6-диоаты, бензоаты, хлоробензоаты, метилбензоаты, динитробензоаты, гидроксibenзоаты, метоксibenзоаты, фталаты, сульфонаты, метилсульфонаты, пропилсульфонаты, бесилаты, килосульфонаты, нафталин-1-сульфонаты, нафталин-2-сульфонаты, фенилацетаты, фенилпропионаты, фенилбутираты, цитраты, лактаты,  $\gamma$ -гидроксibuтираты, гликоляты, тартраты и манделаты. Списки других подходящих фармацевтически приемлемых солей см. в R<sup>E</sup>mington's Pharmaceutical Sciences, 17<sup>th</sup> Edition, Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985.

Для соединения по изобретению, которое содержит основной азот, фармацевтически приемлемая соль может быть получена любым подходящим способом, доступным в данной области техники, например обработкой свободного основания неорганической кислотой, такой как соляная кислота, бромистоводородная кислота, серная кислота, сульфаминовая кислота, азотная кислота, борная кислота, фосфорная кислота и т.п., или органической кислотой, такой как уксусная кислота, фенилуксусная кислота, пропионовая кислота, стеариновая кислота, молочная кислота, аскорбиновая кислота, малеиновая кислота, гидроксималеиновая кислота, изэтионовая кислота, янтарная кислота, валериановая кислота, фумаровая кислота, малоновая кислота, пировиноградная кислота, щавелевая кислота, гликолевая кислота, салициловая кислота, олеиновая кислота, пальмитиновая кислота, лауриновая кислота, пиранозидильная кислота, такая как глюкоуроновая кислота или галактууроновая кислота, альфа-гидрокси кислота, такая как миндальная кислота, лимонная кислота, или винная кислота, аминокислота, такая как аспарагиновая кислота или глутаминовая кислота, ароматическая кислота, такая как бензойная кислота, 2-ацетоксибензойная кислота, нафтойная кислота, или коричная кислота, сульфоновая кислота, такая как лаурилсульфоновая

кислота, *p*-толуолсульфоновая кислота, метансульфоновая кислота или этансульфоновая кислота, или любая совместимая смесь кислот, таких как те, которые приведены в качестве примеров в данном документе, и любая другая кислота и их смесь, которые рассматриваются в качестве эквивалентов или приемлемых заместителей с учетом обычного уровня знаний в данной технологии.

#### **Фармацевтические композиции**

Для лечебных целей фармацевтические композиции, содержащие соединение, описанное в данном документе, могут дополнительно содержать один или несколько фармацевтически приемлемых эксципиентов. Фармацевтически приемлемый эксципиент представляет собой вещество, которое является нетоксичным и иным образом биологически пригодным для введения субъекту. Такие эксципиенты облегчают введение соединений, описанных в данном документе, и совместимы с активным ингредиентом. Примеры фармацевтически приемлемых наполнителей включают стабилизаторы, смазывающие вещества, поверхностно-активные вещества, разбавители, антиоксиданты, связывающие вещества, окрашивающие агенты, наполнители, эмульгаторы или модифицирующие вкус агенты. В предпочтительных вариантах реализации изобретения фармацевтические композиции, предлагаемые в данном изобретении, являются стерильными композициями. Фармацевтические композиции могут быть получены с использованием методов компаундирования, известных или которые становятся доступными специалистам в данной области техники.

Стерильные композиции также охвачены данным изобретением, в том числе композиции, которые соответствуют национальным и местным правилам, регулирующим такие композиции.

Фармацевтические композиции и соединения, описанные в данном документе, могут быть приготовлены в виде растворов, эмульсий, суспензий или дисперсий в подходящих фармацевтических растворителях или носителях, или как пилюли, таблетки, пастилки, суппозитории, саше, драже, гранулы, порошки, порошки для восстановления, или капсулы вместе с твердыми носителями в соответствии с обычными способами, известными в данной области техники, для приготовления различных лекарственных форм. Фармацевтические композиции в соответствии с данным изобретением могут быть введены с помощью подходящего способа доставки, такого как пероральная, парентеральная, ректальная, назальная, местная, или глазами маршрутами, или путем ингаляции. Предпочтительно композиции составляют для внутривенного или перорального введения.

Для перорального введения соединения изобретение может быть представлено в твердой форме, такой как таблетки или капсулы, или в виде раствора, эмульсии или суспензии. Для приготовления композиций для полости рта соединения в соответствии с данным изобретением могут быть приготовлены, чтобы получить дозу, например, от приблизительно 0,1 мг до 1 г в день, или приблизительно от 1 до 50 мг в день, или приблизительно от 50 до 250 мг в день, или приблизительно 250 мг до 1 г в день. Пероральные таблетки могут содержать активный ингредиент(ы) в смеси с совместимыми фармацевтически приемлемыми наполнителями, такими как разбавители, дезинтеграторы, связующие агенты, смазывающие агенты, подсластители, агенты, ароматизаторы, красящие агенты и консервирующие агенты. Подходящие инертные наполнители включают карбонат натрия и кальция, фосфат натрия и кальция, лактозу, крахмал, сахар, глюкозу, целлюлозу, метил стеарат магния, маннит, сорбит и т.п. Иллюстративные жидкие пероральные эксципиенты включают этанол, глицерин, воду и т.п. Крахмал, поливинилпирролидон (PVP), натрийкрахмалгликолят, микрокристаллическая целлюлоза и альгиновая кислота являются иллюстративными дезинтегрирующими агентами. Связующие вещества могут включать крахмал и желатин. Смазочное вещество, если оно присутствует, может быть стеаратом магния, стеариновой кислотой или тальком. При желании, таблетки могут быть покрыты таким материалом, как глицерилмоностеарат или глицерилдистеарат, чтобы задерживать всасывание в желудочно-кишечном тракте, или могут быть покрыты энтеросолюбильным покрытием.

Капсулы для перорального введения включают твердые и мягкие желатиновые капсулы. Для приготовления твердых желатиновых капсул активный ингредиент(ы) может быть смешан с твердым, полутвердым или жидким разбавителем. Мягкие желатиновые капсулы могут быть получены путем смешивания активного ингредиента с водой, маслом, таким как арахисовое масло или оливковое масло, жидким парафином, смесью моно- и диглицеридов короткоцепочечных жирных кислот, полиэтиленгликолем 400 или пропиленгликолем.

Жидкости для перорального введения могут быть в виде суспензий, растворов, эмульсий или сиропов или могут быть лиофилизированными или представлены в виде сухого продукта для восстановления водой или другой подходящей основой перед использованием. Такие жидкие композиции могут необязательно содержать: фармацевтически приемлемые наполнители, такие как суспендирующие агенты (например, сорбит, целлюлоза, метил альгинат натрия, желатин, гидроксиэтилцеллюлоза, карбоксиметилцеллюлоза, гель стеарата алюминия и т.п.); неводные основы, например масло (например, миндальное масло или фракционированное кокосовое масло), пропиленгликоль, этиловый спирт или воду; консерванты (например, метил, или пропил-*p*-гидроксibenзоат, или сорбиновую кислоту); смачивающие агенты, такие как лецитин; и, при желании, ароматизатор или красители.

Для парентерального применения, в том числе внутривенного, внутримышечного, внутрибрюшинного, интраназального или подкожного маршрутов, агенты в соответствии с данным изобретением могут

быть представлены в виде стерильных водных растворов или суспензий, забуферированы до соответствующего рН и изотоничности или в парентерально приемлемом масле. Подходящие водные носители включают раствор Рингера и изотонический хлорид натрия. Такие формы могут быть представлены в виде единичной дозы, такой как ампулы или одноразовые устройства для инъекций, в формах для многократных дозровок, таких как флаконы, из которых соответствующая доза может быть извлечена, или в твердой форме или предварительно концентрированы, что может быть использовано для получения препарата для инъекций.

Иллюстративные инфузионные дозы находятся в диапазоне от приблизительно 1 до 1000 мкг/кг/мин агента в смеси с фармацевтическим носителем в течение периода времени от нескольких минут до нескольких дней.

Для назального, ингаляционного или перорального введения фармацевтические композиции в соответствии с данным изобретением можно вводить с использованием, например, препарата в виде спрея, также содержащего соответствующий носитель. Композиции в соответствии с данным изобретением могут быть получены для ректального введения в виде суппозитория.

Для местного применения соединения в соответствии с данным изобретением предпочтительно получают в виде кремов или мазей или подобной основы, пригодной для местного применения. Для местного применения соединения в соответствии с данным изобретением могут быть смешаны с фармацевтическим носителем при концентрации от приблизительно 0,1 до приблизительно 10% лекарственного средства на основу. Другой способ применения агентов в соответствии с данным изобретением может использовать композицию для пластырей для осуществления трансдермальной доставки.

Как использовано в данном документе, термины "лечить" или "лечение" охватывают как "профилактическое", так и "лечебное" лечение. "Профилактическое" лечение предназначено для указания на отсрочку развития заболевания, симптома заболевания или заболевания, подавляя симптомы, которые могут возникнуть, или уменьшая риск развития или рецидива заболевания или симптома. "Лечебное" лечение включает снижение тяжести или подавление ухудшения существующего заболевания, симптома, или состояния.

Таким образом, лечение включает ослабление или предотвращение ухудшения существующих симптомов заболевания, предотвращая возникновение дополнительных симптомов, ослабление или предотвращение лежащих в основе системных причин симптомов, ингибирование расстройства или заболевания, например купирование развития расстройства или заболевания, облегчение расстройства или заболевания, регрессию расстройства или заболевания, облегчение состояния, вызванного заболеванием или расстройством, или прекращение симптомов заболевания или расстройства.

Термин "субъект" относится к млекопитающему пациенту, который нуждается в таком лечении, такому как человек.

Иллюстративные заболевания включают рак, боль, неврологические заболевания, аутоиммунные заболевания и воспаление. Рак включает, например, рак легких, рак толстой кишки, рак молочной железы, рак предстательной железы, гепатоцеллюлярную карциному, почечно-клеточный рак, рак желудка и пищевода-желудочный рак, глиобластому, рак головы и шеи, воспалительные миофибробластические опухоли и анапластические немелкоклеточные лимфомы. Боль включает, например, боль от любого источника или этиологии, в том числе боль при раке, боль от химиотерапевтического лечения, нервную боль, боль от травмы или от других источников. Аутоиммунные заболевания включают, например, ревматоидный артрит, синдром Шегрена, сахарный диабет I типа и волчанку. Иллюстративные неврологические заболевания включают болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, боковой амиотрофический склероз и болезнь Хантингтона. Иллюстративные воспалительные заболевания включают атеросклероз, аллергию и воспаление от инфекции или травмы.

В одном аспекте соединения и фармацевтические композиции в соответствии с данным изобретением специфически направлены на рецепторные тирозинкиназы, в частности MET, ALK, AXL, TRK и JAK. Таким образом, эти соединения и фармацевтические композиции могут быть использованы для профилактики, изменения хода, замедления или ингибирования активности одной или нескольких из этих киназ. В предпочтительных вариантах реализации изобретения способы лечения направлены на рак. В других вариантах реализации изобретения способы представляют собой способы лечения рака легких или немелкоклеточного рака легких.

В ингибирующих способах в соответствии с данным изобретением "эффективное количество" означает количество, достаточное для ингибирования целевого белка. Измерение такой целевой модуляции может быть выполнено с помощью обычных аналитических методов, таких как те, которые описаны ниже. Такая модуляция полезна в различных ситуациях, в том числе в анализах *in vitro*. В таких способах клетка предпочтительно представляет собой клетку рака с аномальной сигнализацией вследствие повышающей регуляции Met, ALK, AXL, TRKs и/или JAK.

В способах лечения согласно данному изобретению "эффективное количество" означает количество или дозу, достаточную для общего получения желаемого терапевтического эффекта у субъектов, нуждающихся в таком лечении. Эффективные количества или дозы соединений в соответствии с данным изобретением могут быть установлены с помощью обычных методов, таких как моделирование, эскала-

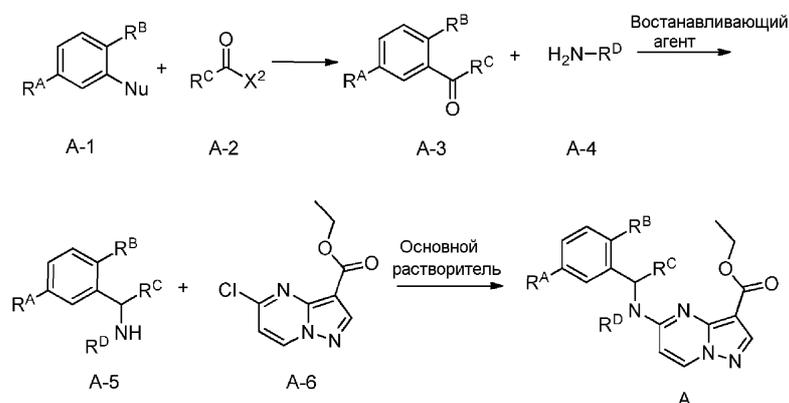
ция дозы, или клинических испытаний с учетом обычных факторов, например режима или маршрута введения или доставки лекарственных средств, фармакокинетики агента, тяжести и течения инфекции, состояния здоровья субъекта, состояния и веса, а также суждения лечащего врача. Иллюстративная доза находится в диапазоне от приблизительно от 0,1 мг до 1 г в день, или приблизительно от 1 до 50 мг в день, или приблизительно от 50 до 250 мг в день, или приблизительно от 250 мг до 1 г в день. Общая дозировка может быть дана в виде одной или отдельных единиц дозировки (например, BID, TID, QID).

После того как произошло улучшение заболевания пациента, доза может быть скорректирована для профилактического или поддерживающего лечения. Например, доза или частота введения или оба компонента могут быть уменьшены в зависимости от симптомов до уровня, при котором сохраняется желаемый терапевтический или профилактический эффект. Конечно, если симптомы были облегчены до соответствующего уровня, лечение может быть прекращено. Пациенты могут, однако, требовать периодического лечения на долговременной основе при любом рецидиве симптомов. Пациенты могут также потребовать хронического лечения на долгосрочной основе.

#### Химический синтез

Иллюстративные химические соединения, используемые в способах в соответствии с данным изобретением, будут описаны со ссылкой на иллюстративные схемы синтеза для их общего получения, приведенные ниже, и на конкретные примеры, которые приведены ниже. Специалист в данной области техники понимает, что для получения различных соединений в данном документе исходные материалы могут быть соответствующим образом выбраны таким образом, чтобы, в конечном счете, желаемые заместители будут перенесены по схеме реакции с или без защиты по мере необходимости, с получением целевого продукта. В качестве альтернативы может быть необходимо или желательно использовать вместо, в конечном счете, желаемого заместителя подходящую группу, которая может быть перенесена через схему реакции и заменена в соответствующих случаях желаемым заместителем. Кроме того, специалисту в данной области техники будет понятно, что преобразования, показанные на схемах ниже, могут быть выполнены в любом порядке, который совместим с функциональностью конкретных подвешенных (боковых) групп. Каждую из реакций, изображенных на общих схемах, предпочтительно проводят при температуре от приблизительно 0°C до температуры дефлегмации используемого органического растворителя. Если не указано иное, то переменные имеют значения, указанные выше в ссылке на формулу (I). Меченные изотопами соединения, описанные в данном документе, получают в соответствии со способами, описанными ниже, с использованием соответствующим образом меченых исходных материалов. Такие материалы, как правило, доступны от коммерческих поставщиков химических радиоактивно меченых реактивов.

Общий способ A:



Будет оценено, что соединения формулы A или A-1 могут быть получены в соответствии с общим методом с использованием соответствующим образом функционализированных исходных материалов и промежуточных веществ.

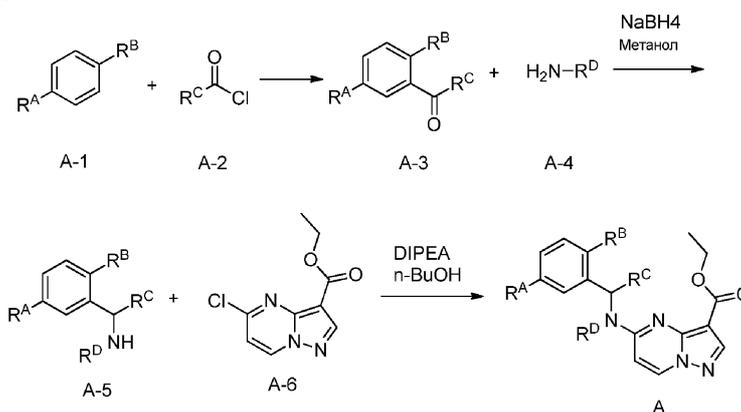
Стадия 1. К раствору соответствующим образом функционализированного соединения A-1 (~1,00 экв.), TD, где  $R^A$  и  $R^B$  представляют собой группы, совместимые с условиями реакции, описанными в данном документе, и Nu представляет собой нуклеофильную группу, такую как анион, или группу, способную образовывать нуклеофил, такой как галид, в реагенте, способном усиливать сочетание A-1 и A-2, таком как кислота (например, TfOH (0,6 M)) или алкил галид (например, n-BuLi), может быть добавлена A-2, где  $R^C$  представляет собой группу, совместимую с условиями реакции, описанными в данном документе, и  $X^2$  представляет собой, например, отходящую группу (~1,00 экв.) при соответствующей температуре (например, 0°C). Смесь может быть перемешана при соответствующей температуре (например, 60°C) до завершения реакции. Реакция затем может быть возвращена до температуры окружающей среды, реакционная смесь может быть погашена, нейтрализована, промыта, экстрагирована, высушена и/или концентрирована в вакууме по мере необходимости с получением A-3.

Стадия 2. Смесь A-3, где  $R^A$ ,  $R^B$  и  $R^C$  представляют собой группы, совместимые с условиями реак-

ции, описанными в данном документе (в некоторых иллюстративных вариантах реализации изобретения, описанных в данном документе, А-3 может быть коммерчески доступным альдегидом или кетоном или А-3 может быть получен на стадии 1, ~1,00 экв.), и А-4 (А-4 может быть коммерчески доступным амином, где R<sup>C</sup> представляет собой группу, совместимую с условиями реакции, описанными в данном документе, (~1,50 экв.) в соответствующем растворителе (например, метаноле (0,5 М)), может быть перемешана при соответствующей температуре (например, температуре окружающей среды) в течение соответствующего периода времени или до завершения превращения согласно данным ТСХ или ЖХ-МС. В реакционный раствор может быть добавлен восстановитель (например, NaBH<sub>4</sub> (~2,00 экв.)) по порциям. Смесь может быть перемешана при соответствующей температуре (например, температуре окружающей среды), пока ТСХ или ЖХ-МС не продемонстрирует завершение реакции. Реакцию можно погасить, промыть, экстрагировать, высушить и/или концентрировать в вакууме по мере необходимости с получением А-5.

Стадия 3. Смесь, полученная или коммерчески доступная А-5, где R<sup>A</sup>, R<sup>B</sup> и R<sup>C</sup> представляют собой группы, совместимые с условиями реакции, описанными в данном документе (~1 экв.), коммерчески доступный этил 5-хлоропиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоксилат (А-6, ~1 экв.) и соответствующее основание (например, диизопропилэтиламин (~5 экв.)) в соответствующем растворителе (например, бутаноле (0,4 М)) может быть перемешана при соответствующей температуре (например, 110°C) в течение установленного периода времени или пока завершение реакции не будет продемонстрировано. Реакция может быть возвращена до температуры окружающей среды и разбавлена водой по мере необходимости. Смесь может быть экстрагирована, промыта, высушена, концентрирована при пониженном давлении и/или очищена хроматографическими методами по мере необходимости с получением А.

В некоторых примерных вариантах реализации изобретения общий способ А может выполняться следующим образом:

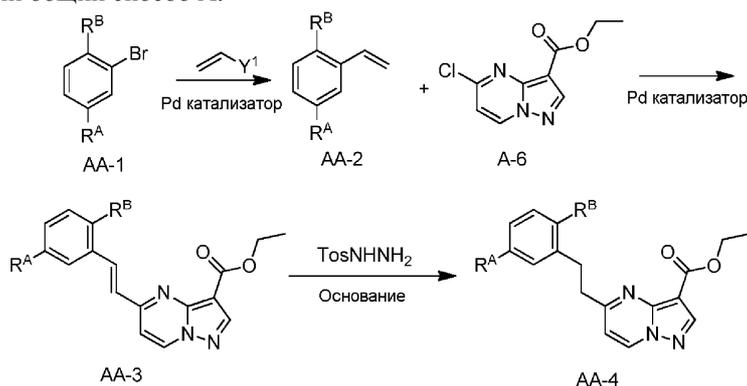


Стадия 1. К раствору А-1 (1,00 экв.) в TfOH (0,6 М) может быть добавлен А-2 (1,00 экв.) при 0°C. Смесь может быть перемешана при 60°C в течение 4 ч или до завершения реакции. После охлаждения до температуры окружающей среды реакционную смесь можно выливать в ледяную воду (мас./мас. = 1/1), нейтрализовать NaHCO<sub>3</sub> до pH ~9 и экстрагировать EtOAc трижды по мере необходимости. Соединенные органические слои могут быть промыты соевым раствором, их высушивали над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> по мере необходимости и концентрировали с получением А-3.

Стадия 2. Смесь А-3 (коммерчески доступный альдегид или кетон или полученная на стадии 1, 1,00 экв.) и коммерчески доступный амин А-4 (1,50 экв.) в метаноле (0,5 М) может быть перемешана при температуре окружающей среды в течение 2 ч или пока завершение образования имина не будет показано при помощи данных ТСХ или ЖХ-МС. В реакционный раствор может быть добавлен NaBH<sub>4</sub> (2,00 экв.) по порциям. Смесь может быть перемешана при температуре окружающей среды, пока ТСХ или ЖХ-МС не продемонстрирует завершение реакции. Реакцию можно погасить водой и она может быть экстрагирована трижды дихлорметаном по мере необходимости. Комбинированная органическая фаза может быть промыта соевым раствором, высушена безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, отфильтрована и концентрирована в вакууме с получением А-5.

Стадия 3. Полученный или коммерчески доступный А-5 (1 экв.), этил 5-хлоропиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоксилат (А-6, 1 экв.) и диизопропилэтиламин (5 экв.) в бутаноле (0,4 М) может быть нагрет при 110°C в течение 30 мин или пока завершение реакции не будет продемонстрировано. Реакция может быть охлаждена и разбавлена водой. Смесь может быть экстрагирована дихлорметаном четырежды (по мере необходимости) и соединенные экстракты могут быть высушены над безводным сульфатом натрия. После фильтрации смесь может быть концентрирована при пониженном давлении и остаток может быть очищен при помощи флэш-хроматографии с получением А.

## Альтернативный общий способ А:



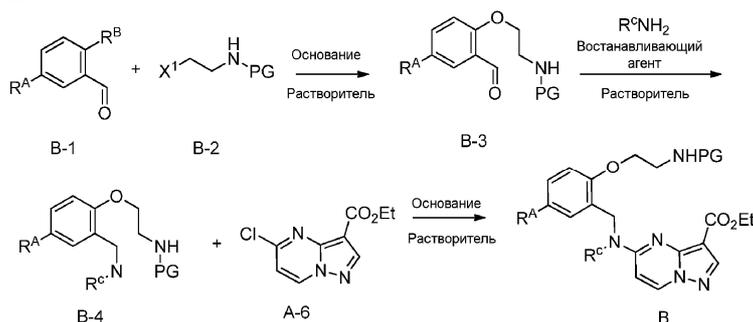
Стадия сочетания 1. Смесь соответствующим образом функционализированного AA-1 (~1,00 экв.), соответствующим образом функционализированного винилового агента сочетания (~1,00-1,50 экв.) и палладиевого катализатора (~0,05 экв.) в соответствующих условиях реакции может быть нагрета до температуры окружающей среды (например, ~90°C) в течение соответствующего периода времени в инертной атмосфере, пока ТСХ не покажет полное израсходование исходного материала. Реакционная смесь может быть вылита в H<sub>2</sub>O по мере необходимости.

Смесь может быть экстрагирована и органическая фаза промыта, высушена, концентрирована и очищена при помощи хроматографии на силикагелевой колонке по мере необходимости с получением AA-2.

Стадия сочетания 2. Смесь соединения типа AA-2 (~1,00 экв.), этил 5-хлоропиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоксилата (A-6, ~1,00 экв.) и палладиевого катализатора в соответствующих условиях реакции может быть нагрета до температуры окружающей среды (например, 120°C) в течение соответствующего периода времени в инертной атмосфере, пока ТСХ не покажет полное израсходование исходного материала. Реакционная смесь может быть вылита в H<sub>2</sub>O по мере необходимости. Смесь может быть экстрагирована и органическая фаза может быть промыта, высушена, концентрирована и очищена при помощи хроматографии на силикагелевой колонке по мере необходимости с получением AA-3.

Стадия 3. В смесь AA-3 (~1,00 экв.) и 4-метилбензолсульфоногидрида (в молярном избытке) в подходящем растворителе может быть добавлено соответствующее основание (в молярном избытке) при соответствующей температуре в инертной атмосфере. Смесь может быть нагрета до температуры окружающей среды (например, 65°C) и перемешана в течение соответствующего периода времени, пока ТСХ не покажет завершение реакции. Смесь может быть охлаждена и концентрирована при пониженном давлении по мере необходимости. Концентрированная реакционная смесь может быть разбавлена водой по мере необходимости и экстрагирована. Комбинированная органическая фаза может быть промыта, высушена, отфильтрована, концентрирована в вакууме и очищена с получением AA-4.

## Общий способ В:



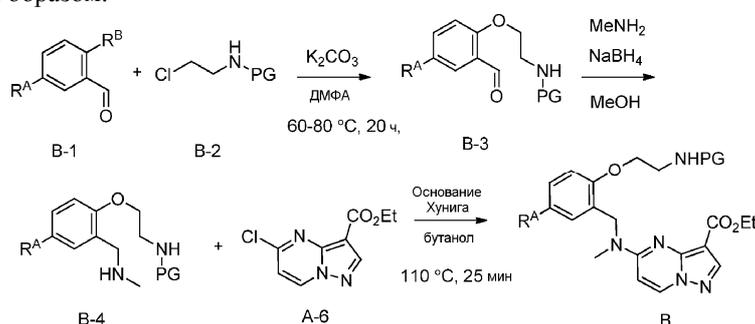
Стадия 1. Раствор альдегида B-1 (~1,0 экв.), где R<sup>A</sup> и R<sup>B</sup> представляют собой группы, совместимые с условиями реакции, описанными в данном документе, B-2 (~1,0 экв.), где X<sup>1</sup> представляет собой отходящую группу и PG представляет собой защитную группу, подходящего основания (в молярном избытке) и катализатора в подходящем растворителе может быть нагрет и перемешан в течение соответствующего периода времени до завершения реакции. Дополнительный B-2 может быть добавлен и дополнительное нагревание прикладывают по мере необходимости. Смесь может быть охлаждена до температуры окружающей среды и разбавлена водой по мере необходимости. Смесь может быть экстрагирована и соединенные экстракты могут быть промыты, высушены и концентрированы при пониженном давлении по мере необходимости. Неочищенный продукт реакции может быть очищен при помощи флэш-хроматографии с получением B-3.

Стадия 2. Альдегид B-3 (~1,0 экв.) и соответствующим образом функционализированный амин (~2,0-4,0 экв.), где R<sup>A</sup> представляет собой группу, совместимую с условиями реакции, описанными в

данном документе, в соответствующем растворителе могут быть нагреты и перемешаны в течение соответствующего периода времени. Смесь может быть охлаждена до температуры окружающей среды и соответствующий восстановитель (~1,0 экв.) может быть добавлен. Смесь может быть перемешана в течение соответствующего периода времени и затем погашена путем добавления воды по мере необходимости. Смесь может быть экстрагирована в соответствующем органическом растворителе, и соединенные экстракты могут быть промыты, высушены и концентрированы при пониженном давлении по мере необходимости. Неочищенный продукт реакции может быть очищен при помощи флэш-хроматографии по мере необходимости с получением В-4.

Стадия 3. Соединение В-4 (~1,0 экв.), этил 5-хлоропиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоксилат (А-6, ~1,0 экв.) и подходящее основание (в молярном избытке) в подходящем растворителе может быть нагрето в течение соответствующего периода времени. Реакция может быть охлаждена и разбавлена водой по мере необходимости. Смесь может быть экстрагирована подходящим органическим растворителем, и соединенные экстракты могут быть высушены и концентрированы при пониженном давлении по мере необходимости. Неочищенный продукт реакции может быть очищен при помощи флэш-хроматографии с получением В.

В некоторых иллюстративных вариантах реализации изобретения общий способ В может быть выполнен следующим образом:

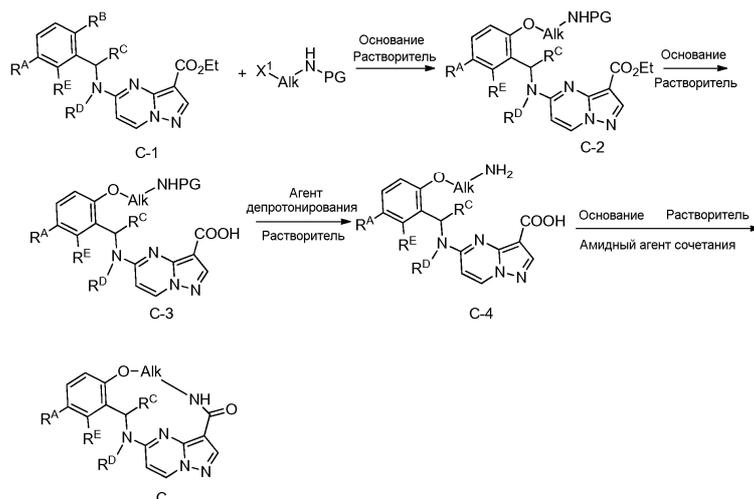


Стадия 1. Раствор альдегида В-1 (~1,0 экв.), где  $R^A$  и  $R^B$  представляют собой группы, совместимые с условиями реакции, описанными в данном документе, В-2 (~1,0 экв.), где  $X^1$  представляет собой отходящую группу и PG представляет собой защитную группу, карбонат калия (в молярном избытке) и йодид калия (каталитическое количество) в DMF, может быть нагрет до  $60^\circ\text{C}$  и перемешан в течение ~15 ч. Дополнительный хлорид В-2 может быть добавлен, и дополнительный нагрев  $80^\circ\text{C}$  может быть приложен по мере необходимости, пока завершение реакции не будет продемонстрировано. Смесь может быть охлаждена до температуры окружающей среды и разбавлена путем добавления воды (250 мл) по мере необходимости. Смесь может быть экстрагирована этилацетатом ( $3 \times 300$  мл), и соединенные экстракты могут быть промыты водой (200 мл) и соевым раствором (100 мл), могут быть высушены сульфатом натрия и концентрированы при пониженном давлении по мере необходимости. Неочищенный продукт реакции может быть очищен при помощи флэш-хроматографии с получением В-3.

Стадия 2. Альдегид В-3 (~1,0 экв.) и метиламин (~2,5 экв.) в метаноле могут быть нагреты до  $60^\circ\text{C}$  и перемешаны в течение ~1 ч. Смесь может быть охлаждена до температуры окружающей среды, и может быть добавлен борогидрид натрия (~1,0 экв.). Смесь может быть перемешана в течение ~30 мин и затем погашена путем добавления воды (200 мл) по мере необходимости. Смесь может быть экстрагирована дихлорметаном, и соединенные экстракты могут быть промыты соевым раствором (50 мл), могут быть высушены сульфатом натрия и концентрированы при пониженном давлении по мере необходимости. Неочищенный продукт реакции может быть очищен при помощи флэш-хроматографии с получением В-4.

Стадия 3. Амин В-4 (~1,0 экв.), этил 5-хлоропиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоксилат (А-6, ~1,0 экв.) и основание Хунига (в молярном избытке) в бутаноле могут быть нагреты при  $110^\circ\text{C}$  в течение ~25 мин. Реакция может быть охлаждена и разбавлена водой (250 мл). Смесь может быть экстрагирована дихлорметаном, и соединенные экстракты могут быть высушены сульфатом натрия по мере необходимости. Смесь может быть концентрирована при пониженном давлении по мере необходимости. Неочищенный продукт реакции может быть очищен при помощи флэш-хроматографии с получением В.

Общий способ С:



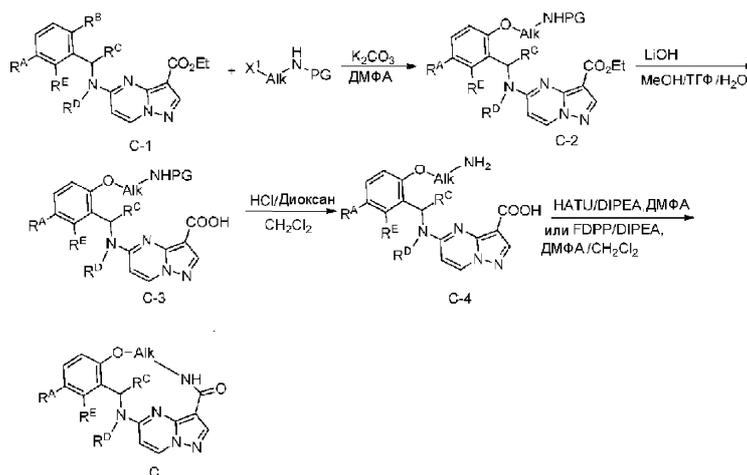
Стадия 1. К раствору C-1 (~1,0 экв.), где  $R^A$ ,  $R^B$ ,  $R^C$ ,  $R^D$  и  $R^E$  представляют собой группы, совместимые с условиями реакции, описанными в данном документе,  $X^1AlkNHPG$  (~1,5-2,0 экв.), где  $X^1$  представляет собой отходящую группу, Alk представляет собой соответствующим образом функционализированную алкильную группу и PG представляет собой защитную группу в подходящем растворителе, может быть добавлено подходящее основание (~3,0 экв.). Смесь может быть нагрета до температуры окружающей среды в течение соответствующего периода времени в инертной атмосфере до полного превращения исходного материала в продукт, показанный при помощи ЖХ-МС. Смесь может быть охлаждена до температуры окружающей среды, разбавлена водой и экстрагирована подходящим органическим растворителем по мере необходимости. Соединенные органические экстракты могут быть промыты водой и соевым раствором, высушены над  $Na_2SO_4$ , и концентрированы по мере необходимости. Полученный в результате остаток может быть очищен при помощи хроматографии на силикагелевой колонке по мере необходимости с получением C-2.

Стадия 2. К раствору C-2 (1 экв.), где  $R^A$ ,  $R^C$ ,  $R^D$  и  $R^E$  представляют собой группы, совместимые с условиями реакции, описанными в данном документе, Alk представляет собой соответствующим образом функционализированную алкильную группу и PG представляет собой защитную группу в подходящем растворителе, может быть добавлено подходящее основание (в молярном избытке). Раствор может быть нагрет до температуры окружающей среды в течение соответствующего периода времени. Реакция может быть нейтрализована подходящей кислотой до  $pH < 5$ , реакционная смесь может быть экстрагирована подходящим органическим растворителем. Соединенные органические слои могут быть промыты и могут быть высушены по мере необходимости. Неочищенный продукт реакционной смеси может быть отфильтрован, концентрирован при пониженном давлении и высушен в высоком вакууме по мере необходимости с получением C-3.

Стадия 3. К раствору C-3 (~1,0 экв.) в подходящем органическом растворителе может быть добавлена подходящая кислота (~4 экв.) при соответствующей температуре (например,  $0^\circ C$ ). Реакционная смесь может быть перемешана при соответствующей температуре в течение соответствующего периода времени, пока завершение реакции не будет продемонстрировано при помощи ЖХ-МС. Неочищенный продукт может быть отфильтрован, промыт и может быть высушен в высоком вакууме с получением C-4.

Стадия 4а. К раствору C-4 (~1,0 экв.) в подходящем растворителе может быть добавлено подходящее основание (в молярном избытке). Раствор может быть охлажден в бане с ледяной водой, и подходящий агент сочетания (~1,5 экв.) может быть добавлен с получением активированного сложного эфира. Раствор может быть нагрет до температуры окружающей среды медленно и будет перемешиваться до тех пор, пока не будет показано, что исходный материал превращен в желаемый продукт при помощи ЖХ-МС. Смесь может быть разбавлена водой и экстрагирована подходящим органическим растворителем по мере необходимости. Соединенные органические экстракты могут быть промыты, высушены и концентрированы при пониженном давлении по мере необходимости. Полученный в результате остаток может быть очищен при помощи хроматографии на силикагелевой колонке с получением C.

В некоторых иллюстративных вариантах реализации изобретения общий способ С может быть выполнен следующим образом:



Стадия 1. К раствору C-1 (~1,0 экв.), где  $R^A$ ,  $R^B$ ,  $R^C$ ,  $R^D$  и  $R^E$  представляют собой группы, совместимые с условиями реакции, описанными в данном документе,  $X^1AlkNHPG$  (~1,5-2,0 экв.), где  $X^1$  представляет собой отходящую группу, Alk представляет собой соответствующим образом функционализированную алкильную группу и PG представляет собой защитную группу в DMF (0,5 M), может быть добавлен  $K_2CO_3$  (~3,0 экв.). Смесь может быть нагрета при ~80°C в течение ~2 ч или пока полное превращение исходного материала в продукт не будет показано при помощи ЖХ-МС. Смесь может быть охлаждена до температуры окружающей среды, разбавлена водой по мере необходимости и экстрагирована трижды EtOAc по мере необходимости. Соединенные органические слои могут быть затем промыты водой и солевым раствором, могут быть высушены над  $Na_2SO_4$  и концентрированы по мере необходимости. Полученный в результате остаток может быть очищен при помощи хроматографии на силикагелевой колонке, элюируя EtOAc/гексаном (5-100%, 10CV) с получением C-2.

Стадия 2. К раствору C-2 (~1 экв.) в метаноле/THF/ $H_2O$  (3:1:1, 0,2 M) может быть добавлен LiOH· $H_2O$  (~5,0 экв.). Раствор может быть нагрет при ~70°C в течение ~2 ч. Реакция может быть нейтрализована при -0°C водн. HCl (2 M) до pH <5 и экстрагирована четырежды  $CH_2Cl_2$  по мере необходимости. Соединенные органические экстракты могут быть промыты солевым раствором и высушены над  $Na_2SO_4$  по мере необходимости. Неочищенная смесь продуктов может быть отфильтрована, концентрирована при пониженном давлении и высушена в высоком вакууме по мере необходимости с получением C-3.

Стадия 3. К раствору C-3 (~1,0 экв.) в  $CH_2Cl_2$  (0,25 M) может быть добавлена HCl в диоксане (4 M, ~4 экв.) при ~0°C. Реакция может быть перемешана и оставлена нагреваться от 0°C до комнатной температуры в течение приблизительно 27 ч или пока завершение реакции не будет продемонстрировано при помощи ЖХ-МС. Полученная в результате реакционная смесь может быть отфильтрована, промыта  $CH_2Cl_2$  и высушена в высоком вакууме по мере необходимости с получением C-4.

Стадия 4а. Циклизация NATU.

К раствору C-4 (~1,0 экв.) в ~10 мл DMF (~0,005M) может быть добавлен DIPEA (~5,0 экв.). Раствор может быть охлажден в бане с ледяной водой, и NATU (~1,5 экв.) может быть добавлен. Раствор можно оставить нагреваться до температуры окружающей среды и перемешивать до того момента, пока полное превращение исходного материала в желаемый продукт не будет показано при помощи ЖХ-МС. Смесь может быть разбавлена водой и экстрагирована трижды EtOAc по мере необходимости. Соединенные органические экстракты могут быть промыты водой и солевым раствором, высушивали над  $Na_2SO_4$  и концентрировали при пониженном давлении по мере необходимости. Полученный в результате остаток может быть очищен при помощи хроматографии на силикагелевой колонке (0-5% MeOH/DCM) с получением C.

Стадия 4б. Циклизация FDPP.

К раствору DIPEA (~5 экв.) в DMF/ $CH_2Cl_2$  (3:1, ~0,005 M) может быть добавлен C-4 (~1,00 экв.). После того как C-4 полностью растворится, пентафторофенил дифенилфосфинат (FDPP, ~1,05 экв.) может быть добавлен. Сочетание можно оставить перемешиваться в течение 30 мин или до того момента, пока не будет показано, что реакция завершена при помощи ЖХ-МС. Смесь реакционного раствора может быть разбавлена  $CH_2Cl_2$ , промыта трижды водой, водным  $Na_2CO_3$  (2 M) и солевым раствором, может быть высушена над  $Na_2SO_4$  по мере необходимости. После фильтрования и концентрирования при пониженном давлении остаток может быть очищен при помощи хроматографии на силикагелевой колонке с элюированием MeOH/ $CH_2Cl_2$  (0-5%) с получением C.

### Примеры

Следующие примеры предложены для иллюстрации, а не для ограничения данного изобретения. Специалист в данной области техники признает, что приведенные ниже синтетические реакции и схемы могут быть модифицированы путем выбора подходящих исходных материалов и реагентов для получе-

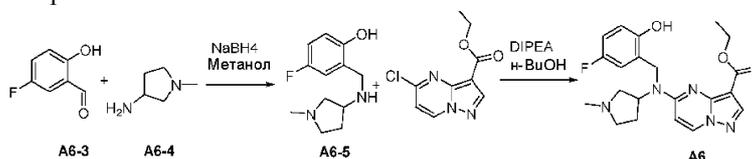
ния других соединений изобретения. Бициклические гетероароматические группы с подходящими функциональными группами для использования в синтетических методах коммерчески доступны.

Сокращения.

Примеры, описанные в данном документе, используют материалы, включая, но не ограничиваясь приведенным, описанные при помощи следующих аббревиатур, известных специалистам в данной области техники:

Аббревиатура	Название
ТСХ	Тонкослойная хроматография
PLC	препаративная жидкостная хроматография
ВЭЖХ	высокоэффективная жидкостная хроматография
ЖХМС, ЖХ-МС	жидкостная хроматография масс-спектрометрия
LRESIMS	масс-спектрометрия ионизации методом электрораспыления низкого разрешения
ELISA	Метод иммунной пробы, связанный с ферментом
DCM	дихлорметан
DMCO	диметилсульфоксид
DIPEA, DIEA	диизопропилэтил амин
CDI	1,1'-карбонилдиимдазол
THF	тетрагидрофуран
XantPhos	4,5-бис(дифенилфосфино)-9,9-диметилксантен
TBSCl	трет-бутилдиметилсилилхлорид
DMF	N,N-диметилформамид
HATU	1-[бис(диметиламино)метилен]-1Н-1,2,3-триазоло[4,5- <i>b</i> ]пиридиний 3-оксид гексафторофосфат
ACN	ацетонитрил
EtOAc	этил ацетат
DTAD	Ди-трет-бутил азодикарбоксилат
FDFP	пентафторофенил дифенилфосфинат
FBS	Фетальная бычья сыворотка
BSA	Альбумин бычьей сыворотки
PBS	Фосфатный буферный солевой
DMEM	среда Игла, модифицированная по способу Дульбекко
EDTA	Этилендиаминтетрауксусная кислота
RIPA	Радиоиммунопреципитационный анализ
HEPES	(4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоная кислота)

Ссылочный пример А6.



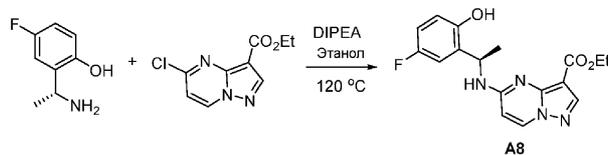
Стадия 1. К раствору 5-фторо-2-гидроксibenзальдегида (500,00 мг, 3,57 ммоль, 1,00 экв.) в MeOH (20,00 мл) добавляли 1-метилпирролидин-3-амин (357,43 мг, 3,57 ммоль, 1,00 экв.) одной порцией при 16°C в атмосфере N<sub>2</sub>. Смесь перемешивали при 16°C в течение 10 ч в атмосфере N<sub>2</sub>. Затем NaBH<sub>4</sub> (270,00 мг, 7,14 ммоль, 2,00 экв.) добавляли и смесь перемешивали при 16°C в течение 6 ч в атмосфере N<sub>2</sub>. ТСХ (DCM:MeOH = 15:1) показала завершение реакции. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении для удаления MeOH. Остаток разбавляли водой (50 мл) и экстрагировали DCM (3×20 мл). Соединенные органические слои промывали солевым раствором (50 мл), высушивали над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением A6-5 (350,00 мг, 1,56 ммоль, 43,71% выход) в виде желтого твердого вещества.

<sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 6,94 (дд, J=2,7, 9,3 Гц, 1H), 6,86 (дт, J=3,0, 8,6 Гц, 1H), 6,67 (дд, J=4,7, 8,7 Гц, 1H), 3,71 (с, 2H), 3,24-3,09 (м, 1H), 2,58 (дд, J=7,1, 8,8 Гц, 1H), 2,48-2,32 (м, 2H), 2,30-2,17 (м, 4H), 2,05-1,82 (м, 1H), 1,60-1,43 (м, 1H).

Стадия 2. К раствору A6-5 (300,00 мг, 1,34 ммоль, 1,00 экв.) и этил 5-хлоропиразоло[1,5-*a*]пиридин-3-карбоксилата (302,34 мг, 1,34 ммоль, 1,00 экв.) в n-BuOH (40,00 мл) добавляли DIPEA

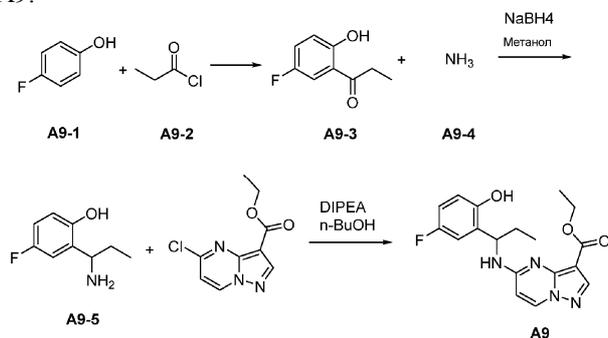
(1,04 г, 8,04 ммоль, 6,00 экв.) при 16°C в атмосфере N<sub>2</sub>. Смесь перемешивали при 120°C в течение 2 ч. ТСХ (PE:EtOAc = 1:1) показала завершение реакции. Смесь выливали в воду (50 мл) и экстрагировали DCM (3×50 мл). Смесь очищали при помощи пре-PLC с получением А6 соли муравьиной кислоты (290,00 мг, 701,43 мкмоль, 52,35% выход) в виде белого твердого вещества.

Ссылочный пример А8.



К раствору этил 5-хлоропиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоксилата (1,25 г, 5,54 ммоль) и (R)-2-(1-аминоэтил)-4-фторофенол HCl соли (приобретены у NetChem, Inc.) в EtOH (15,83 мл) добавляли основание Хунига (3,58 г, 27,70 ммоль) и нагревали до 70°C в течение 1,5 ч. Реакцию испаряли до сухого остатка, суспендировали в воде, экстрагировали DCM (5×50 мл). Соединенные экстракты высушивали Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и концентрировали при пониженном давлении. Флэш-хроматография (ISCO система, силикагель (40 г), 0-5% метанол в дихлорметане) обеспечила А8 (1,89 г, 5,49 ммоль, 99% выход).

Ссылочный пример А9.



Стадия 1. К раствору 4-фторофенола (2,00 г, 17,84 ммоль, 1,00 экв.) в TfOH (30,00 мл) добавляли пропаноил хлорид (1,65 г, 17,84 ммоль, 1,00 экв.) при 0°C. Смесь перемешивали при 60°C в течение 4 ч ТСХ показала завершение реакции. Смесь охлаждали до 25°C, выливали в ледяную воду (мас./мас. = 1/1) (120 мл), нейтрализовали NaHCO<sub>3</sub> с получением pH ~9, and экстрагировали EtOAc (3×120 мл). Соединенные органические слои промывали солевым раствором (50 мл), высушивали безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и концентрировали с получением А9-3 (1.80 г, 10.70 ммоль, 59,98% выход) в виде бесцветного масла.

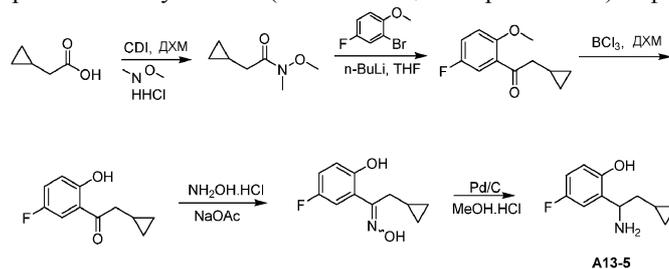
<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 12,09 (с, 1H), 7,45 (дд, J=3,0, 9,0 Гц, 1H), 7,26-7,20 (м, 1H), 6,97 (дд, J=4,5, 9,0 Гц, 1H), 3,02 (кв., J=7,3 Гц, 2H), 1,27 (т, J=7,2 Гц, 3H).

Стадия 2. Пары аммиака продували через MeOH (20 мл) при -78°C в течение 10 мин. А9-3 (1,00 г, 5,95 ммоль, 1,00 экв.) добавляли в раствор и перемешивали при 25°C в течение 1 ч. К реакционной смеси добавляли Ti(i-PrO)<sub>4</sub> (1/63 г, 7,14 ммоль, 1,20 экв.) и смесь перемешивали в течение еще 1 ч. Затем добавляли NaBH<sub>4</sub> (449,93 мг, 11,89 ммоль, 2,00 экв.). Смесь перемешивали при 25°C в течение 12 ч, пока ТСХ не показала полное израсходование исходного материала. Остаток выливали в воду (50 мл) и перемешивали в течение 30 мин. Смесь фильтровали и фильтрат доводили HCl (1 М) до pH ~1 и экстрагировали EtOAc (2×50 мл). Бикарбонат натрия добавляли к водной фазе для регулирования pH ~9 и экстрагировали DCM (2×50 мл). Соединенные органические слои промывали насыщенным солевым раствором (50 мл), высушивали безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали в вакууме с получением А9-5 (310,00 мг, 1,83 ммоль, 30,79% выход) в виде желтого твердого вещества.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 6, 86 (дт, J=3,0, 8,4 Гц, 1H), 6,79-6,74 (м, 1H), 6,67 (дд, J=2,9, 8,9 Гц, 1H), 3,98 (т, J=7,0 Гц, 1H), 1,92-1,81 (м, 1H), 1,80-1,68 (м, 1H), 0,95 (т, J=7,4 Гц, 3H).

Стадия 3. А9-5 сочетали с этил 5-хлоропиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоксилатом в присутствии DIPEA в n-BuOH с получением А9, как описано в общем способе А.

Ссылочный пример А13-5. Получение 2-(1-амино-2-циклопропилэтил)-4-фторофенола.



Стадия 1. В смесь 2-циклопропилуксусной кислоты (4,47 г, 44,60 ммоль, 1,00 экв.) в DCM

(150,00 мл) добавляли CDI (7,96 г, 49,10 ммоль, 1,10 экв.) одной порцией при 25°C в атмосфере N<sub>2</sub>. Смесь перемешивали при 25°C в течение 1 ч. Затем добавляли N-метоксиметанамин гидрохлорид (4,79 г, 49,06 ммоль, 1,10 экв.). Смесь перемешивали при 25°C в течение еще 12 ч. Реакцию гасили 1н. водной соляной кислотой (50 мл) и разделяли на слои. Водный слой экстрагировали DCM (2×30 мл). Соединенный органический слой промывали 50% насыщенным водным карбонатом натрия (50 мл) и насыщенным соевым раствором (30 мл), высушивали безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали в вакууме с получением 2-циклопропил-N-метокси-N-метилацетамида (6,00 г, 41,91 ммоль, 93,96% выход) в виде масла.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 3,65 (с, 1H), 3,18 (с, 1H), 2,33 (д, J=6, 8 Гц, 2H), 1,13-1,02 (м, 1H), 0,57-0,49 (м, 2H), 0,19-0,11 (м, 2H).

Стадия 2. В смесь 2-циклопропил-N-метокси-N-метилацетамида (6,00 г, 29,27 ммоль, 1,00 экв.) в THF (100,00 мл) добавляли n-BuLi (2,5 M, 12,88 мл, 1,10 экв.) по каплям при -78°C в атмосфере N<sub>2</sub>. Смесь перемешивали при -78°C в течение 10 мин. Затем смесь обрабатывали 2-бromo-4-фторо-1-метоксибензолом (4,19 г, 29,27 ммоль, 1,00 экв.) в THF (20 мл) в течение периода 20 мин. После перемешивания при -78°C в течение 1 ч смесь оставляли нагреваться до 25°C и перемешивали в течение еще 1 ч. ТСХ показала завершение реакции. Смесь выливали в 10% водный HCl раствор (100 мл) и перемешивали в течение 10 мин. Водную фазу экстрагировали этилацетатом (3×300 мл). Комбинированная органическая фаза была промыта соевым раствором (200 мл), высушена над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, ее фильтровали и концентрировали в вакууме. Остаток очищали при помощи хроматографии на силикагеле (петролейный эфир/этилацетат = 50/1, 10/1) с получением 2-циклопропил-1-(5-фторо-2-метоксифенил)этан-1-она (2,4 г, 39,38% выход) в виде бесцветного масла.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,42 (дд, J=3,3, 8,8 Гц, 1H), 7,15 (ддд, J=3,3, 7,5, 9,0 Гц, 1H), 6,91 (дд, J=4,0, 9,0 Гц, 1H), 3,91-3,85 (м, 3H), 2,89 (д, J=6,8 Гц, 2H), 1,18-1,05 (м, 1H), 0,61-0,50 (м, 2H), 0,20-0,09 (м, 2H).

Стадия 3. К раствору 2-циклопропил-1-(5-фторо-2-метоксифенил)этан-1-она (500,00 мг, 2,40 ммоль, 1,00 экв.) в DCM (10,00 мл) добавляли BCl<sub>3</sub> (1 M, 3,00 мл, 1,25 экв.) по каплям при -78°C в атмосфере N<sub>2</sub>. Смесь перемешивали при -78°C в течение 2 ч. ТСХ показала завершение реакции. Смесь нагревали до 25°C и выливали в ледяную воду (мас./мас.=1/1) (10 мл) и перемешивали в течение 10 мин. Водную фазу экстрагировали этилацетатом (3×30 мл). Комбинированную органическую фазу промывали насыщенным соевым раствором (30 мл), высушивали над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали в вакууме с получением 2-циклопропил-1-(5-фторо-2-гидроксифенил)этан-1-она (430,00 мг, 2,21 ммоль, 92,3% выход) в виде масла.

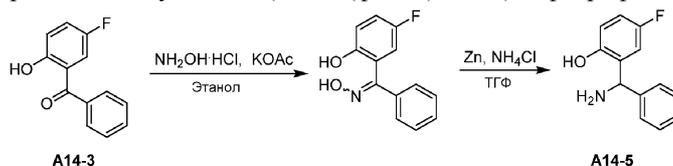
<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 12,12 (с, 1H), 7,40 (дд, J=3,0, 8,8 Гц, 1H), 7,24 (ддд, J=3,0, 7,8, 9,0 Гц, 1H), 6,98 (дд, J=4,5, 9,3 Гц, 1H), 2,88 (д, J=6,8 Гц, 2H), 1,23-1,11 (м, 1H), 0,70-0,63 (м, 2H), 0,25 (кв., J=5,0 Гц, 2H).

Стадия 4. К раствору 2-циклопропил-1-(5-фторо-2-гидроксифенил)этан-1-она (400,00 мг, 1,92 ммоль, 1,00 экв.) в MeOH (20,00 мл) добавляли NH<sub>2</sub>OH·HCl (160,18 мг, 2,31 ммоль, 1,20 экв.) и AcONa (189,09 мг, 2,31 ммоль, 1,20 экв.) при 25°C в атмосфере N<sub>2</sub> в течение 12 ч. ТСХ (петролейный эфир/этилацетат = 3:1) не показала полное израсходование исходного материала. Реакцию гасили водой и затем экстрагировали DCM (3×30 мл). Комбинированную органическую фазу промывали соевым раствором (30 мл), высушивали над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали in vacuo с получением чистого продукта 2-циклопропил-1-(5-фторо-2-гидроксифенил)этан-1-он оксима (400,00 мг, 1,79 ммоль, 93,32% выход) в виде белого твердого вещества. Твердое вещество использовали для следующей стадии без дополнительной очистки.

Стадия 5. К раствору 2-циклопропил-1-(5-фторо-2-гидроксифенил)этан-1-он оксима (260,00 мг, 1,16 ммоль, 1,00 экв.) в MeOH/HCl (10,00 мл, 4н.) добавляли Pd-C (10%, 100 мг) в атмосфере N<sub>2</sub>. Суспензию дегазировали в вакууме и продували H<sub>2</sub> несколько раз. Смесь перемешивали в H<sub>2</sub> (50 фунтов/кв.дюйм) при 50°C в течение 12 ч. ЖХ-МС не показала полное израсходование исходного материала. Реакционную смесь фильтровали и фильтрат концентрировали с получением 2-(1-амино-2-циклопропилэтил)-4-фторофенола (200,00 мг, 955,75 мкмоль, 82,39% выход) в виде белого твердого вещества.

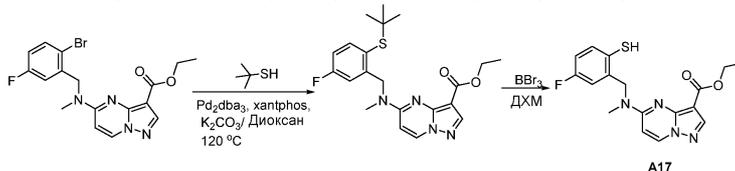
<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10,44-9,82 (м, 1H), 8,52 (уш.с, 2H), 7,36 (дд, J=2,8, 9,5 Гц, 1H), 7,07-6,93 (м, 2H), 4,49 (д, J=5,5 Гц, 1H), 1,82-1,72 (м, 2H), 0,67-0,55 (м, 1H), 0,43-0,28 (м, 2H), 0,12-0,06 (м, 1H), (-0,03)-(-0,09) (м, 1H).

Ссылочный пример A14-5. Получение 2-(амино(фенил)метил)-4-фторофенола.



Стадия 1. К раствору A14-3 (2,00 г, 9,25 ммоль, 1,00 экв.) и  $\text{AcOK}$  (1,10 г, 11,20 ммоль, 1,20 экв.) в этаноле (30,00 мл) добавляли  $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$  (642,80 мг, 9,25 ммоль, 1,00 экв.) одной порцией при  $25^\circ\text{C}$  в атмосфере  $\text{N}_2$ . Смесь перемешивали при  $25^\circ\text{C}$  в течение 30 мин, затем нагревали до  $90^\circ\text{C}$  и перемешивали в течение 5 ч. ТСХ показала завершение реакции. Смесь концентрировали и воду (50 мл) добавляли. Смесь экстрагировали этилацетатом ( $3\times 50$  мл). Комбинированную органическую фазу промывали соевым раствором (50 мл), высушивали над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтровали и концентрировали с получением (5-фторо-2-гидроксифенил)(фенил)метанон оксима (1,50 г, 6,49 ммоль, 70,13% выход) в виде желтого твердого вещества.

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,50-7,37 (м, 5H), 7,19-7,07 (м, 2H), 6,71 (дд,  $J=2,9$ , 8,9 Гц, 1H).



Стадия 2. В смесь (5-фторо-2-гидроксифенил)(фенил)метанон оксима (900,00 мг, 4,18 ммоль, 1,00 экв.) и  $\text{Zn}$  порошка (1,09 г, 16,73 ммоль, 4 экв.) в THF (10,00 мл) добавляли  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (2,24 г, 41,82 ммоль, 10,00 экв.) одной порцией при  $25^\circ\text{C}$  в атмосфере  $\text{N}_2$ . Смесь перемешивали при  $25^\circ\text{C}$  в течение 30 мин, затем нагревали до  $60^\circ\text{C}$  и перемешивали в течение 15 ч. Смесь концентрировали и воду (100 мл) добавляли с последующей экстракцией этилацетатом ( $3\times 50$  мл). Соединенные органические слои промывали соевым раствором, высушивали над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтровали и концентрировали с получением A14-5 (630,00 мг, 2,90 ммоль, 69,38% выход) в виде желтого твердого вещества.

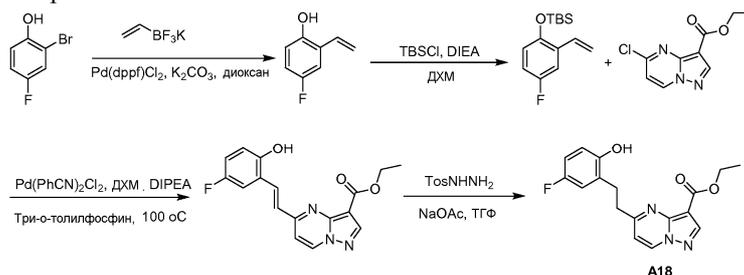
$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,42 (д,  $J=7,5$  Гц, 2H), 7,33 (т,  $J=7,5$  Гц, 2H), 7,27-7,20 (м, 1H), 6,93-6,80 (м, 2H), 6,70 (дд,  $J=4,9$ , 8,7 Гц, 1H), 5,28 (с, 1H).

Стадия 1. К раствору этил 5-((2-бromo-5-фторобenzил)(метил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоксилата (получен в соответствии с общим методом А) (300,00 мг, 0,736 ммоль, 1,00 экв.), 2-метилпропан-2-тиола (166,10 мг, 1,84 ммоль, 2,50 экв.),  $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$  (84,72 мг, 0,147 ммоль, 0,20 экв.) в диоксане (8,00 мл) добавляли  $\text{XantPhos}$  (127,87 мг, 0,221 ммоль, 0,30 экв.) и  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (101,81 мг, 0,736 ммоль, 1,00 экв.). Смесь дегазировали и нагревали до  $120^\circ\text{C}$  в течение 24 ч в атмосфере  $\text{N}_2$ . ТСХ (петролейный эфир/этилацетат = 1:1) показала полное израсходование исходного материала. Реакционную смесь выливали в  $\text{H}_2\text{O}$  (20 мл) и экстрагировали этилацетатом ( $3\times 50$  мл). Органическую фазу промывали соевым раствором (30 мл), высушивали над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , концентрировали и очищали при помощи хроматографии на силикагелевой колонке (петролейный эфир/этилацетат = 2:1-1:1) с получением этил 5-((2-(трет-бутилтио)-5-фторобenzил)(метил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоксилата (200,00 мг, 0,48 ммоль, 65,18% выход,) в виде желтого твердого вещества.

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,34 (с, 1H), 8,29 (уш.с, 1H), 7,60 (дд,  $J=5,9$ , 8,4 Гц, 1H), 7,00 (т,  $J=7,7$  Гц, 1H), 6,29 (уш.с, 2H), 5,00 (уш.с, 2H), 4,37 (д,  $J=6,8$  Гц, 2H), 3,41 (уш.с, 3H), 1,36-1,20 (м, 12H).

Стадия 2. К раствору этил 5-((2-(трет-бутилтио)-5-фторобenzил)(метил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоксилата (300,00 мг, 0,720 ммоль, 1,00 экв.) в DCM (8,00 мл) добавляли  $\text{BBr}_3$  (902,21 мг, 3,60 ммоль, 5,00 экв.) по каплям при  $0^\circ\text{C}$  в атмосфере  $\text{N}_2$ . Смесь перемешивали при  $0^\circ\text{C}$  в течение 2,5 ч. ТСХ (петролейный эфир/этилацетат = 1:1) показала завершение реакции. Смесь выливали в воду (20 мл). Водную фазу экстрагировали дихлорметаном ( $3\times 50$  мл). Комбинированную органическую фазу промывали соевым раствором (30 мл), высушивали безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтровали и концентрировали в вакууме. Остаток очищали пре-ВЭЖХ (колонка: Phenomenex Synergi C18 150 $\times$ 30 мм $\times$ 4 мкм и условие: 0,05%  $\text{HCl}$ -ACN) и лиофилизировали с получением A17  $\text{HCl}$  соли (38,00 мг, 0,098 ммоль, 13,61% выход) в виде белого твердого вещества.

## Ссылочный пример A18.



Стадия 1. Смесь 2-бromo-4-фторофенол (10,00 г, 52,36 ммоль, 1,00 экв.), трифторо(винил)боран калиевой соли (9,84 г, 66,50 ммоль, 1,27 экв.),  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (51,18 г, 157,08 ммоль, 3,00 экв.) и  $\text{Pd}(\text{PhCN})_2\text{Cl}_2$  (1,84 г, 2,62 ммоль, 0,05 экв.) в THF (90,00 мл) и  $\text{H}_2\text{O}$  (10,00 мл) дегазировали и затем нагревали до 90°C в течение 12 ч в атмосфере  $\text{N}_2$ . ТСХ (петролейный эфир/этилацетат = 10/1) показала полное израсходование исходного материала. Реакционную смесь выливали в  $\text{H}_2\text{O}$  (100 мл). Смесь экстрагировали этилацетатом (3×300 мл). Органическую фазу промывали насыщенным солевым раствором (200 мл), высушивали над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , концентрировали и очищали хроматографией на колонке на силикагеле (элюировали  $\text{EtOAc}$ /петролейный эфир = 1/30) с получением 4-фторо-2-винилфенола (3,50 г, 25,34 ммоль, 48,39% выход) в виде бесцветного масла.

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,12 (дд,  $J=3,0, 9,5$  Гц, 1H), 6,89-6,81 (м, 1H), 6,79-6,73 (м, 1H), 5,75 (д,  $J=17,6$  Гц, 1H), 5,64 (с, 1H), 5,39 (д,  $J=11,3$  Гц, 1H).

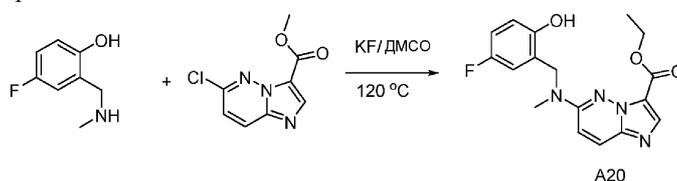
Стадия 2. Смесь 4-фторо-2-винилфенола (1,95 г, 14,12 ммоль, 1,00 экв.), TBSCl (6,38 г, 42,35 ммоль, 3,00 экв.) и 1H-имидазола (5,77 г, 84,70 ммоль, 6,00 экв.) в DCM (20,00 мл) перемешивали при 20°C в течение 5 ч в атмосфере  $\text{N}_2$ . ТСХ (петролейный эфир/этилацетат = 10:1) показала полное израсходование исходного материала. Реакционную смесь выливали в  $\text{H}_2\text{O}$  (30 мл). Смесь экстрагировали дихлорметаном (3×50 мл). Органическую фазу промывали солевым раствором (50 мл), высушивали над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , концентрировали и очищали при помощи хроматографии на силикагелевой колонке, элюировали петролейным эфиром с получением три-бутил(4-фторо-2-винилбензил)силана (2,30 г, 9,11 ммоль, 64,54% выход) в виде бесцветного масла.

Стадия 3. Смесь три-бутил(4-фторо-2-винилбензил)силана (2,30 г, 9,11 ммоль, 1,00 экв.), этил 5-хлоропиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоксилата (2,06 г, 9,11 ммоль, 1,00 экв.),  $\text{Pd}(\text{PhCN})_2\text{Cl}_2$  (118,20 мг, 0,455,63 ммоль, 0,05 экв.) и трис-о-толилфосфана (277,36 мг, 0,911 ммоль, 0,10 экв.), DIPEA (7,07 г, 54,68 ммоль, 6,00 экв.) в DMF (25,00 мл) дегазировали и затем нагревали до 120°C в течение 24 ч в атмосфере  $\text{N}_2$ . ТСХ (петролейный эфир/этилацетат = 1:1) показала полное израсходование исходного материала. Реакционную смесь выливали в  $\text{H}_2\text{O}$  (30 мл). Смесь экстрагировали этилацетатом (3×100 мл). Органическую фазу промывали насыщенным солевым раствором (30 мл), высушивали над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , концентрировали и очищали при помощи хроматографии на силикагелевой колонке ( $\text{EtOAc}$ /петролейный эфир = 1:3) с получением этил (E)-5-(5-фторо-2-гидроксистирил)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоксилата (1,00 г, 2,26 ммоль, 24,86% выход) в виде белого твердого вещества.

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9,29 (уш.с, 1H), 8,50 (д,  $J=7,0$  Гц, 1H), 8,28 (уш.с, 1H), 7,84 (д,  $J=16,6$  Гц, 1H), 7,20-7,04 (м, 3H), 6,69 (д,  $J=5,8$  Гц, 2H), 4,20 (кв.,  $J=6,9$  Гц, 2H), 1,30-1,19 (м, 3H).

Стадия 4. В смесь этил (E)-5-(5-фторо-2-гидроксистирил)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоксилата (378,22 мг, 1,04 ммоль, 1,00 экв.) и 4-метилбензолосульфогидразида (3,29 г, 17,68 ммоль, 17,00 экв.) в THF (4,00 мл) добавляли NaOAc (1,71 г, 20,80 ммоль, 20,00 экв.) одной порцией при 20°C в атмосфере  $\text{N}_2$ . Смесь затем нагревали до 65°C и перемешивали в течение 12 ч. ТСХ показала завершение реакции. Смесь охлаждали до 20°C и концентрировали при пониженном давлении при 45°C. Water (100 мл) добавляли в остаток. Водную фазу экстрагировали этилацетатом (2×300 мл). Комбинированную органическую фазу промывали насыщенным солевым раствором (50 мл), высушивали безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтровали, концентрировали в вакууме и очищали пре-ВЭЖХ (колонка: Phenomenex Synergi Max-RP 250×50×мм×10 мкм, 0,225% FA-ACN) с получением A18 (120,00 мг, 0,347 ммоль, 33,42% выход) в виде белого твердого вещества.

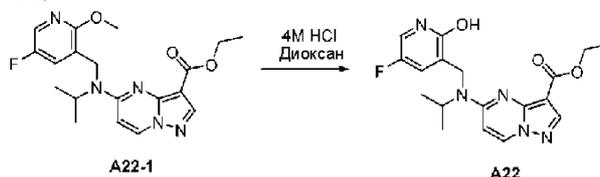
## Ссылочный пример A20.



В смесь 4-фторо-2-метиламинометил-фенол (305,2 мг, 1,97 ммоль) и этилового сложного эфира 6-хлороимидазо[1,2-б]пиридазин-3-карбоновой кислоты (230 мг, 1,02 ммоль) в ДМСО (5 мл) добавляли

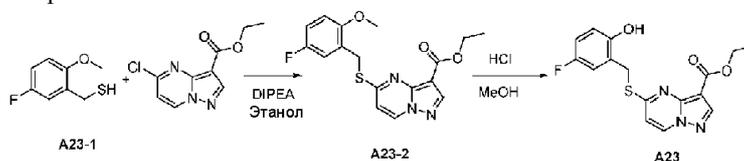
KF (180 мг, 3,01 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 120°C в течение 18 ч в атмосфере азота. Раствор затем охлаждали до температуры окружающей среды, разбавляли водой (20 мл) и экстрагировали EtOAc (3×50 мл). Соединенные органические слои дополнительно промывали водой (3×50 мл) и соевым раствором (50 мл), высушивали над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и концентрировали. Остаток затем очищали при помощи колонки на силикагеле, элюируя EtOAc/гексаном (0-50%, 10 CV) с получением целевого продукта в виде белого твердого вещества (240 мг, 69%).

Ссылочный пример A22.



A21-1 был получен в соответствии с общим методом А. К раствору A22-1 (150 мг, 0,387 ммоль) в этаноле (2 мл) добавляли 4 М HCl в диоксане (2 мл) и реакционный раствор нагревали при 75°C в течение 2 ч. Растворители испаряли и остаток нейтрализовали Et<sub>3</sub>N и очищали при помощи картриджа на силикагеле, элюируя метанолом/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0-12,5%) с получением A22 (144 мг, 100%).

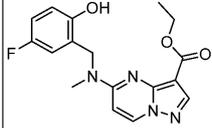
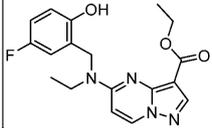
Ссылочный пример A23.

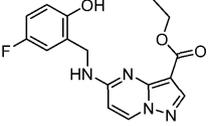
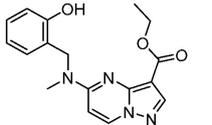


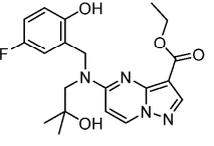
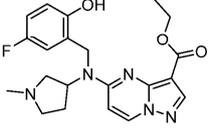
Стадия 1. В смесь (5-фторо-2-метоксифенил)метантиола (496,1 мг, 2,88 ммоль) и сложного этилового эфира 6-хлороимидазо[1,2-*b*]пиридазин-3-карбоновой кислоты (650,0 мг, 2,88 ммоль) в этаноле (14,4 мл) добавляли DIPEA (1,12 г, 8,64 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 80°C в течение 1 ч. Раствор охлаждали до температуры окружающей среды, разбавляли водой (50 мл) и экстрагировали DCM (3×50 мл). Соединенные экстракты высушивали над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали флэш-хроматографией (ISCO система, силикагель (120 г), элюируя EtOAc/гексаном (0-50%) с получением A23-2 (560 мг, 54% выход). A23-2 выходил из колонки во время очистки.

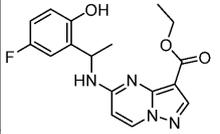
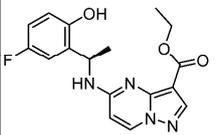
Стадия 2. К раствору A23-2 (498,7 мг, 1,38 ммоль) в метаноле (100 мл) добавляли 4 М HCl в диоксане (10 мл) и реакционный раствор нагревали при 75°C в течение 2 ч. Растворители испаряли и остаток нейтрализовали Et<sub>3</sub>N и очищали при помощи картриджа на силикагеле, элюируя метанолом/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0-12,5%) с получением A23 (470 мг, 98%).

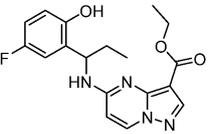
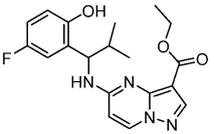
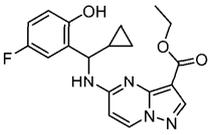
A1-A24 были получены в соответствии с общим методом А и способами, описанными в данном документе.

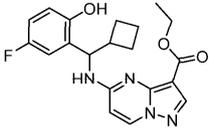
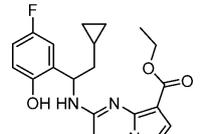
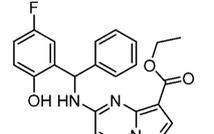
Пример	Структура	Название	Аналитические данные
A1		этил 5-((5-фторо-2-гидроксибензил)(метил)амино)пиразоло[1,5-а]пириимидин-3-карбоксилат	МС: 345,2 (M+N) <sup>+</sup> ; <sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, Хлороформ-d) δ 9,71 (уш.с, 1H), 8,32 (д, J=7,9 Гц, 1H), 8,30 (с, 1H), 6,98-6,87 (м, 3H), 6,37 (д, J=7,9 Гц, 1H), 4,82 (с, 2H), 4,42 (кв., J=7,1 Гц, 2H), 3,21 (с, 3H), 1,39 (т, J=7,1 Гц, 3H),
A2		этил 5-(этил(5-фторо-2-гидроксибензил)амино)пиразоло[1,5-а]пириимидин-3-карбоксилат	МС: 359,3 (M+N) <sup>+</sup> ; <sup>1</sup> H ЯМР (300 МГц, Хлороформ-d) δ 9,75 (уш.с, 1H), 8,30-8,27 (м, 2H), 6,95-6,86 (м, 3H), 6,34 (д, J=7,9 Гц, 1H), 4,79 (с, 2H), 4,40 (кв., J=7,2 Гц, 2H), 3,56 (кв., J=7,2 Гц, 2H), 1,38 (т, J=7,2 Гц, 3H), 1,25 (т, J=7,2 Гц, 3H),

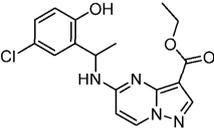
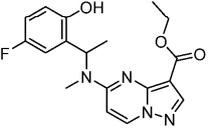
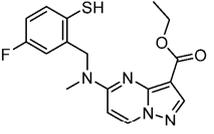
A3		<p>этил 5-((5-фторо-2-гидроксибензил)амино)пиразоло[1,5-а]пириимидин-3-карбоксилат</p>	<p>МС: 331,3 (M+H)<sup>+</sup>;  <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, Хлороформ-d) δ  9,61 (уш.с, 1H),  8,52 (д, J=7,5 Гц, 1H), 8,28 (bt, J=5,1 Гц, 1H),  8,13 (с, 1H),  7,25-7,23 (м, 1H),  6,93-6,86 (м, 1H),  6,81-6,77 (м, 1H),  6,44 (д, J=7,5 Гц, 1H),  4,51 (д, J=5,1 Гц, 2H),  4,20 (кв., J=6,9 Гц, 2H),  1,39 (т, J=6,9 Гц, 3H),</p>
A4		<p>этил 5-((2-гидроксибензил)(метил)амино)пиразоло[1,5-а]пириимидин-3-карбоксилат</p>	<p>МС: 327,5 (M+H)<sup>+</sup>;  <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, Хлороформ-d) δ  9,79 (с, 1H),  8,30-8,27 (м, 2H),  7,26-7,21 (м, 2H),  6,96 (д, J=7,8 Гц, 1H),  6,84 (т, J=7,5 Гц, 1H),  6,34 (д, J=8,1 Гц, 1H),  4,85 (с, 2H),  4,42 (кв., J=6,9 Гц, 2H),  3,18 (с, 3H),  1,40 (т, J=6,9 Гц, 3H),</p>

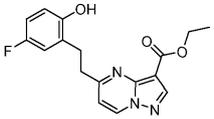
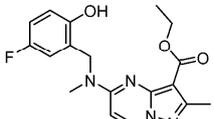
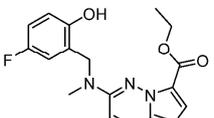
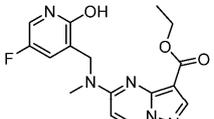
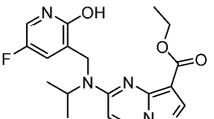
A5		<p>этил 5-((5-фторо-2-гидроксибензил)(2-гидрокси-2-метилпропил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоксилат</p>	<p>МС: 403,2 (M+H)<sup>+</sup>;  <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, Хлороформ-d) δ  8,32 (с, 1H), 8,26 (д, J=8,0 Гц, 1H), 7,05-6,80 (м, 3H), 6,59 (уш.с, 1H), 5,06 (уш.с, 2H), 4,43 (кв., J=7,1 Гц, 2H), 3,62 (уш.с, 2H), 1,60 (с, 1H), 1,46-1,36 (м, 9H),</p>
A6		<p>этил 5-((5-фторо-2-гидроксибензил)(1-метилпирролидин-3-yl)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоксилат</p>	<p>МС: 414,2 (M+H)<sup>+</sup>;  <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, Хлороформ-d) δ  8,67 (уш.с, 2H), 8,35 (д, J=8,0 Гц, 1H), 8,24 (с, 1H), 7,14-7,07 (м, 1H), 6,83 (дт, J=2,8, 8,4 Гц, 1H), 6,73 (уш.с, 1H), 6,60 (уш.с, 1H), 5,13 (уш.с, 1H), 4,75-4,62 (м, 2H), 4,34 (кв., J=6,9 Гц, 2H), 3,88 (уш.с, 3H), 3,41 (уш.с, 1H), 3,04 (уш.с, 3H), 2,54 (уш.с, 2H), 1,40 (т, J=7,2 Гц, 3H),</p>

A7		<p>этил (S)-5-((1-(5-фторо-2-гидроксифенил)этил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоксилат</p>	<p>МС: 345,3 (M+H)<sup>+</sup>;  <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, Хлороформ-d) δ  9,61 (уш.с, 1H),  8,24 (с, 1H), 8,17  (д, J=7,2 Гц, 1H),  6,96-6,91 (м, 2H),  6,88-6,81 (м, 1H),  6,09 (д, J=7,8 Гц,  1H), 5,72-5,63 (м,  1H), 5,45 (уш.д,  J=8,7 Гц, 1H),  4,43 (кв., J=7,2  Гц, 2H), 1,64 (д,  J=6,9 Гц, 3H),  1,41 (т, J=7,2 Гц,  3H),</p>
A8		<p>этил (R)-5-((1-(5-фторо-2-гидроксифенил)этил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоксилат</p>	<p>МС: 345,2 (M+H)<sup>+</sup>,</p>

A9		<p>этил 5-((1-(5-фторо-2-гидроксифенил)пропил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоксилат</p>	<p>МС: 359,2 (M+H)<sup>+</sup>;  <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, Хлороформ-d) δ        8,99 (уш.с, 1H),        8,27 (с, 1H), 8,20        (д, J=7,5 Гц, 1H),        6,98 (дд, J=5,0,        8,8 Гц, 1H), 6,94-        6,84 (м, 2H), 6,13        (д, J=7,5 Гц, 1H),        5,41 (уш.с, 2H),        4,57-4,40 (м, 2H),        2,11-1,95 (м, 2H),        1,44 (т, J=7,2 Гц,        3H), 1,02 (т,        J=7,4 Гц, 3H),</p>
A10		<p>этил 5-((1-(5-фторо-2-гидроксифенил)-2-метилпропил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоксилат</p>	<p>МС: 373,2 (M+H)<sup>+</sup>;  <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, Хлороформ-d) δ        8,25 (с, 1H), 8,19        (д, J=7,5 Гц, 1H),        6,99 (дд, J=5,1,        8,7 Гц, 1H), 6,91        -6,81 (м, 2H),        6,14 (д, J=7,5 Гц,        1H), 5,11 (т,        J=9,7 Гц, 1H),        4,62-4,37 (м, 2H),        2,22 (кв.д, J=6,5,        17,1 Гц, 1H), 1,43        (т, J=7,2 Гц, 3H),        1,22 (д, J=6,5 Гц,        3H), 0,89 (д,        J=6,5 Гц, 3H),</p>
A11		<p>этил 5-((циклопропил(5-фторо-2-гидроксифенил)метил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоксилат</p>	<p>МС: 371,2 (M+H)<sup>+</sup>;  <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, Хлороформ-d) δ        8,25 (с, 1H), 8,21        (д, J=7,5 Гц, 1H),        7,13 (дд, J=3,0,        9,4 Гц, 1H), 7,00-        6,94 (м, 1H),        6,91-6,84 (м, 1H),        6,14 (д, J=7,7 Гц,        1H), 5,69 (д,        J=8,0 Гц, 1H),        4,70 (т, J=8,3 Гц,        1H), 4,49-4,38 (м,        2H), 1,42 (т,        J=7,1 Гц, 4H),        0,83-0,74 (м, 1H),        0,72-0,63 (м, 1H),        0,57 (кв.д, J=4,8,        9,6 Гц, 1H), 0,48-        0,40 (м, 1H),</p>

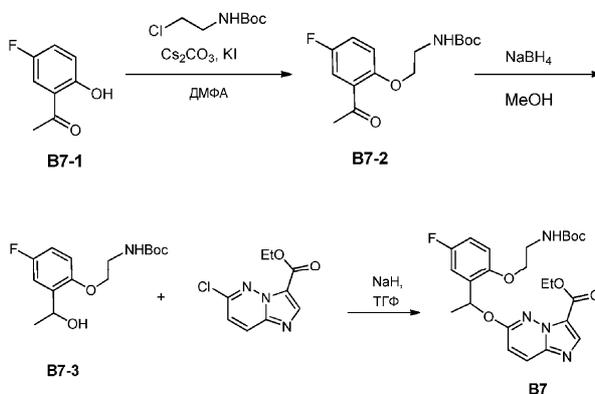
A12		<p>этил 5-((циклобутил (5-фторо-2-гидроксифенил) метил)амино) пиразоло [1,5-а] пиримидин-3-карбоксилат</p>	<p>МС: 385,2 (M+H)<sup>+</sup>;  <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, Хлороформ-d) δ 8,9,09 (уш.с, 1H), 8,27 (с, 1H), 8,20 (д, J=7,5 Гц, 1H), 6,98 (дд, J=5,0, 8,8 Гц, 1H), 6,91-6,78 (м, 2H), 6,12 (д, J=7,5 Гц, 1H), 5,45 (т, J=9,4 Гц, 1H), 5,27 (д, J=8,4 Гц, 1H), 4,51-4,45 (м, 2H), 2,98-2,89 (м, 1H), 2,29 (дд, J=3,8, 7,5 Гц, 1H), 2,07-1,90 (м, 4H), 1,75-1,66 (м, 1H), 1,45 (т, J=7,1 Гц, 3H),</p>
A13		<p>этил 5-((2-циклопропил-1-(5-фторо-2-гидроксифенил) этил)амино) пиразоло [1,5-а] пиримидин-3-карбоксилат</p>	<p>МС: 385,2 (M+H)<sup>+</sup>;  <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, Хлороформ-d) δ 9,00 (уш.с, 1H), 8,27 (с, 1H), 8,19 (д, J=7,5 Гц, 1H), 7,00-6,82 (м, 3H), 6,15 (д, J=7,5 Гц, 1H), 5,57 (уш.с, 2H), 4,52-4,40 (м, 2H), 2,01-1,77 (м, 2H), 1,44 (т, J=7,2 Гц, 3H), 0,72 (д, J=6,5 Гц, 1H), 0,56-0,41 (м, 2H), 0,24-0,07 (м, 2H),</p>
A14		<p>этил 5-((5-фторо-2-гидроксифенил) (фенил) метил) амино) пиразоло [1,5-а] пиримидин-3-карбоксилат</p>	<p>МС: 407,2 (M+H)<sup>+</sup>;  <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, Хлороформ-d) δ 9,66 (с, 1H), 8,64-8,55 (м, 2H), 8,16 (с, 1H), 7,33 (д, J=4,4 Гц, 4H), 7,25 (кв.д, J=4,3, 8,5 Гц, 1H), 7,11 (дд, J=3,1, 9,7 Гц, 1H), 6,98-6,91 (м, 1H), 6,88-6,78 (м, 2H), 6,58 (д, J=7,5 Гц, 1H), 4,18 (кв., J=7,0 Гц, 2H), 1,30 (т, J=7,1 Гц, 4H),</p>

A15		<p>этил 5-((1-(5-хлоро-2-гидроксифенил)этил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоксилат</p>	<p>МС: 361,2 (M+H)<sup>+</sup>;  <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, Хлороформ-d) δ  9,42 (уш.с, 1H),  8,27 (с, 1H), 8,20  (д, J=7,5 Гц, 1H),  7,28 (с, 1H), 7,25  (д, J=2,5 Гц, 1H),  7,13 (дд, J=2,5,  8,8 Гц, 1H), 6,95  (д, J=8,5 Гц, 1H),  6,11 (д, J=7,5 Гц,  1H), 5,75- 5,64  (м, 1H), 5,46 (д,  J=8,3 Гц, 1H),  4,52-4,40 (м, 2H),  1,68 (д, J=6,8 Гц,  3H), 1,61 (с, 2H),  1,44 (т, J=7,2 Гц,  3H),</p>
A16		<p>этил 5-((1-(5-фторо-2-гидроксифенил)этил)(метил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоксилат</p>	<p>МС: 359,2 (M+H)<sup>+</sup>;  <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, Хлороформ-d) δ  9,61 (с, 1H),  8,35-8,29 (м, 2H),  7,08-7,03 (м, 1H),  6,92 (дд, J=1,3,  6,1 Гц, 2H), 6,45  (кв., J=6,9 Гц,  1H), 6,35 (д,  J=7,9 Гц, 1H),  4,51-4,36 (м, 2H),  3,00 (с, 3H), 1,65  (д, J=7,0 Гц, 3H),  1,41 (т, J=7,2 Гц,  3H),</p>
A17		<p>этил 5-((5-фторо-2-меркаптобензил)(метил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоксилат</p>	<p>МС: 361,2 (M+H)<sup>+</sup>;  <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, Хлороформ-d) δ  9,19 (уш.с, 1H),  9,09 (д, J=7,3 Гц,  1H), 8,51 (с, 1H),  7,91-7,81 (м, 2H),  7,48 (дт, J=2,8,  8,5 Гц, 1H), 7,14  (д, J=7,3 Гц, 1H),  4,29 (уш.с, 2H),  4,18 (кв., J=7,0  Гц, 2H), 2,56  (уш.с, 3H), 1,16  (т, J=7,2 Гц, 3H),</p>

A18		<p>этил 5-((5-фторо-2-гидроксибензил)пиримидин-3-карбоксилат</p>	<p>МС: 330,2 (M+H)<sup>+</sup>;  <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, Хлороформ-d) δ  9,42 (с, 1H), 9,14 (д, J=7,0 Гц, 1H), 8,55 (с, 1H), 7,18 (д, J=7,0 Гц, 1H), 7,05 (дд, J=3,0, 9,5 Гц, 1H), 6,86-6,80 (м, 1H), 6,79-6,74 (м, 1H), 4,30 (кв., J=7,2 Гц, 2H), 3,21-3,13 (м, 2H), 3,06-2,99 (м, 2H), 1,33 (т, J=7,2 Гц, 3H),</p>
A19		<p>этил 5-((5-фторо-2-гидроксибензил) (метил)амино)-2-метилпиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоксилат</p>	<p>МС: 359,2 (M+H)<sup>+</sup>,</p>
A20		<p>этил 6-((5-фторо-2-гидроксибензил) (метил)амино)имидазо[1,2-б]пиридазин-3-карбоксилат</p>	<p>МС: 345,2 (M+H)<sup>+</sup>;  <sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, Хлороформ-d) δ  8,61 (с, 1H), 8,17 (с, 1H), 7,91 (д, J=10,0 Гц, 1H), 7,00-6,86 (м, 4H), 4,78 (с, 2H), 4,47 (кв.д, J=7,2, 0,5 Гц, 2H), 3,17 (с, 3H), 1,41 (тд, J=7,1, 0,5 Гц, 3H),</p>
A21		<p>этил 5-(((5-фторо-2-гидроксипиридин-3-ил)метил) (метил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоксилат</p>	<p>МС: 346,2 (M+H)<sup>+</sup>,</p>
A22		<p>этил 5-(((5-фторо-2-гидроксипиридин-3-ил)метил) (изопропил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоксилат</p>	<p>МС: 374,2 (M+H)<sup>+</sup>,</p>

A23		этил 5-((5-фторо-2-гидроксибензил)тио)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоксилат	МС: 348,2 (M+H) <sup>+</sup> ,
A24		этил 5-((1-(5-фторо-2-гидроксифенил)-2-гидроксиэтил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоксилат	МС: 361,2 (M+H) <sup>+</sup> ,

Ссылочный пример В7.



Стадия 1. В смесь 1-(5-фторо-2-гидроксифенил)этанона (773 мг, 5,0 ммоль) и трет-бутилового сложного эфира (2-хлорэтил)карбамовой кислоты (1,80 г, 10,0 ммоль) в DMF (20 мл) добавляли KI (2,0 мг, 0,012 ммоль) и  $\text{CS}_2\text{CO}_3$  (3,26 г, 10,0 ммоль). Смесь перемешивали при 80°C всю ночь. Смесь затем охлаждали до температуры окружающей среды, разбавляли EtOAc и промывали 1н. NaOH (5×10 мл), пока ЖХМС не показывала отсутствие пика 1-(5-фторо-2-гидроксифенил)этанона. Органический слой высушивали над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и концентрировали. Остаток затем очищали при помощи колонки на силикагеле, элюируя EtOAc/гексаном (0-30%, 10 CV) с получением целевого продукта В7-2 в виде желтого твердого вещества (1,1 г, 73,8%).

ЖХ-МС (ESI)  $m/z$  320,3 (M+Na)<sup>+</sup>.

Стадия 2. К раствору В7-2 (1,0 г, 3,36 ммоль) в MeOH (10 мл) добавляли  $\text{NaBH}_4$  (640 мг, 16,8 ммоль) по порциям. Смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 2 ч, пока по данным ЖХМС не осталось исходного материала. Раствор затем разбавляли водой (50 мл) и экстрагировали DCM (3×20 мл). Соединенные DCM слои высушивали над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и концентрировали. Остаток очищали при помощи колонки на силикагеле, элюируя EtOAc/гексаном (0-50%, 10 CV) с получением целевого продукта В7-3 в виде бледно-желтого твердого вещества (0,75 г, 75%).

ЖХ-МС (ESI)  $m/z$  322,3 (M+Na)<sup>+</sup>;

<sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, Хлороформ-d)  $\delta$  7,11 (дд, J=9,2, 3,4 Гц, 1H), 6,89 (ддд, J=9,0, 7,9, 3,2 Гц, 1H), 6,77 (дд, J=8,9, 4,4 Гц, 1H), 5,09 (кв., J=6,6 Гц, 1H), 4,92 (д, J=4,4 Гц, 1H), 4,03 (т, J=5,2 Гц, 2H), 3,62-3,50 (м, 2H), 1,49 (д, J=6,4 Гц, 3H), 1,45 (с, 9H).

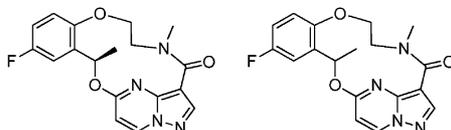
Стадия 3. К раствору В7-3 (600 мг, 2,0 ммоль) и трет-бутилового сложного эфира {2-[4-фторо-2-(1-гидроксиэтил)фенокси]этил}карбамовой кислоты (450 мг, 2,0 ммоль) в сухом THF (40,0 мл) при -78°C добавляли NaH (60%, 80 мг, 2,0 ммоль) по порциям, суспензию перемешивали при -78°C в течение 4 ч и оставляли нагреваться до 0°C и перемешивали в течение еще 4 ч. Смесь затем помещали в холодильник при -20°C на всю ночь. ЖХ-МС показала хорошее превращение в желаемый продукт. Смесь затем гасили смесью льда и 1н. HCl и экстрагировали EtOAc (3×20 мл). Органический слой высушивали над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , концентрировали и очищали дважды с получением целевого продукта В7 в виде желтого твердого вещества (240 мг, 25%).

В1-В7 были получены в соответствии с общим способом В и способами, описанными в данном документе.

Пример	Структура	Название	Аналитические данные
B1		этил 5-((2-(2-(tert-бутоксикарбонил)амино)этокси)-5-фторобензил)(метил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоксилат	МС: 488,3,1 (M+H) <sup>+</sup> ; <sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, Хлороформ-d) δ 8,30 (с, 1H), 8,26 (с, 1H), 6,92 (тд, J=8,6, 3,3 Гц, 1H), 6,83-6,76 (м, 1H), 6,31 (с, 1H), 4,93 (с, 2H), 4,51-4,44 (м, 1H), 4,36 (кв., J=7,2 Гц, 2H), 4,03 (т, J=4,9 Гц, 2H), 3,69-3,63 (м, 1H), 3,51 (с, 2H), 3,30 (с, 2H), 1,44 (с, 9H), 1,41-1,35 (т, J=7,2 Гц, 3H),
B2		этил 5-((2-(2-(tert-бутоксикарбонил)амино)этокси)-5-фторобензил)(этил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоксилат	МС: 502,2 (M+H) <sup>+</sup> ,
B3		этил 5-((2-(2-(tert-бутоксикарбонил)амино)этокси)-5-фторобензил)(пропил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоксилат	МС: 516,3 (M+H) <sup>+</sup> ,
B4		этил 5-((2-(2-(tert-бутоксикарбонил)амино)этокси)-5-фторобензил)(циклопропил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоксилат	МС: 514,2 (M+H) <sup>+</sup> ,
B5		этил 5-((2-(2-(tert-бутоксикарбонил)амино)этокси)-5-фторобензил)(2-гидроксиэтил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоксилат	МС: 518,3 (M+H) <sup>+</sup> ,

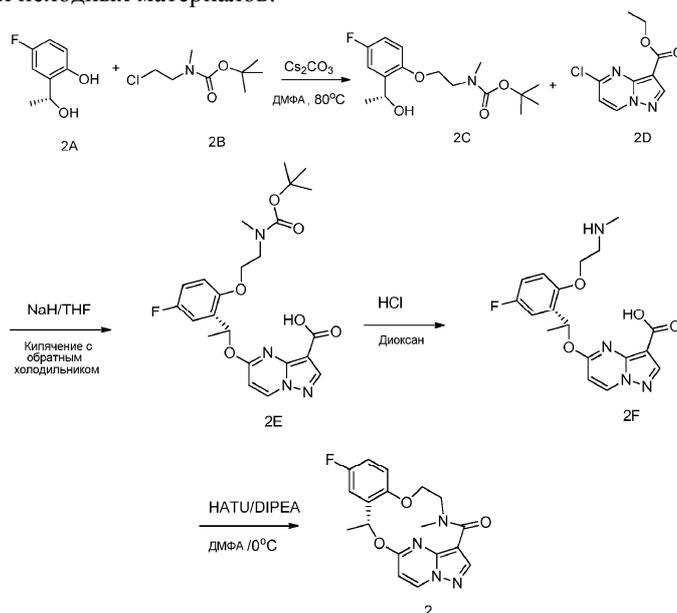
B6		Этил 5-((6-(2-((трет-бутоксикарбонил)амино)этокси)-2-хлоро-3-фторобензил)(метил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоксилат МС: 522.5 (M+H) <sup>+</sup> .
B7		ЖХ-МС (ESI) m/z 511,6 (M+Na) <sup>+</sup> ; <sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, Хлороформ-d) δ 8,16 (с, 1H), 7,90 (д, J=9,7 Гц, 1H), 7,16 (дд, J=9,0, 3,2 Гц, 1H), 0,95 (д, J=9,5 Гц, 1H), 6,90-6,88 (м, 1H), 6,81-6,78 (м, 1H), 6,68 (кв., J=6,2 Гц, 1H), 5,84-5,68 (м, 1H), 4,38 (кв., J=7,2 Гц, 2H), 4,15-4,09 (м, 2H), 3,60-3,52 (м, 2H), 1,65 (д, J=6,4 Гц, 3H), 1,38 (д, J=7,2 Гц, 3H), 1,35 (с, 9H).

Ссылочные примеры 2 и 2-1.



Синтез А.

Пример 2 может быть получен так, как показано на следующей схеме, из рацемических или энантиомерно обогащенных исходных материалов:



Стадия 1. В смесь соединения 2А (1 экв.) и 2В (1,2 экв.) в безводном DMF (0,2 М) добавляли CS<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1,5 экв.) и реакцию нагревали на масляной бане при 80°C в атмосфере азота всю ночь. Смесь охлаждали, выливали в воду и экстрагировали EtOAc трижды. Соединенные органические слои промы-

вали водой пять раз, промывали соевым раствором и высушивали над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . После конденсации остаток очищали на флэш-колонке, элюируя  $\text{EtOAc}$ /гексаном, с получением соединения 2С.

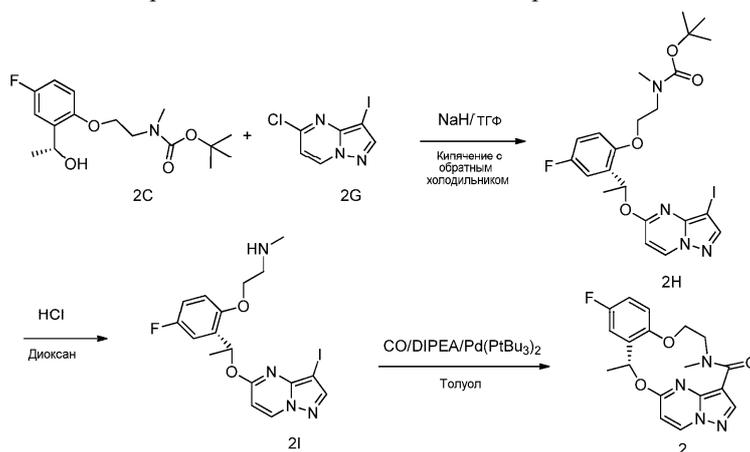
Стадия 2. К раствору соединения 2С (1 экв.) в безводном THF (0,2 М) добавляли NaH (1,2 экв.). Реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 0,5 ч. В смесь добавляли соединение 2D и реакцию нагревали при кипячении с обратным холодильником в атмосфере азота всю ночь. Реакцию охлаждали до температуры окружающей среды и разбавляли порцией воды (1/3 THF объема) и NaOH (3 экв.). Смесь перемешивали и нагревали при  $70^\circ\text{C}$  в течение 2 ч или до тех пор, пока сложный эфир не гидролизировался полностью в соответствующую кислоту. После охлаждения органический слой отделяли и водный слой нейтрализовали до pH ~5. Полученный в результате осадок фильтровали, промывали водой трижды и высушивали в вакууме с получением соединения 2Е, которое использовали без дополнительной очистки.

Стадия 3. К раствору соединения 2Е (1 экв.) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (0,2 М) добавляли 4 М HCl/диоксана (10 экв.) и смесь перемешивали, пока соединение 2Е полностью не превратилось в соединение 2F. Смесь концентрировали и остаток очищали обращенно-фазной препаративной ВЭЖХ с получением соединения 2F.

Стадия 4. Раствор соединения 2F (1 экв.) и DIPEA (10 экв.) в DMF (0,2 М) добавляли по каплям к раствору NATU (1,4 экв.) в DMF (0,1 М) при  $0^\circ\text{C}$ . После завершения добавления смесь перемешивали при  $0^\circ\text{C}$  в течение еще 30 мин. Добавляли воду и смесь экстрагировали  $\text{EtOAc}$  трижды. Соединенные органические слои промывали насыщенным  $\text{NaHCO}_3$  дважды, затем соевым раствором, высушивали над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и концентрировали. Остаток очищали на колонке на силикагеле, элюируя  $\text{EtOAc}$ /гексаном, с получением примера 2.

#### Синтез В.

Примеры 2 и 2-1 могут быть также получены в соответствии со следующей схемой с использованием рацемических или энантимерно обогащенных исходных материалов:

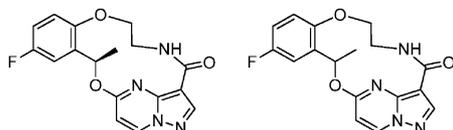


Стадия 1. Соединение 2С реагирует с соединением 2G в условиях, описанных в синтезе А, стадия 2, с получением соединения 2H.

Стадия 2. Соединение 2H превращается в соединение 2I в условиях, описанных в синтезе А, стадия 3.

Стадия 3. К раствору соединения 2I (1 экв.) и DIPEA (2 экв.) в толуоле (0,01 М) добавляли Pd(P-tBu<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (1 экв.). Реакционную смесь нагревали при  $100^\circ\text{C}$  при 4 бар CO всю ночь и затем концентрировали. Остаток очищали на колонке на силикагеле, элюируя  $\text{EtOAc}$ /гексаном, с получением примера 2.

Ссылочные примеры 10 и 10-1.



Примеры 10 и 10-1 могут быть получены так, как показано на следующей схеме с использованием рацемических или энантимерно обогащенных исходных материалов:



Стадия 3. К раствору 11-1С (100 мг, 0,41 ммоль) в безводном THF (5 мл) при  $-78^{\circ}\text{C}$  добавляли метил магний бромид (1н. в  $\text{Et}_2\text{O}$ , 0,82 мл, 0,82 ммоль). Смесь оставляли нагреваться до комнатной температуры и перемешивали в течение 2 ч, пока ТСХ не продемонстрировала отсутствие исходного материала. Раствор затем охлаждали до  $0^{\circ}\text{C}$  и гасили нас. водн.  $\text{NH}_4\text{OAc}$  и экстрагировали  $\text{EtOAc}$  ( $3 \times 20$  мл). Соединенный органический слой высушивали над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и концентрировали. Остаток 11-1D использовали непосредственно на следующей стадии.

$^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц, Хлороформ-d)  $\delta$  6,97 (дд,  $J=9,2, 8,3$  Гц, 1H), 6,77 (дд,  $J=9,1, 4,1$  Гц, 1H), 5,27 (кв.,  $J=6,7$  Гц, 1H), 4,34-4,29 (м, 1H), 4,22-4,16 (м, 1H), 4,04-3,98 (м, 1H), 3,95-3,88 (м, 2H), 1,51 (д,  $J=6,7$  Гц, 3H).

Стадия 4. К раствору сложного этилового эфира 5-хлоро-пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоновой кислоты (100 мг, 0,44 ммоль) и 11-1D (110 мг, 0,41 ммоль) в безводном THF (5,0 мл) при  $-78^{\circ}\text{C}$  добавляли NaH (60%, 17 мг, 0,44 ммоль). Смесь оставляли нагреваться до комнатной температуры и перемешивали в течение 8 ч до образования достаточного количества целевого продукта. Смесь затем разбавляли водой/льдом и экстрагировали DCM ( $3 \times 20$  мл). Органический слой высушивали над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , концентрировали и очищали при помощи хроматографии с колонкой на силикагеле с получением 11-1E в виде желтой жидкости (20 мг, 0,045 ммоль, 6%), который непосредственно использовали на следующей стадии.

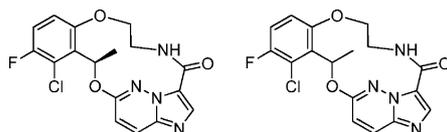
Стадия 5. К раствору 11-1E (20 мг, 0,045 ммоль) в MeOH (1 мл), LiOH (16 мг, 0,38 ммоль) добавляли с последующим добавлением 1 мл  $\text{H}_2\text{O}$ . Смесь оставляли перемешиваться при  $60^{\circ}\text{C}$  в течение 4 ч, пока ЖХМС и ТСХ не продемонстрировали завершение реакции. Раствор охлаждали до комнатной температуры, частично концентрировали и подкисляли 1н. HCl до pH 2-3. Водную смесь экстрагировали DCM ( $3 \times 10$  мл). Органический слой высушивали над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и концентрировали. Остаток 11-1F использовали непосредственно на следующей стадии.

Стадия 6. К раствору 11-1F (20 мг, 0,045 ммоль) в DCM (5 мл) добавляли  $\text{PPh}_3$  (24 мг, 0,09 ммоль). Раствор перемешивали в течение 1 ч, пока ТСХ не продемонстрировала полное превращение исходного материала в желаемый продукт. Смесь затем использовали непосредственно на следующей стадии без дополнительной характеристики.

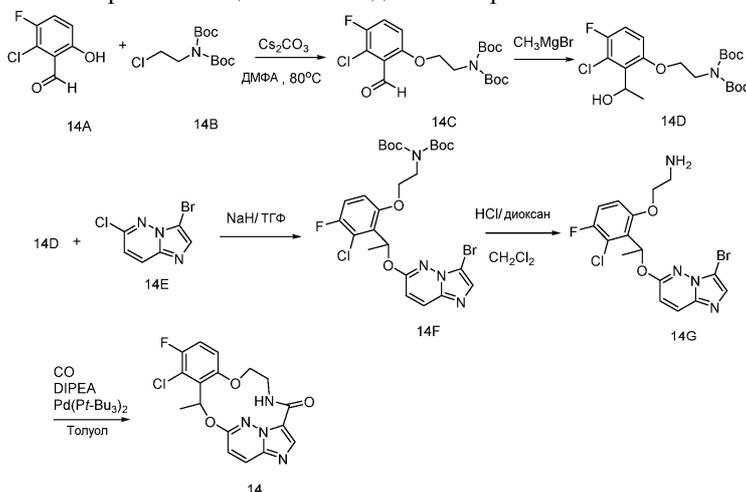
11-1G MS ESI<sup>+</sup> m/z 417,7 (M+Na)<sup>+</sup>.

Стадия 7. К раствору 11-1G, полученному на предыдущих стадиях DMF (10 мл), добавляли DIPEA (0,20 мл, 1,15 ммоль). Раствор охлаждали на бане с сухим льдом/ацетоном и добавляли NATU (40,0 мг, 0,11 ммоль). Раствор оставляли нагреваться до комнатной температуры медленно, и ЖХМС демонстрирует полное превращение исходного материала в желаемый продукт. Смесь затем разбавляли водой (50 мл) и экстрагировали  $\text{EtOAc}$  ( $3 \times 50$  мл). Соединенный органический слой промывали водой ( $3 \times 50$  мл) и соевым раствором (50 мл) и высушивали над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Растворитель удаляли и полученный в результате остаток очищали при помощи хроматографии с колонкой на силикагеле (0-5% MeOH/DCM) с получением целевого продукта в виде белого твердого вещества (2,6 мг, 20% выход).

Ссылочные примеры 14 и 14-1.



Примеры 14 и 14-1 могут быть получены в соответствии со следующей схемой с использованием рацемических или энантиомерно обогащенных исходных материалов:



Стадия 1. В смесь соединения 14A (1 экв.) и 14B (1,2 экв.) в безводном DMF (0,2 М) добавляли  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (1,5 экв.) и реакцию нагревали на масляной бане при  $80^{\circ}\text{C}$  в атмосфере азота всю ночь. Смесь

охлаждали, выливали в воду и экстрагировали EtOAc трижды. Соединенные органические слои промывали водой пять раз, промывали солевым раствором и высушивали над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . После конденсации остаток очищали при помощи флэш-колонки на силикагеле, элюируя EtOAc/гексаном, с получением 14C.

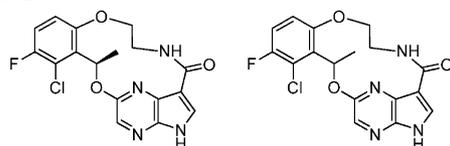
Стадия 2. В охлажденный ( $-78^\circ\text{C}$ ) раствор 14C (1 экв.) в безводном THF (0,2 М) добавляли MeMgBr (3 экв, 3 М в диэтиловом эфире). Реакцию перемешивали в течение 2 ч от  $-78$  до  $0^\circ\text{C}$ , гасили насыщенным водным  $\text{NH}_4\text{Cl}$  и затем экстрагировали EtOAc (2×). Органические слои высушивали над  $\text{MgSO}_4$ , фильтровали и концентрировали. Данный остаток очищали при помощи хроматографии на силикагелевой колонке, элюируя EtOAc/гексаном, с получением 14D.

Стадия 3. К раствору соединения 14D (1 экв.) в безводном THF (0,2 М) добавляли NaNH (1,2 экв.). Реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 0,5 ч. В смесь добавляли 14E и реакцию нагревали до дефлегмации в атмосфере азота всю ночь. Реакцию охлаждали до температуры окружающей среды и затем выливали в воду. Продукт экстрагировали EtOAc трижды. Соединенные органические слои промывали солевым раствором, высушивали над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и концентрировали. Остаток очищали при помощи колонки на силикагеле, элюируя EtOAc/гексаном, с получением продукта 14F.

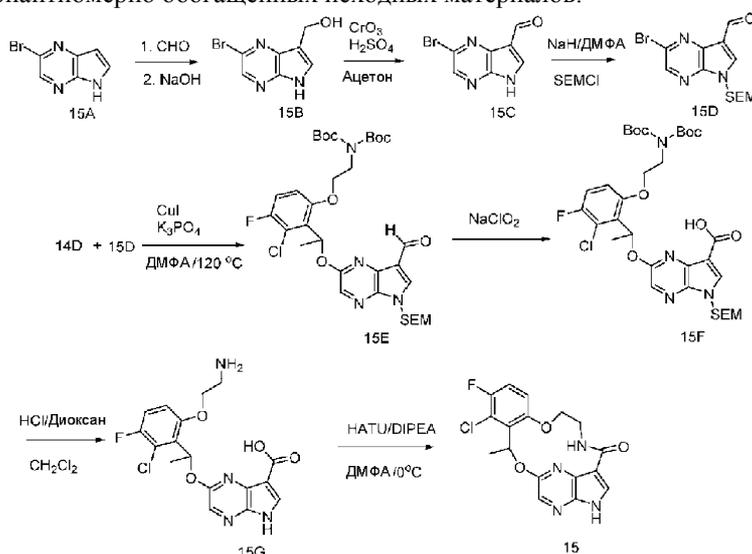
Стадия 4. К раствору соединения 14F (1 экв.) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (0,2 М) добавляли 4 М HCl/диоксан (10 экв.) и смесь перемешивали, пока весь 14F не превращался в 14G. После концентрирования остаток очищали при помощи обращенно-фазной препаративной ВЭЖХ с получением 14G.

Стадия 5. К раствору 14G (1 экв.) и DIPEA (2 экв.) в толуоле (0,01 М) добавляли  $\text{Pd}(\text{P}-t\text{-Bu}_3)_2$  (1 экв.). Реакционную смесь нагревали до  $100^\circ\text{C}$  при 4 бар CO всю ночь и затем концентрировали. Остаток очищали на колонке на силикагеле, элюируя EtOAc/гексаном, с получением 14.

Ссылочные примеры 15 и 15-1.



Примеры 15 и 15-1 могут быть получены в соответствии со следующей схемой с использованием рацемических или энантимерно обогащенных исходных материалов:



Стадия 1. К суспензии 15A (1,0 экв.) в THF (0,15 М) добавляли раствор 2,0 М водного NaOH (3 экв.). Гомогенную реакционную смесь перемешивали всю ночь и затем органические слои удаляли при пониженном давлении. Водный остаток доводили до pH ~4 1,0 М водной HCl. Полученный в результате осадок собирали фильтрованием и промывали  $\text{H}_2\text{O}$  с получением твердого вещества 15B. Фильтрат экстрагировали EtOAc (2×) и органические слои концентрировали при пониженном давлении с получением дополнительной порции 15B.

Стадия 2. Маточный раствор реагента Джонса (2,67 М) получали путем осторожного добавления концентрированной  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (2,3 мл) в  $\text{CrO}_3$  (2,67 г) и последующего разбавления до 10 мл  $\text{H}_2\text{O}$ . К суспензии 15B (1,0 экв.) в ацетоне (0,067 М) медленно добавляли реагент Джонса (1,2 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 15 мин и затем гасили *i*-PrOH и фильтровали через прокладку с диатомитовой землей, промывая ацетоном. Фильтрат концентрировали с получением 15C, который использовали без дополнительной очистки.

Стадия 4. К раствору 15C (1,0 экв.) в DMF (0,40 М) при  $0^\circ\text{C}$  добавляли NaNH (60% в минеральном масле, 1,5 экв.). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин и затем

снова охлаждали до 0°C и медленно добавляли 2-(триметилсилилэтоксиметил)хлорид (4,3 мл, 1,2 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры, перемешивали в течение 1 ч и затем гасили H<sub>2</sub>O и экстрагировали EtOAc (3×). Соединенные органические слои промывали H<sub>2</sub>O (3×) и соевым раствором и затем высушивали над MgSO<sub>4</sub> и концентрировали. Остаток очищали при помощи флэш-хроматографии на силикагеле, элюируя 20-30% EtOAc/гексан с получением 15D.

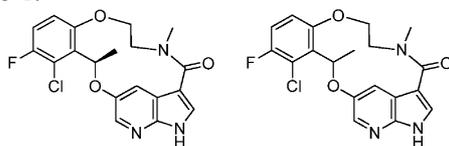
Стадия 5. К реакционной смеси 14D (1,0 экв.), йодиду меди(I) (0,05 экв.), 8-гидроксихинолину (0,1 экв.) и трехосновному фосфату калия (2,0 экв.) в DMF (0,2 М) в атмосфере азота добавляли 15D (1,2 экв.), реакционную смесь нагревали при 120°C в течение 24 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и затем разбавляли EtOAc. Смесь фильтровали через прокладку с диатомитовой землей и фильтровали, испаряя в вакууме. Неочищенный остаток очищали на колонке на силикагеле, элюируя EtOAc/гексаном с получением 15E.

Стадия 6. Суспензию 15E (1,0 экв.) в 1,4-диоксане (0,062 М) и воде (1/3 THF) обрабатывали сульфамовой кислотой (6,0 экв.). Раствор хлорита натрия (1,3 экв.) и дикислый фосфат калия (12 экв.) в воде (1,2 М) добавляли через капельную воронку в течение 20 мин. После завершения добавления ледяную баню удаляли, реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. THF добавляли, реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 3 ч. Реакционную смесь разбавляли водой и экстрагировали EtOAc (2×). Соединенные органические слои промывали водой и соевым раствором и затем высушивали над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали. Остаток растила этилацетатом/гексаном с получением 15F.

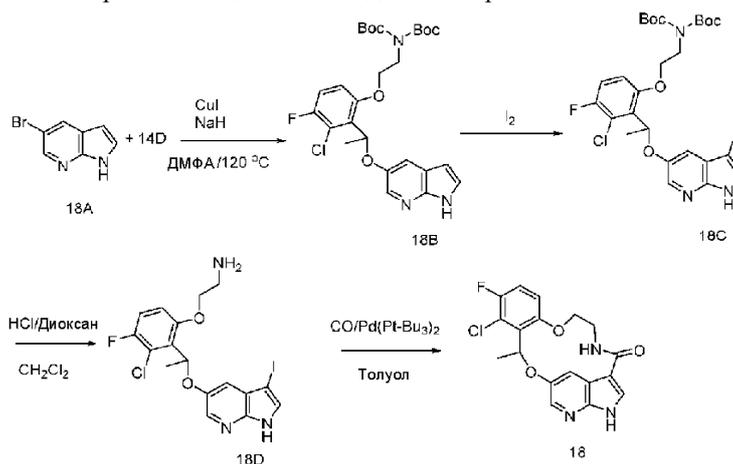
Стадия 7. К раствору соединения 15F (1 экв.) в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0,2 М) добавляли 4 М HCl/диоксан (10 экв.) и смесь перемешивали до тех пор, пока весь 15F не превратился в 15G. После концентрирования остаток очищали при помощи обращенно-фазной препаративной ВЭЖХ с получением 15G.

Стадия 8. Раствор соединения 15G (1 экв.) и DIPEA (10 экв.) в DMF (0,2 М) добавляли по каплям к раствору NATU (1,4 экв.) в DMF (0,1 М) при 0°C. После завершения добавления смесь перемешивали при 0°C в течение еще 30 мин. Добавляли воду и смесь трижды экстрагировали EtOAc. Соединенные органические слои промывали насыщенным NaHCO<sub>3</sub> дважды, соевым раствором, высушивали над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и испаряли. Остаток очищали при помощи колонки на силикагеле, элюируя EtOAc/гексаном, с получением 15.

Ссылочные примеры 18 и 18-1.



Примеры 18 и 18-1 могут быть получены в соответствии со следующей схемой с использованием рацемических или энантиомерно обогащенных исходных материалов:



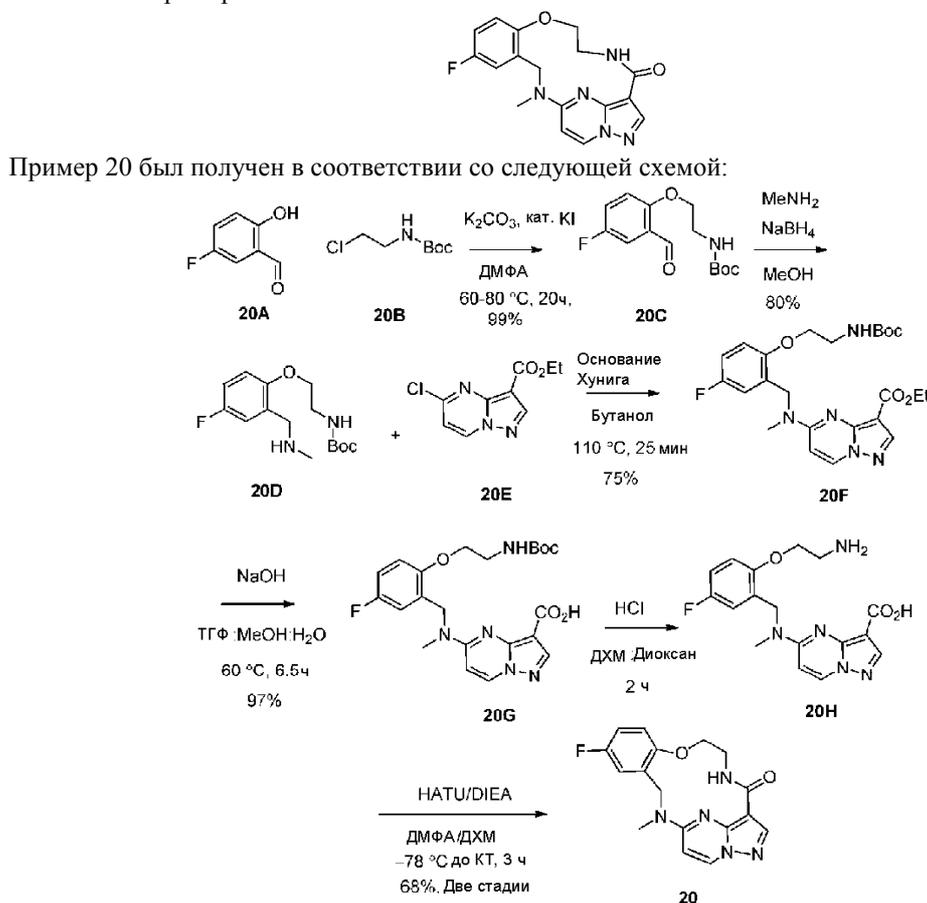
Стадия 1. К реакционной смеси 14D (1,0 экв.), 18A (1,2 экв.) и йодида меди(I) (0,05 экв.) в DMF (0,2 М) в атмосфере азота добавляли NaH (3,0 экв.). Реакционную смесь нагревали при 120°C в течение 24 ч, затем охлаждали до комнатной температуры и разбавляли EtOAc. Смесь фильтровали через прокладку с диатомитовой землей и фильтровали, испаряя в вакууме. Неочищенный остаток очищали на колонке на силикагеле, элюируя EtOAc/гексаном, с получением 18B.

Стадия 2. К реакционной смеси 18B (1,0 экв.) в DMF (0,2 М) добавляли KOH (2 экв.) и I<sub>2</sub> (1,1 экв.). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч, затем гасили NaHSO<sub>3</sub> и экстрагировали EtOAc. Соединенные органические слои промывали насыщенным NaHCO<sub>3</sub> дважды, соевым раствором, высушивали над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и испаряли. Остаток очищали при помощи колонки на силикагеле, элюируя EtOAc/гексаном, с получением 18C.

Стадия 3. К раствору соединения 18C (1 экв.) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (0,2 М) добавляли 4 М  $\text{HCl}$ /диоксан (10 экв.) и смесь перемешивали, пока весь 18C не превращался в 18D. После концентрирования остаток очищали при помощи обращенно-фазной препаративной ВЭЖХ с получением 18D.

Стадия 4. К раствору 18D (1 экв.) и DIPEA (2 экв.) в толуоле (0,01 М) добавляли  $\text{Pd}(\text{P-t-Bu}_3)_2$  (1 экв.). Реакционную смесь нагревали при  $100^\circ\text{C}$  при 4 бар  $\text{CO}$  всю ночь и затем концентрировали. Остаток очищали на колонке на силикагеле, элюируя  $\text{EtOAc}$ /гексаном, с получением 18.

Ссылочный пример 20.



Стадия 1. трет-Бутил (2-(4-фторо-2-формилфенокси)этил)карбамат (20C).

Раствор альдегида 20A (1,5 г, 11 ммоль), хлорида 20B (2,1 г, 12 ммоль), карбоната калия (7,4 г, 54 ммоль) и йодида калия (36 мг, 0,2 ммоль) в DMF (11 мл) нагревали до  $60^\circ\text{C}$  и перемешивали в течение 15 ч. Добавление дополнительного хлорида 20B (1,0 г, 6 ммоль) и дополнительное нагревание при  $80^\circ\text{C}$  в течение 5 ч завершило реакцию. Смесь охлаждали до комнатной температуры и разбавляли путем добавления воды (250 мл). Смесь экстрагировали этилацетатом ( $3 \times 300$  мл) и соединенные экстракты промывали водой (200 мл) и соевым раствором (100 мл), высушивали сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении. Флэш-хроматография (ISCO система, силикагель, 0-20% этилацетат в гексане) привела к получению 20C (3,0 г, 99%) в виде вязкого масла.

LRESIMS  $m/z$  306,1  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , в расчете на  $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{F}_1\text{N}_1\text{Na}_1\text{O}_4$  306,1.

Стадия 2. трет-Бутил (2-(4-фторо-2-((метиламино)метил)фенокси)этил)карбамат (20D).

Альдегид 20C (2,5 г, 8,8 ммоль) и метиламин (0,69 г, 22 ммоль) в метаноле (88 мл) нагревали до  $60^\circ\text{C}$  и перемешивали в течение 1 ч. Смесь охлаждали до комнатной температуры и добавляли борогидрид натрия (3,3 г, 8,8 ммоль). Смесь перемешивали в течение 30 мин, а затем гасили путем добавления воды (200 мл). Смесь экстрагировали дихлорметаном ( $4 \times 100$  мл) и соединенные экстракты высушивали соевым раствором (50 мл), сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении. Флэш-хроматография (ISCO система, силикагель, 0-100% (10% метанол в этилацетате) в гексане) привела к получению соединения (2,1 г, 80%) в виде геля.

LRESIMS  $m/z$  299,2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , в расчете на  $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{F}_1\text{N}_2\text{O}_3$  299,2.

Стадия 3. Этил 5-((2-(2-((трет-бутоксикарбонил)амино)этокси)-5-фторобензил)(метил)амино)-пирозоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоксилат (20F).

Амин 20D (2,1 г, 7,0 ммоль), сложный эфир 20E (1,59 г, 7,0 ммоль) и основание Хунига (7,0 мл, 5,2 г, 40 ммоль) в бутаноле (17 мл) нагревали при  $110^\circ\text{C}$  в течение 25 мин. Реакцию охлаждали и разбавляли водой (250 мл). Смесь экстрагировали дихлорметаном ( $4 \times 100$  мл) и соединенные экстракты высу-

шивали сульфатом натрия. Смесь концентрировали при пониженном давлении. Флэш-хроматография (ISCO система, силикагель, 20-100% этилацетат в гексане) привела к получению титульного соединения (2,1 г, 75%) в виде твердого вещества.

LRESIMS  $m/z$  488,3  $[M+H]^+$ , в расчете на  $C_{24}H_{31}F_1N_5O_5$  488,2.

Стадия 4. 5-((2-(2-((трет-Бутоксикарбонил)амино)этокси)-5-фторобenzил)(метил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоновая кислота (20G).

Гидроксид натрия (40 мл, 2 М в воде) добавляли к перемешивающемуся раствору сложного эфира 20F (2,1 г, 4,3 ммоль) в тетрагидрофуран:метанол (3,2, 100 мл) при комнатной температуре. Реакцию нагревали до 60°C и перемешивали в течение 6,5 ч. Смесь охлаждали до 0°C и подкисляли соляной кислотой (45 мл, 2 М в воде), затем разбавляли водой (100 мл). Смесь экстрагировали этилацетатом (4×150 мл) и соединенные экстракты высушивали солевым раствором (50 мл) и сульфата натрия. Смесь концентрировали при пониженном давлении с получением титульного соединения (1,92 г, 97%) в виде твердого вещества.

LRESIMS  $m/z$  460,2  $[M+H]^+$ , в расчете на  $C_{22}H_{27}F_1N_5O_5$  460,2.

Стадия 5. 5-((2-(2-Аминоэтокси)-5-фторобenzил)(метил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоновая кислота (20H).

Соляную кислоту (5 мл, 4 М в диоксане) добавляли к перемешивающемуся раствору карбоновой кислоты 20G (1,92 г, 4,2 ммоль) в дихлорметане (25 мл) при комнатной температуре. Реакцию перемешивали в течение 2 ч, а затем концентрировали при пониженном давлении с получением титульного соединения в виде твердого вещества.

LRESIMS  $m/z$  360,2  $[M+H]^+$ , в расчете на  $C_{17}H_{10}F_1N_5O_3$  360,2.

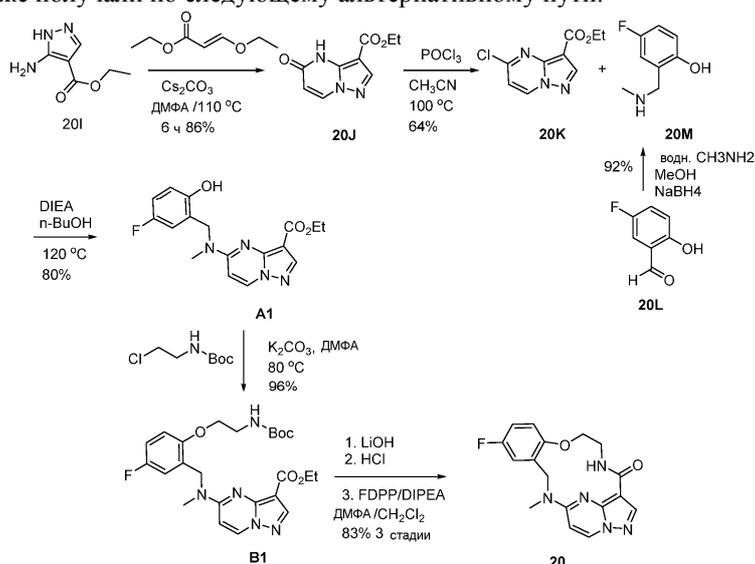
Стадия 6. В атмосфере аргона НАТУ (1,67 г, 4,4 ммоль) добавляли к перемешивающемуся раствору карбоновой кислоты 20H (1,50 г, 4,2 ммоль) и основанию Хунига (7,28 мл, 5,40 г, 41,8 ммоль) в DMF:дихлорметане (5:1, 60 мл) при -78°C. Реакцию медленно нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 3 ч, а затем гасили водой (300 мл). Смесь экстрагировали этилацетатом (3×100 мл), затем дихлорметаном (2×100 мл) и соединенные экстракты высушивали солевым раствором (50 мл) и сульфатом натрия. Смесь концентрировали при пониженном давлении. Флэш-хроматография (ISCO система, силикагель, 1-4% метанол в дихлорметане) с последующей рекристаллизацией из этилацетата/метанола обеспечила пример 20 (0,98 г, 68%, 2 стадии) в виде твердого вещества.

LRESIMS  $m/z$  342,2  $[M+H]^+$ , в расчете на  $C_{17}H_{17}F_1N_5O_2$  342,1;

$^1H$  ЯМР (500 МГц,  $DMCO-d_6$ )  $\delta$  9,43 (дд,  $J=6,9, 2,7$  Гц, 1H), 8,76 (д,  $J=7,9$  Гц, 1H), 8,10 (с, 1H), 7,19-7,25 (м, 1H), 7,03-7,07 (м, 2H), 6,72 (д,  $J=7,9$  Гц, 1H), 5,64 (дд,  $J=14,9, 1,5$  Гц, 1H), 4,48 (дт,  $J=10,2, 4,3$  Гц, 1H), 4,04-4,10 (м, 2H), 3,81-3,87 (м, 1H), 3,58 (с, 3H), 3,38-3,46 (м, 1H).

Альтернативный синтез примера 20.

Пример 20 также получали по следующему альтернативному пути:



Стадия 1. Этил 5-оксо-4H-пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоксилат (20J).

К смеси 20I (150,00 г, 1,08 ммоль) и этил (E)-3-этоксипроп-2-еноата (292,16 г, 2,03 моль) в DMF (3,2 л) добавляли  $Cs_2CO_3$  (656,77 г, 2,02 моль) одной порцией при 20°C в атмосфере  $N_2$ . Смесь перемешивали при 110°C в течение 6 ч. Смесь охлаждали до 20°C и фильтровали через прокладку с диатомитовой землей. Осадок на фильтре промывали этилацетатом (3×30 мл). Фильтрат добавляли в  $H_2O$  (2 л) и подкисляли HOAc до pH 4. Полученный в результате осадок фильтровали с получением 20J (173,00 г, 834,98 ммоль, 86,36% выход) в виде белого твердого вещества.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>) δ 8,54 (д, J=7,91 Гц, 1H), 8,12 (с, 1H), 6,13 (д, J=7,91 Гц, 1H), 4,27 (кв., J=7,11 Гц, 2H), 1,28 (т, J=7,09 Гц, 3H).

Стадия 2. 5-Хлоропиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоксилат (20К).

В смесь 20J (158,00 г, 762,59 ммоль) в MeCN (1,6 л) добавляли POCl<sub>3</sub> (584,64 г, 3,81 моль) при 20°C в атмосфере N<sub>2</sub>. Смесь перемешивали при 100°C в течение 2 ч. Смесь охлаждали до 20°C и выливали в ледяную воду (5000 мл) порциями в 0°C и перемешивали в течение 20 мин. Осадок фильтровали и высушивали с получением 20K (110,00 г, 487,52 ммоль, 63,93% выход) в виде белого твердого вещества.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>) δ 9,33 (д, J=7,28 Гц, 1H), 8,66 (с, 1H), 7,41 (д, J=7,15 Гц, 1H), 4,31 (кв., J=7,15 Гц, 2H), 1,32 (т, J=7,09 Гц, 3H).

Стадия 3. 4-Фторо-2-метиламинометил-фенол (20M).

К раствору 20 л (5,00 г, 35,69 ммоль, 1,00 экв.) в MeOH (50,00 мл) добавляли водный метанамин (8,8 мл, 71,38 ммоль, 25%, 2,00 экв.) одной порцией при 25°C в атмосфере N<sub>2</sub>. Смесь перемешивали при 25°C в течение 3 ч, затем NaBH<sub>4</sub> (2,70 г, 71,38 ммоль, 2,00 экв.) добавляли по порциям. Затем смесь перемешивали при 25°C в течение еще 9 ч. ТСХ показала завершение реакции. Смесь концентрировали при пониженном давлении при 45°C. Остаток выливали в воду (50 мл). Водную фазу экстрагировали дихлорметаном (3×200 мл) и комбинированную органическую фазу промывали солевым раствором (200 мл), высушивали над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали в вакууме с получением 20M (5,10 г, 32,87 ммоль, 92,09% выход) в виде бесцветного твердого вещества.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 6,86 (дт, J=3,0, 8,7 Гц, 1H), 6,78-6,69 (м, 2H), 3,93 (с, 2H), 2,48 (с, 3H).

Стадия 4. Сложный этиловый эфир 5-[(5-фторо-2-гидроксibenзил)метиламино]пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоновой кислоты (A1).

К суспензии 20M (33,70 г, 217,17 ммоль, 1,00 экв.) и 20K (49,00 г, 217,17 ммоль, 1,00 экв.) в n-BuOH (740,00 мл), добавляли DIPEA (159,98 г, 1,24 моль, 5,70 экв.). Реакционную смесь перемешивали при 120°C в течение 2 ч в атмосфере азота. ТСХ показала завершение реакции. Раствор охлаждали до 25°C и затем удаляли растворитель. Остаток разбавляли водой (500 мл) и экстрагировали дихлорметаном (3×500 мл). Соединенные органические экстракты промывали солевым раствором (300 мл), высушивали над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и концентрировали в вакууме. Остаток растирали с EtOAc (100 мл) с получением A1 (60,00 г, 174,25 ммоль, 80,24% выход) в виде белого твердого вещества.

<sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, Хлороформ-d) δ 9,71 (с, 1H), 8,32 (д, J=7,9 Гц, 1H), 8,30 (с, 1H), 6,98-6,87 (м, 3H), 6,37 (д, J=7,9 Гц, 1H), 4,82 (с, 2H), 4,42 (кв., J=7,1 Гц, 2H), 3,21 (с, 3H), 1,39 (т, J=7,1 Гц, 3H).

Стадия 5. Сложный этиловый эфир 5-{[2-(2-трет-бутоксикарбониламиноэтокси)-5-фторобензил]-метиламино}пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоновой кислоты (B1).

К раствору A1 (102,85 г, 298,6 ммоль, 1 экв.), трет-бутилового сложного эфира (2-хлороэтил)карбамовой кислоты (56,33 г, 313,5 ммоль, 1,05 экв.) в DMF (854 мл) добавляли K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (206,41 г, 1493 ммоль, 5,0 экв.). Смесь нагревали при 80°C в течение 20 ч с -85% превращением исходного материала в продукт при помощи ЖХ-МС. Дополнительные порции трет-бутилового сложного эфира (2-хлороэтил)карбамовой кислоты (5,633 г, 31,35 ммоль, 0,1 экв.) и K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (41,282 г, 298,6 ммоль, 1 экв.) добавляли в реакционную колбу. Реакцию продолжали при 80°C в течение еще 21 ч. Смесь затем охлаждали до комнатной температуры, гасили водой (1000 мл) и экстрагировали EtOAc (3×900 мл). Соединенные органические экстракты затем промывали водой (3×700 мл) и солевым раствором (500 мл), высушивали над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и концентрировали. Полученный в результате остаток очищали при помощи колонки на силикагеле, элюируя EtOAc/гексаном (0-70% с получением B1 в виде белого твердого вещества (128,74 г, 96,7% выход).

ЖХ-МС (ESI) m/z 510,1 (M+Na)<sup>+</sup>;

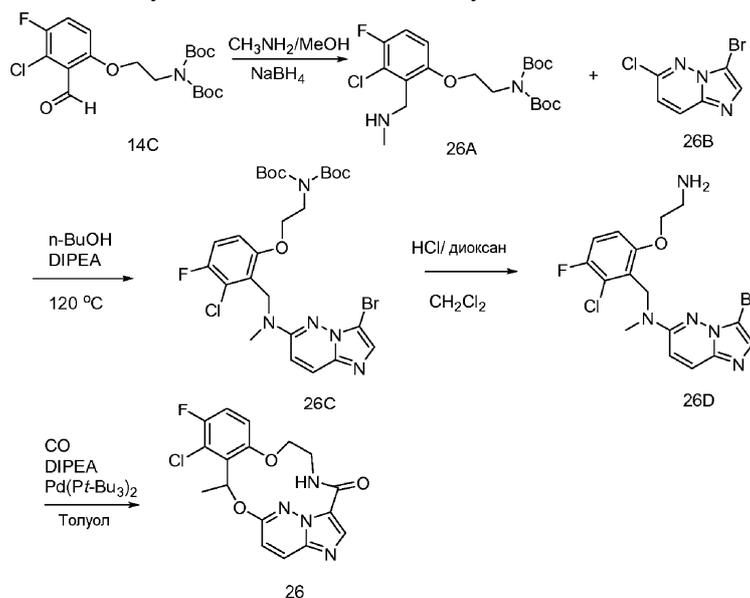
<sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, Хлороформ-d) δ 8,30 (с, 1H), 8,26 (с, 1H), 6,92 (д, J=8,6, 3,3 Гц, 1H), 6,83-6,76 (м, 1H), 6,31 (с, 1H), 4,93 (с, 2H), 4,51-4,44 (м, 1H), 4,36 (кв., J=7, 2 Гц, 2H), 4,03 (т, J=4,9 Гц, 2H), 3,69-3,63 (м, 1H), 3,51 (с, 2H), 3,30 (с, 2H), 1,44 (с, 9H), 1,41-1,35 (т, J=7,2 Гц, 3H).

Стадия 6. 11-Фторо-14-метил-6,7,13,14-тетрагидро-1,15-этенпиразоло[4,3-f][1,4,8,10]бензокса триазациклотридецин-4(5H)-он (20).

К раствору B1 (128,74 г, 264,07 ммоль, 1 экв.) в метаноле (750 мл) и THF (250 мл) добавляли LiOH·H<sub>2</sub>O (55,40 г, 1320 ммоль, 5,0 экв.) в H<sub>2</sub>O (250 мл). Прозрачный раствор нагревали при 70°C в течение 2 ч. Реакцию нейтрализовали при 0°C водн. HCl (2 M, 250 мл) до pH <5 и затем экстрагировали CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1×1000 мл, 3×500 мл). Соединенные органические слои промывали солевым раствором (300 мл) и высушивали над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. После фильтрования, выпаривания и сушки в высоком вакууме получали белое твердое вещество (126,47 г, 275,25 ммоль, 104% выход). К раствору кислоты (121,30 г, 264 ммоль) в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (996 мл) добавляли HCl в диоксане (4 M, 204 мл) при 0°C. Продолжали перемешивание от 0°C до комнатной температуры в течение 27 ч до завершения de-Вос при помощи ЖХ-МС. Белое твердое вещество фильтровали, промывали DCM (400 мл), высушивали в высоком вакууме с получением белого твердого вещества аминной HCl соли (123,55 г), которую использовали непосредственно без дополнительной очистки. К раствору DIPEA (169,4 г, 228 ммоль, 1310 ммоль) в DMF (3,7 л) и CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1,0 л) добавляли ки-



Пример 26 может быть получен в соответствии со следующей схемой:



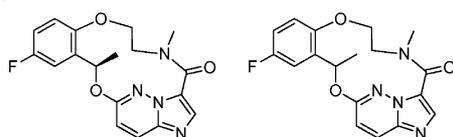
Стадия 1. Изопропоксид титана(IV) (1,3 экв.) добавляли в коммерчески доступный раствор метиламина в метаноле (2 М, 3 экв.) с последующим добавлением исходного альдегида 14С (1,0 экв.). Реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 5 ч, после чего борогидрид натрия (1,0 экв.) добавляли и полученную в результате смесь дополнительно перемешивали в течение дополнительного 2-часового периода. Реакцию затем гасили добавлением воды, полученный в результате неорганический осадок фильтровали и промывали EtOAc. Органический слой разделяли и водную фракцию дополнительно экстрагировали EtOAc (×2). Соединенные экстракты высушивали ( $\text{K}_2\text{CO}_3$ ) и концентрировали *in vacuo* с получением 26А.

Стадия 2. Смесь соединения 26А (1 экв.) и DIPEA (2 экв.) в *n*-BuOH (0,2 М) нагревали при 120°C всю ночь, охлаждали до температуры окружающей среды и затем концентрировали. Остаток очищали при помощи колонки на силикагеле, элюируя EtOAc/гексаном, с получением продукта 26В.

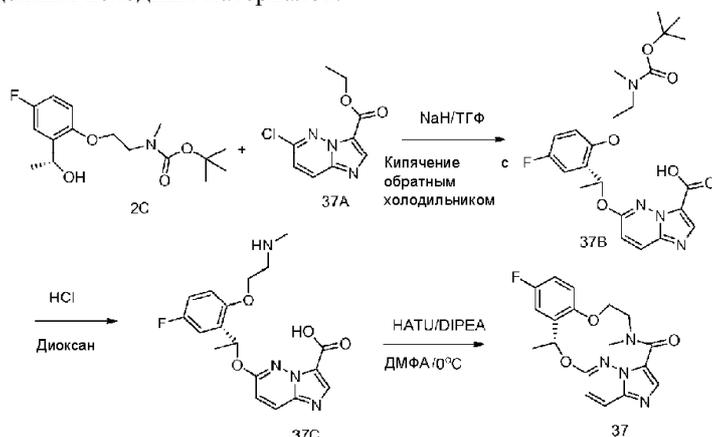
Стадия 3. К раствору соединения 26В (1 экв.) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (0,2 М) добавляли 4 М HCl/диоксан (10 экв.) и смесь перемешивали, пока весь 26В не превращался в 26С. После концентрирования остаток очищали при помощи обращенно-фазной препаративной ВЭЖХ с получением 26С.

Стадия 4. К раствору 26С (1 экв.) и DIPEA (2 экв.) в толуоле (0,01 М) добавляли  $\text{Pd(P-t-Bu}_3)_2$  (1 экв.). Реакционную нагревали при 100°C при 4 бар CO всю ночь и затем концентрировали. Остаток очищали на колонке на силикагеле, элюируя EtOAc/гексаном, с получением 26.

Ссылочные примеры 37 и 37-1.



Примеры 37 и 37-1 могут быть получены в соответствии со следующей схемой из рацемически или энантиомерно обогащенных исходных материалов:



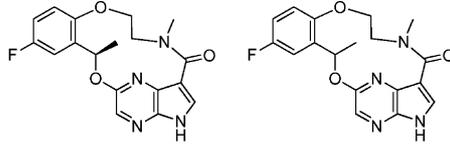
Стадия 1. Соединение 37В получали из соединения 2С и соединения 37А с использованием спосо-

ба, описанного в примере 2, синтез А, стадия 2.

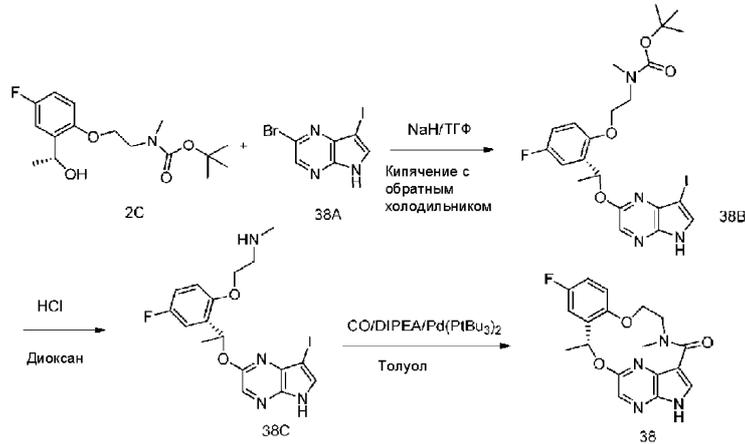
Стадия 2. Соединение 37С получали из соединения 37В с использованием способа, описанного в примере 2, синтез А, стадия 3.

Стадия 3. Пример 37 получали из соединения 37С с использованием способа, описанного в примере 2, синтез А, стадия 4.

Ссылочные примеры 38 и 38-1.



Примеры 38 и 38-1 могут быть получены в соответствии со следующей схемой из рацемически или энантиомерно обогащенных исходных материалов:

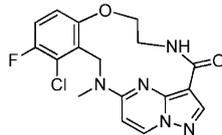


Стадия 1. Соединение 38В получали из соединений 2С и 38А, как описано в примере 2, синтез А, стадия 2.

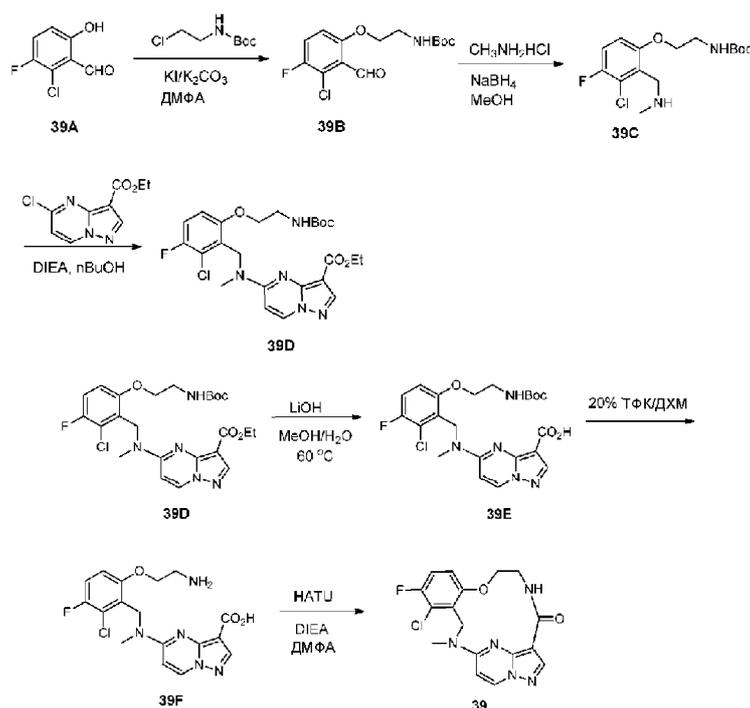
Стадия 2. Соединение 38С получали из соединения 38В с использованием способа, описанного в примере 2, синтез А, стадия 3.

Стадия 3. Пример 38 получали из соединения 38С с использованием способа, описанного в примере 2, синтез В, стадия 4.

Ссылочный пример 39.



Пример 39 получали в соответствии со следующей схемой:



Стадия 1. трет-Бутиловый сложный эфир 2-(3-хлоро-4-фторо-2-формилфенокси)этил]карбамовой кислоты (39В).

К раствору 2-хлоро-3-фторо-6-гидроксибензальдегида (39А, 53 мг, 0,3 ммоль) и трет-бутилового сложного эфира (2-хлороэтил)карбамовой кислоты (135 мг, 0,75 ммоль) в DMF (5 мл) добавляли KI (2,0 мг, 0,012 ммоль) и K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (105 мг, 0,75 ммоль). Смесь подвергали воздействию микроволн при 100°C в течение 2 ч. Смесь затем разбавляли водой (20 мл) и экстрагировали EtOAc (3×20 мл). Соединенные органические слои промывали водой (3×20 мл) и соевым раствором (20 мл), высушивали над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и концентрировали с получением 39В. Неочищенный остаток использовали непосредственно на следующей стадии.

ЖХ-МС: (ESI) m/z 340,3 (M+Na)<sup>+</sup>.

Стадия 2. трет-Бутиловый сложный эфир {[2-(3-хлоро-4-фторо-2-метиламиноэтилфенокси)этил]-карбаомовой кислоты (39С).

К раствору 39В (95,4 мг, 0,3 ммоль) в MeOH (3 мл) добавляли метиламин гидрохлорид (50,7 мг, 0,75 ммоль). Смесь перемешивали при 60°C в течение 30 мин. Раствор затем охлаждали до температуры окружающей среды и добавляли NaBH<sub>4</sub> (11,1 мг, 0,3 ммоль). Смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 2 ч. Раствор затем разбавляли водой (50 мл) и экстрагировали DCM (3×20 мл). Соединенные органические слои высушивали над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и концентрировали с получением 39С. Неочищенный остаток использовали непосредственно на следующей стадии.

ЖХ-МС: (ESI) m/z 333,3 (M+H)<sup>+</sup>.

Стадия 3. Этиловый сложный эфир 5-{{6-(2-трет-бутоксикарбониламиноэтокси)-2-хлоро-3-фторобензил]метиламино} пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоновой кислоты (39D).

К раствору 20К (67,5 мг, 0,3 ммоль) и 39С (99,9 мг, 0,3 ммоль) в n-BuOH (2,0 мл) добавляли DIEA (1,0 мл). Смесь нагревали под воздействием микроволн при 150°C в течение 2 ч. Смесь затем разбавляли водой и экстрагировали DCM (3×20 мл). Органический слой высушивали над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, концентрировали и очищали при помощи хроматографии с колонкой на силикагеле с получением 17 в виде желтой жидкости.

ЖХ-МС: (ESI) m/z 522,5 (M+H)<sup>+</sup>.

Стадия 4. 5-{{6-(2-трет-Бутоксикарбониламиноэтокси)-2-хлоро-3-фторобензил]метиламино}-пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоновая кислота (39E).

К раствору 39D (40 мг, 0,0776 ммоль) в MeOH (1 мл) добавляли LiOH (16 мг, 0,38 ммоль) и H<sub>2</sub>O (1 мл). Смесь перемешивали при 60°C в течение 4 ч. Раствор охлаждали до температуры окружающей среды, частично концентрировали и подкисляли водным HCl (1н.) до pH 2-3. Водную смесь экстрагировали DCM (3×10 мл). Органический слой высушивали над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и концентрировали с получением 39E. Неочищенный остаток использовали непосредственно на следующей стадии.

ЖХ-МС: (ESI) m/z 494,3 (M+H)<sup>+</sup>.

Стадия 5. 5-{{6-(2-Аминоэтокси)-2-хлоро-3-фторобензил]метиламино} пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоновая кислота (39F).

К раствору 39E (40 мг, 0,0776 ммоль) в DCM (2 мл) добавляли TFA (0,4 мл). Раствор перемешивали в течение 1 ч. Растворитель удаляли при помощи роторного испарителя. Остаток повторно растворяли DCM и повторно концентрировали (3×) с получением 39F в виде пенообразной жидкости.

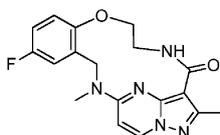
ЖХ-МС: (ESI)  $m/z$  393,5 (M+H)<sup>+</sup>.

Стадия 6. К раствору 39F (36 мг, 0,078 ммоль) в 10 мл DCM добавляли DIEA (0,20 мл, 1,15 ммоль). Раствор охлаждали на бане с сухим льдом/ацетоном и добавляли HATU (40,0 мг, 0,11 ммоль). Раствор оставляли медленно нагреваться до температуры окружающей среды. Смесь разбавляли водой (50 мл) и экстрагировали EtOAc (3×50 мл). Соединенный органический слой промывали водой (3×50 мл) и соевым раствором (50 мл), высушивали над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и концентрировали. Полученный в результате остаток очищали при помощи колонки на силикагеле (0-5% MeOH/DCM) с получением примера 39 в виде белого твердого вещества (6,2 мг, 23,4%).

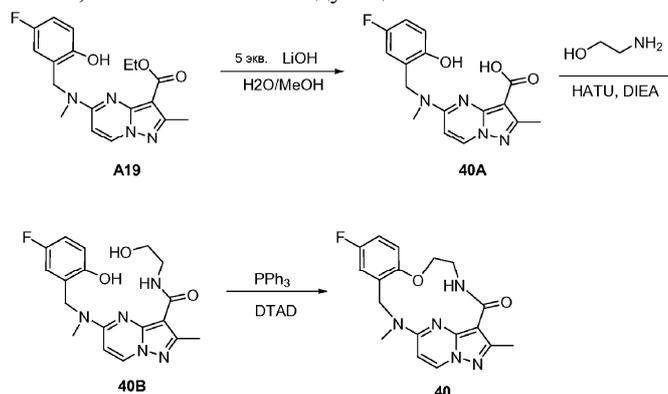
ЖХ-МС (ESI)  $m/z$  376,5 (M+H)<sup>+</sup>.

<sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, хлороформ-d) δ 9,51 (с, 1H), 8,40-8,33 (м, 2H), 7,03 (ддд, J=8,9, 8,0, 0,7 Гц, 1H), 6,78 (дд, J=9,3, 4,2 Гц, 1H), 6,40 (д, J=7,9 Гц, 1H), 5,97 (дд, J=15,0, 2,1 Гц, 1H), 4,49-4,43(м, 1H), 4,31 (ддд, J=10,9, 6,4, 4,5 Гц, 1H), 4,12-4,03 (м, 1H), 3,91 (д, J=14,9 Гц, 1H), 3,72-3,63 (м, 1H), 3,56 (с, 3H).

Ссылочный пример 40.



Пример 40 получали так, как показано на следующей схеме:



Стадия 1. 5-[(5-Фторо-2-гидроксibenзил)метиламино]-2-метилпиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоновая кислота (40B).

К раствору 19A (75 мг, 0,14 ммоль) в MeOH (2 мл) добавляли LiOH (60 мг, 1,4 ммоль) и H<sub>2</sub>O (2 мл). Смесь перемешивали при 60°C в течение 4 ч. Раствор охлаждали до температуры окружающей среды, частично концентрировали и подкисляли водным HCl (1н.) до pH 2-3. Полученную в результате суспензию экстрагировали EtOAc (3×20 мл). Органический слой высушивали над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и концентрировали с получением 40A.

ЖХ-МС (ESI)  $m/z$  331,6 (M+H)<sup>+</sup>.

Стадия 2. 5-[(5-Фторо-2-гидроксibenзил)метиламино]-2-метилпиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбоновая кислота (2-гидроксиэтил)амид (40B).

К раствору 40A (140 мг, 0,42 ммоль) и 2-аминоэтанола (244 мг, 4 ммоль) в DCM (5 мл) при 0°C добавляли DIEA (0,20 мл, 1,15 ммоль) и HATU (380,0 мг, 1,0 ммоль). Раствор медленно оставляли нагреваться до температуры окружающей среды. Смесь затем разбавляли водой (25 мл) и экстрагировали EtOAc (3×25 мл). Соединенные органические слои промывали HCl (1н., 3×20 мл) и соевым раствором (50 мл), высушивали над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и концентрировали. Полученный в результате остаток очищали при помощи колонки на силикагеле, элюируя 0-5% MeOH/DCM (10 CV) с получением 40B в виде белого твердого вещества (74 мг, 47%).

ЖХ-МС (ESI)  $m/z$  374,3 (M+H)<sup>+</sup>.

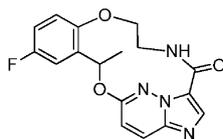
Стадия 3. К раствору 40B (74 мг, 0,2 ммоль) в THF (3 мл) и DCM (3 мл) при 0°C добавляли PPh<sub>3</sub> (131 мг, 0,5 ммоль) и ди-трет-бутил азодикарбоксилат (DTAD) (115 мг, 0,5 ммоль). Смесь оставляли нагреваться до температуры окружающей среды и перемешивали в течение еще 4 ч. Растворитель затем удаляли и остаток очищали при помощи колонки на силикагеле, элюируя 0-10%, MeOH/DCM (10 CV), с последующей препаративной ТСХ с получением примера 40 в виде белого твердого вещества (15 мг).

ЖХ-МС (ESI)  $m/z$  356,5 (M+H)<sup>+</sup>;

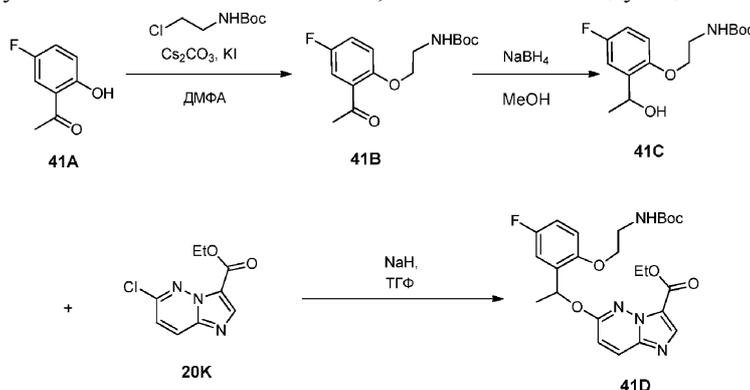
<sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, хлороформ-d) δ 8,12 (д, J=7,7 Гц, 1H), 6,93 (ддд, J=9,0, 3,1, 0,9 Гц, 1H), 6,78 (ддд, J=9,0, 7,3, 3,0 Гц, 1H), 6,71 (дд, J=9,1, 4,5 Гц, 1H), 6,28 (д, J=7,7 Гц, 1H), 5,77 (дд, J=15,2, 1,7 Гц, 1H), 4,38-

4,33 (м, 1H), 3,98 (с, 1H), 3,91 (д, J=1,4 Гц, 1H), 3,78 (дд, J=15,1, 0,9 Гц, 1H), 3,45 (с, 3H), 3,43-3,36 (м, 1H), 2,45 (с, 3H).

Ссылочный пример 41.



Пример 41 получали с использованием способа, показанного на следующей схеме:



Стадия 1. трет-Бутиловый сложный эфир [2-(2-ацетил-4-фторофенокси)этил]карбамовой кислоты (41B).

В смесь 1-(5-фторо-2-гидроксифенил)этанона (41A, 773 мг, 5,0 ммоль) и трет-бутилового сложного эфира (2-хлорэтил)карбамовой кислоты (1,80 г, 10,0 ммоль) в DMF (20 мл) добавляли KI (2,0 мг, 0,012 ммоль) и Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (3,26 г, 10,0 ммоль). Смесь перемешивали при 80°C всю ночь. Смесь затем охлаждали до температуры окружающей среды, разбавляли EtOAc и промывали 1н. NaOH (5×10 мл), пока ЖХМС не показала отсутствие пика 1-(5-фторо-2-гидроксифенил)этанона. Органический слой высушивали над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и концентрировали. Остаток затем очищали при помощи колонки на силикагеле, элюируя EtOAc/гексаном (0-30%, 10 CV) с получением целевого продукта 41B в виде желтого твердого вещества (1,1 г, 73,8%).

ЖХ-МС (ESI) m/z 320,3 (M+Na)<sup>+</sup>.

Стадия 2. трет-Бутил (2-(4-фторо-2-(1-гидроксиэтил)фенокси)этил)карбамат (41C).

К раствору 41B (1,0 г, 3,36 ммоль) в MeOH (10 мл) добавляли NaBH<sub>4</sub> (640 мг, 16,8 ммоль) частями. Смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 2 ч. Раствор затем разбавляли водой (50 мл) и экстрагировали DCM (3×20 мл). Комбинированные DCM слои высушивали над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и концентрировали. Остаток очищали при помощи колонки на силикагеле, элюируя EtOAc/гексаном (0-50%, 10 CV), с получением целевого продукта в виде бледно-желтого твердого вещества (0,75 г, 75%).

ЖХ-МС (ESI) m/z 322,3 (M+Na)<sup>+</sup>;

<sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, хлороформ-d) δ 7,11 (дд, J=9,2, 3,4 Гц, 1H), 6,89 (ддд, J=9,0, 7,9, 3,2 Гц, 1H), 6,77 (дд, J=8,9, 4,4 Гц, 1H), 5,09 (кв., J=6,6 Гц, 1H), 4,92 (д, J=4,4 Гц, 1H), 4,03 (т, J=5,2 Гц, 2H), 3,62-3,50 (м, 2H), 1,49 (д, J=6,4 Гц, 3H), 1,45 (с, 9H).

Стадия 3. Этиловый сложный эфир 6-{1-[2-(2-трет-бутоксикарбониламиноэтокси)-5-фторофенил]этокси}имидазо[1,2-b]пиридазин-3-карбоновой кислоты (41D).

К раствору 41C (600 мг, 2,0 ммоль) и трет-бутилового сложного эфира {2-[4-фторо-2-(1-гидроксиэтил)фенокси]этил}карбамовой кислоты (450 мг, 2,0 ммоль) в сухом THF (40,0 мл) при -78°C добавляли NaH (60%, 80 мг, 2,0 ммоль) порциями. Суспензию перемешивали при -78 °C в течение 4 ч и оставляли нагреваться при 0°C и перемешивали в течение еще 4 ч. Смесь затем помещали в морозильник при -20°C на всю ночь. Смесь затем гасили смесью льда и 1н. HCl и экстрагировали EtOAc (3×20 мл). Органический слой высушивали над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, концентрирован и очищали дважды с получением целевого продукта в виде желтого твердого вещества (240 мг, 25%).

ЖХ-МС (ESI) m/z 511,6 (M+Na)<sup>+</sup>;

<sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, хлороформ-d) δ 8,16 (с, 1H), 7,90 (д, J=9,7 Гц, 1H), 7,16 (дд, J=9,0, 3,2 Гц, 1H), 0,95 (д, J=9,5 Гц, 1H), 6,90-6,88 (м, 1H), 6,81-6,78 (м, 1H), 6,68 (кв., J=6,2 Гц, 1H), 5,84-5,68 (м, 1H), 4,38 (кв., J=7,2 Гц, 2H), 4,15-4,09 (м, 2H), 3,60-3,52 (м, 2H), 1,65 (д, J=6,4 Гц, 3H), 1,38 (д, J=12 Гц, 3H), 1,35 (с, 9H).

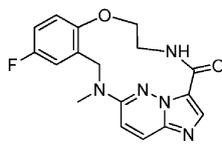
Стадия 4. Соединение 41D превращали в пример 41 при помощи способов, аналогичных описанным в данном документе.

МС: 343,2 (M+H)<sup>+</sup>;

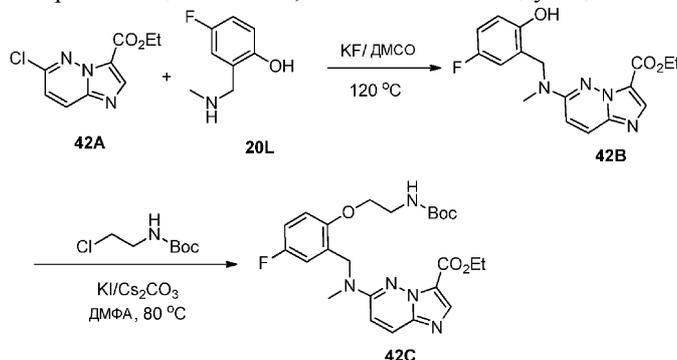
<sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, хлороформ-d) δ 9,82 (д, J=7,0 Гц, 1H), 8,27 (с, 1H), 8,09 (д, J=9,5 Гц, 1H), 7,18 (дд,

J=8,9, 3,2 Гц, 1H), 7,01-6,94 (м, 2H), 6,83 (дд, J=9,0, 4,3 Гц, 1H), 6,60-6,53 (м, 1H), 4,63-4,52 (м, 1H), 4,27-4,16 (м, 1H), 4,16-4,04 (м, 1H), 3,70-3,56 (м, 1H), 1,70 (д, J=6,4 Гц, 3H).

Ссылочный пример 42.



Пример 42 получали при помощи способов, показанных на следующей схеме:



Стадия 1. Этиловый сложный эфир 6-[(5-фторо-2-гидроксibenзил)метиламино]имидазо[1,2-b]пиридазин-3-карбоновой кислоты (42B).

В смесь 4-фторо-2-метиламинометилфенол (20L, 305,2 мг, 1,97 ммоль) и этиловый сложный эфир 6-хлороимидазо[1,2-b]пиридазин-3-карбоновой кислоты (42A, 230 мг, 1,02 ммоль) в ДМСО (5 мл) добавляли KF (180 мг, 3,01 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 120°C в течение 18 ч в атмосфере азота. Раствор затем охлаждали до температуры окружающей среды, разбавляли водой (20 мл) и экстрагировали EtOAc (3×50 мл). Соединенные органические слои дополнительно промывали водой (3×50 мл) и соевым раствором (50 мл), высушивали над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и концентрировали. Остаток затем очищали при помощи колонки на силикагеле, элюируя EtOAc/гексаном (0-50%, 10 CV), с получением целевого продукта в виде белого твердого вещества (240 мг, 69%).

ЖХ-МС (ESI) m/z 345,2 (M+H)<sup>+</sup>;

<sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, хлороформ-d) δ 8,61 (с, 1H), 8,17 (с, 1H), 7,91 (д, J=10,0 Гц, 1H), 7,00-6,86 (м, 4H), 4,78 (с, 2H), 4,47 (кв.д, J=7,2, 0,5 Гц, 2H), 3,17 (с, 3H), 1,41 (тд, J=7,1, 0,5 Гц, 3H).

Стадия 2. Этиловый сложный эфир 6-{[2-(2-трет-бутоксикарбониламиноэтокси)-5-фторобензил]метиламино}имидазо[1,2-b]пиридазин-3-карбоновой кислоты (42C).

К раствору этилового сложного эфира 6-[(5-фторо-2-гидроксibenзил)метиламино]имидазо[1,2-b]пиридазин-3-карбоновой кислоты (2B, 200 мг, 0,58 ммоль) и трет-бутилового сложного эфира (2-хлороэтил)карбамовой кислоты (209 мг, 1,16 ммоль) в DMF (5 мл) добавляли K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (200 мг, 1,45 ммоль) и KI (2,0 мг, 0,012 ммоль). Смесь нагревали при 90°C в течение 4 ч в атмосфере азота. Смесь затем разбавляли водой (20 мл) и экстрагировали EtOAc (3×10 мл). Соединенные органические слои затем промывали водой (3×5 мл) и соевым раствором (2×5 мл). Органический слой высушивали над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и концентрировали. Полученный в результате остаток очищали при помощи колонки на силикагеле, элюируя EtOAc/гексаном (0-100%, 10 CV), с получением 42C в виде белого твердого вещества (203 мг, 76%).

ЖХ-МС (ESI) m/z 510,1 (M+Na)<sup>+</sup>;

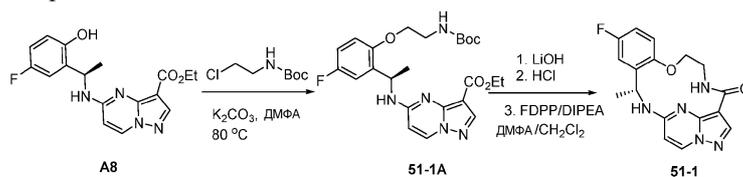
<sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, хлороформ-d) δ (ч./млн) 8,16 (с, 1H), 7,85 (д, J=9, 9 Гц, 1H), 7,00 (дд, J=8,9, 3,2 Гц, 1H), 6,95-6,87 (м, 2H), 6,80 (дд, J=8,9, 4,3 Гц, 1H), 4,95 (с, 1H), 4,74 (с, 2H), 4,41 (кв., J=7,2 Гц, 2H), 4,04 (т, J=5,2 Гц, 2H), 3,56-3,50 (м, 2H), 3,26 (с, 3H), 1,43 (с, 9H), 1,40 (т, J=7,2 Гц, 3H).

Стадия 3. Соединение 42C превращали в пример 42 при помощи способов, аналогичных описанным в данном документе.

МС: 342,5 (M+H)<sup>+</sup>;

<sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, хлороформ-d) δ 10,01 (д, J=6,9 Гц, 1H), 8,17 (с, 1H), 8,04 (д, J=10,0 Гц, 1H), 7,07-7,04 (м, 1H), 7,00 (д, J=10,0 Гц, 1H), 6,96-6,92 (м, 1H), 6,84 (дд, J=9,1, 4,5 Гц, 1H), 5,69 (дд, J=15,8, 1,6 Гц, 1H), 4,55 (дт, J=9,9, 3,7 Гц, 1H), 4,20-4,09 (м, 2H), 3,98 (дд, J=15,9, 1,0 Гц, 1H), 3,66-3,62 (м, 1H), 3,61 (с, 3H).

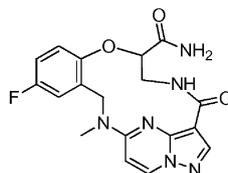
## Ссылочный пример 51-1.



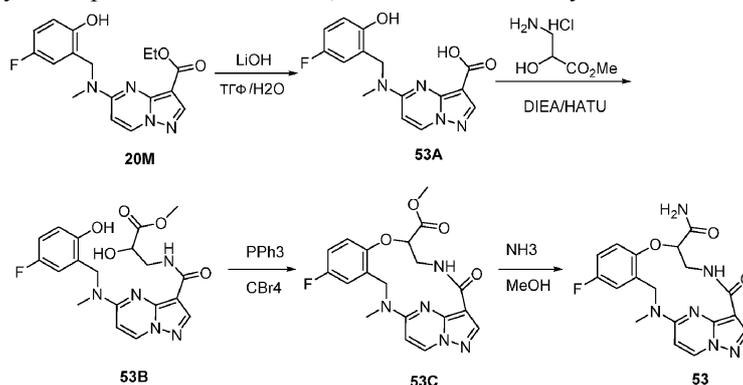
Стадия 1. К раствору A8 (399,4 мг, 1,16 ммоль) и трет-бутил (2-хлорэтил)карбамата (260,5 мг, 1,45 ммоль) в DMF (5,8 мл) добавляли  $K_2CO_3$  (801,6 мг, 5,80 ммоль) и нагревали при 80°C при перемешивании в течение 6 ч. Реакцию охлаждали до температуры окружающей среды и разбавляли DCM (3 мл), фильтровали через шприцевой фильтр и концентрировали при пониженном давлении. Флэш-хроматография (ISCO система, силикагель (12 г), 0-70% этилацетатом в гексане) приводила к получению 51-1A (407,4 мг, 0,836 ммоль, 72% выход).

Стадия 2. К раствору 51-1A (407,4 мг, 0,836 ммоль) в MeOH (6 мл) и THF (4 мл) добавляли LiOH водный раствор (2 М, 4,0 мл) при температуре окружающей среды. Реакционный раствор нагревали при 70°C в течение 2 ч. Реакционную колбу охлаждали до температуры окружающей среды, разбавляли водой и метанолом и затем гасили водным раствором HCl (2 М, 4 мл) до pH <5. Смесь экстрагировали DCM (3×5 мл), высушивали над  $Na_2SO_4$ , концентрировали при пониженном давлении и высушивали в высоком вакууме всю ночь. К раствору кислотного продукта в DCM (6 мл) добавляли 4 М HCl в 1,4-диоксане (2,97 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч и затем концентрировали при пониженном давлении и высушивали в высоком вакууме. К раствору de-Boc продукта и FDPP (352,9 мг, 0,918 ммоль) в DMF (21 мл) добавляли основание Хунига (539,5 мг, 0,327 ммоль) при комнатной температуре. Смесь перемешивали в течение 2,5 ч и затем гасили реакцию 2 М  $Na_2CO_3$  раствором (21 мл). Смесь перемешивали в течение 15 мин и затем экстрагировали DCM (4×10 мл). Соединенные экстракты высушивали  $Na_2SO_4$  и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали флэш-хроматографией (ISCO система, силикагель (12 г), 0-11,25% метанол в дихлорметане) с получением 51-1 (164,0 мг, 0,480 ммоль, 57,55 % выход в три стадии).

## Ссылочный пример 53.



Пример 53 получали при помощи способов, показанных на следующей схеме:



Стадия 1. 5-[1-(5-Фторо-2-гидроксибензил)этиламино]пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбонической кислоты (53A).

К раствору этилового сложного эфира 5-[(5-фторо-2-гидроксибензил)метиламино]пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбонической кислоты (20M, 300 мг, 0,87 ммоль) в MeOH (5 мл), добавляли LiOH (420 мг, 10 ммоль), с последующим добавлением 5 мл  $H_2O$ . Смесь оставляли перемешиваться при 60°C в течение 4 ч. Раствор охлаждали до температуры окружающей среды, частично концентрировали и подкисляли 1н. HCl до pH 2-3. Полученную в результате суспензию экстрагировали EtOAc (3×20 мл). Соединенные органические слои высушивали над  $Na_2SO_4$  и концентрировали. Остаток использовали непосредственно на следующей стадии.

ЖХМС (ESI+) m/z 317,4 (M+H)+.

Стадия 2. Метилловый сложный эфир 3-({5-[(5-фторо-2-гидроксибензил)метиламино]пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-карбонил-амино)-2-гидрокс-пропионовой кислоты (53B).

К раствору 53A (80 мг, 0,25 ммоль) и метилового сложного эфира гидрохлорида 3-амино-2-

гидроксипропионовой кислоты (70 мг, 0,5 ммоль) в DCM (5 мл) при 0°C добавляли DIPEA (1,0 мл, 5,7 ммоль) с последующим добавлением НАТУ (140,0 мг, 0,5 ммоль). Раствор оставляли медленно нагреваться до температуры окружающей среды. Смесь разбавляли водой (25 мл) и экстрагировали EtOAc (3×25 мл). Соединенные органические слои промывали 1н. HCl (3×20 мл) и соевым раствором (50 мл) и высушивали над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Растворитель удаляли и полученное в результате белое твердое вещество использовали непосредственно на следующей стадии.

ЖХ-МС (ESI<sup>+</sup>) m/z 418,4 (M+H)<sup>+</sup>.

Стадия 3. Метил 11-фторо-14-метил-4-оксо-4,5,6,7,13,14-гексагидро-1,15-этенопиразоло[4,3-f][1,4,8,10]бензокса триаза циклотридецин-7-карбоксилат (53С).

К раствору 53В (83 мг, 0,2 ммоль) в DCM (5 мл) добавляли PPh<sub>3</sub> (263 мг, 1,0 ммоль) с последующим добавлением СВГ<sub>4</sub> (332 мг, 1,0 ммоль). Смесь перемешивали при температуре окружающей среды всю ночь. Растворитель удаляли и остаток повторно растворяли в DMF (5 мл) с последующим добавлением K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (116,8 мг, 0,84 ммоль). Смесь затем перемешивали при 80°C до завершения образования целевого продукта. Смесь затем разбавляли EtOAc и промывали водой. Органический слой высушивали над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и концентрировали. Остаток очищали при помощи колонки на силикагеле (0-10%, MeOH/DCM) с получением 53С в виде белого твердого вещества (40 мг).

ЖХ-МС (ESI<sup>+</sup>) m/z 400,2 (M+H)<sup>+</sup>.

Стадия 4. К 53С (20 мг, 0,05 ммоль) добавляли NH<sub>3</sub> в MeOH растворе (7н., 2 мл). Смесь перемешивали при 60°C всю ночь. Растворитель удаляли и остаток очищали при помощи колонки на силикагеле (0-10%, MeOH/DCM) с получением примера 53 как грязно-белого твердого вещества (8 мг).

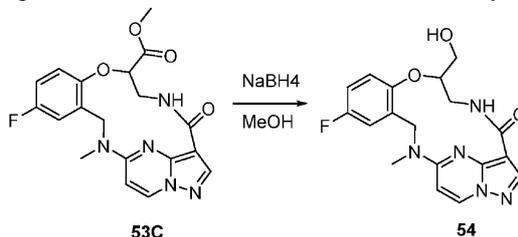
ЖХ-МС (ESI<sup>+</sup>) m/z 385,5 (M+H)<sup>+</sup>;

<sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, хлороформ-d) δ 8,41 (с, 1H), 8,34 (д, J=7,9 Гц, 1H), 8,17 (с, 1H), 6,99-6,92 (м, 2H), 6,77 (д, J=6,2, 3,5 Гц, 1H), 6,38 (д, J=7,9 Гц, 1H), 5,63-5,44 (м, 2H), 5,09 (д, J=11,0, 8,4 Гц, 1H), 4,38 (д, J=14,7, 11,0 Гц, 1H), 4,28-4,17 (м, 1H), 4,17-4,07 (м, 2H), 3,22 (с, 3H).

Ссылочный пример 54.



Пример 54 был получен при помощи способа, показанного на следующей схеме:

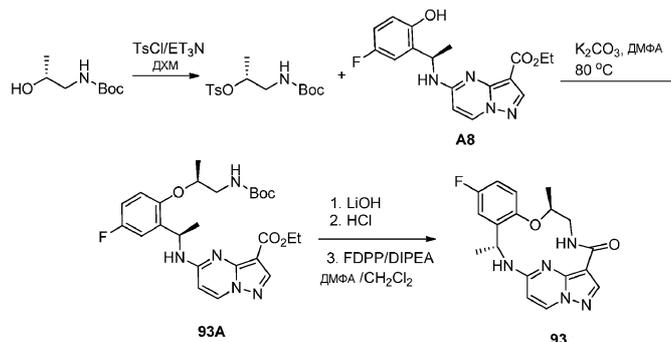


К раствору соединения 53С (20 мг, 0,05 ммоль) в MeOH (2 мл) добавляли NaBH<sub>4</sub> (19 мг, 0,5 ммоль) по порциям. Смесь перемешивали в течение 4 ч. Растворитель удаляли и остаток очищали при помощи колонки на силикагеле (0-10%, MeOH/DCM) с получением целевого продукта в виде белого твердого вещества (8 мг).

ЖХ-МС (ESI<sup>+</sup>) m/z 372,5 (M+H)<sup>+</sup>;

<sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, Хлороформ-d) δ 8,39 (с, 1H), 8,32 (д, J=7,9 Гц, 1H), 7,01-6,85 (м, 3H), 6,35 (д, J=8,0 Гц, 1H), 5,55-5,43 (м, 1H), 4,92-4,82 (м, 1H), 4,09-3,98 (м, 2H), 3,80-3,70 (м, 3H), 3,23 (с, 3H).

Пример 93.



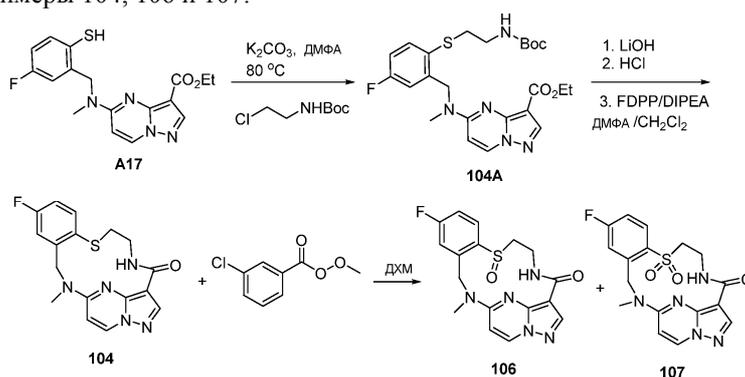
Стадия 1. К раствору трет-бутил (R)-2-гидроксипропилкарбамата (1,00 г, 5,71 ммоль) и тозилхлорида (1,14 г, 6,00 ммоль) в DCM (29 мл) добавляли триэтиламин (1,44 г, 14,28 ммоль) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 48 ч. Реакционный раствор концентрировали при пониженном

давлении и остаток очищали при помощи флэш-хроматография (ISCO система, силикагель (40 г), 0-20% этилацетат в гексане) с получением (R)-1-((трет-бутоксикарбонил)амино)пропан-2-ил 4-метилбензолсульфоната (1,12 г, 3,40 ммоль, 59,54% выход).

Стадия 2. К раствору A8 (100,00 мг, 0,290 ммоль) и (R)-1-((трет-бутоксикарбонил)амино)пропан-2-ил-4-метилбензолсульфоната (143,50 мг, 0,436 ммоль) в DMF (1,45 мл) добавляли  $K_2CO_3$  (200,7 мг, 1,45 ммоль) и нагревали при 80°C при перемешивании в течении 16 ч. Реакцию охлаждали до температуры окружающей среды и разбавляли DCM (3 мл), фильтровали через шприцевой фильтр и концентрировали при пониженном давлении. Флэш-хроматография (ISCO система, силикагель (12 г), 0-60% этилацетат в гексане) привела к получению 93A (32,90 мг, 0,0656 ммоль, 22,59% выход).

Стадия 3. К раствору 93A (32,90 мг, 0,0656 ммоль) в MeOH (3 мл) и THF (2 мл) добавляли LiOH водный раствор (2 М, 2 мл) при температуре окружающей среды. Реакционный раствор нагревали при 70°C в течение 2 ч. Реакционную колбу охлаждали до температуры окружающей среды, разбавляли водой и метанолом и затем гасили HCl водным раствором (2 М, 2 мл) до pH <5. Смесь экстрагировали DCM (3×5 мл), высушивали над  $Na_2SO_4$ , концентрировали при пониженном давлении и высушивали в высоком вакууме всю ночь. К раствору кислого продукта DCM (4 мл) добавляли 4 М HCl в 1,4-диоксане (2,0 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч и затем концентрировали при пониженном давлении и высушивали в высоком вакууме. К раствору de-Вос продукта и FDPP (27,62 мг, 0,0719 ммоль) в DMF (1,6 мл) добавляли основание Хунига (42,23 мг, 0,327 ммоль) при комнатной температуре. Смесь перемешивали в течение 2,5 ч и затем гасили реакцию 2 М  $Na_2CO_3$  раствором (2 мл). Смесь перемешивали в течение 15 мин и затем экстрагировали DCM (4×10 мл). Соединенные экстракты высушивали  $Na_2SO_4$  и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали при помощи флэш-хроматографии (ISCO система, силикагель (12 г), 0-10% метанол в дихлорметане) с получением 93 (10,1 мг, 0,0284 ммоль, 43,49% выход в три стадии).

Ссылочные примеры 104, 106 и 107.



Стадия 1. К раствору A17 HCl (38 мг, 0,096 ммоль) и трет-бутил (2-хлорэтил)карбамата (12,9 мг, 0,072 ммоль) в DMF (0,5 мл) добавляли  $K_2CO_3$  (33,1 мг, 0,24 ммоль) и нагревали при 80°C при перемешивании в течение 1,5 ч. Реакцию охлаждали до температуры окружающей среды и разбавляли DCM (3 мл), фильтровали через шприцевой фильтр и концентрировали при пониженном давлении. Флэш-хроматография (ISCO система, силикагель (12 г), 0-60% этилацетат в гексане) приводила к получению 104A (20,8 мг, 0,0413 ммоль, 86,3% выход).

Стадия 2. Раствор 104 был получен в соответствии с общим способом С из 104A в виде белого твердого вещества.

Стадия 3. К раствору 104 (4,6 мг, 0,0129 ммоль) в DCM (0,3 мл) добавляли метил 3-хлорбензопероксоат (2,2 мг, 0,0129 ммоль) и реакцию перемешивали в течение 20 мин с последующим добавлением насыщенного раствора  $NaHCO_3$  (3 мл) и экстракцией DCM (4×4 мл). Соединенные экстракты высушивали  $Na_2SO_4$  и концентрировали при пониженном давлении. Флэш-хроматография (ISCO система, силикагель (12 г), 0-12,5% метанол в дихлорметане) приводила к получению 106 (0,5 мг, 10,4% выход) и 107 (1,7 мг, 33,9% выход).

Следующие примеры были получены при помощи способов, аналогичных описанным в данном документе, в особенности общих способов А, В и С, как описано в данном документе.

Пр.	Аналитические данные
11-1	МС: 377,7 (M+H) <sup>+</sup> ; <sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, хлороформ-d) δ 8,49 (д, J=7,9 Гц, 1H), 8,29 (с, 1H), 7,13 (дд, J=9,2, 7,8 Гц, 1H), 7,02 (д, J=7,3 Гц, 1H), 6,92 (дд, J=9,4, 3,9 Гц, 1H), 6,82 (д, J=7,7 Гц, 1H), 4,63-4,55 (м, 1H), 4,45 (дд, J=10,8,5,4 Гц, 1H), 4,31-4,23 (м, 1H), 4,00 (дд, J=16,2, 8,7 Гц, 1H), 1,70 (д, J=6,9 Гц, 3H).

20	МС: 342,2 [M+H] <sup>+</sup> ; <sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) 9,43 (дд, J=6,9, 2,7 Гц, 1H), 8,76 (д, J=7,9 Гц, 1H), 8,10 (с, 1H), 7,19-7,25 (м, 1H), 7,03-7,07 (м, 2H), 6,72 (д, J=7,9 Гц, 1H), 5,64 (дд, J=14,9, 1,5 Гц, 1H), 4,48 (дт, J=10,2, 4,3 Гц, 1H), 4,04-4,10 (м, 2H), 3,81-3,87 (м, 1H), 3,58 (с, 3H), 3,38-3,46 (м, 1H).
39	ЖХ-МС (ESI) m/z 376,5 (M+H) <sup>+</sup> ; <sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, хлороформ-d) δ 9,51 (с, 1H), 8,40-8,33 (м, 2H), 7,03 (ддд, J=8,9, 8,0, 0,7 Гц, 1H), 6,78 (дд, J=9,3, 4,2 Гц, 1H), 6,40 (д, J=7,9 Гц, 1H), 5,97 (дд, J=15,0, 2,1 Гц, 1H), 4,49-4,43(м, 1H), 4,31 (ддд, J=10,9, 6,4, 4,5 Гц, 1H), 4,12-4,03 (м, 1H), 3,91 (д, J=14,9 Гц, 1H), 3,72-3,63 (м, 1H), 3,56 (с, 3H).
40	МС: 356,5 (M+H) <sup>+</sup> ; <sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, хлороформ-d) δ 8,12 (д, J=7,71 Гц, 1H), 6,93 (ддд, J=9,0, 3,1, 0,9 Гц, 1H), 6,78 (ддд, J=9,0, 7,3, 3,0 Гц, 1H), 6,71 (дд, J=9,1, 4,5 Гц, 1H), 6,28 (д, J=7,7 Гц, 1H), 5,77 (дд, J=15,2, 1,7 Гц, 1H), 4,38-4,33 (м, 1H), 3,98 (с, 1H), 3,91 (д, J=1,4 Гц, 1H), 3,78 (дд, J=15,1, 0,9 Гц, 1H), 3,45 (с, 3H), 3,43-3,36 (м, 1H), 2,45 (с, 3H).
41	МС: 343,2 (M+H) <sup>+</sup> ; <sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, Хлороформ-d) δ 9,82 (д, J=7,0 Гц, 1H), 8,27 (с, 1H), 8,09 (д, J=9,5 Гц, 1H), 7,18 (дд, J=8,9, 3,2 Гц, 1H), 7,01-6,94 (м, 2H), 6,83 (дд, J=9,0, 4,3 Гц, 1H), 6,60-6,53 (м, 1H), 4,63-4,52 (м, 1H), 4,27-4,16 (м, 1H), 4,16-4,04 (м, 1H), 3,70-3,56 (м, 1H), 1,70 (д, J=6,4 Гц, 3H).
42	МС: 342,5 (M+H) <sup>+</sup> ; <sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, хлороформ-d) δ 10,01 (д, J=6,9 Гц, 1H), 8,17 (с, 1H), 8,04 (д, J=10,0 Гц, 1H), 7,07-7,04 (м, 1H), 7,00 (д, J=10,0 Гц, 1H), 6,96-6,92 (м, 1H), 6,84 (дд, J=9,1, 4,5 Гц, 1H), 5,69 (дд, J=15,8, 1,6 Гц, 1H), 4,55 (дт, J=9,9, 3,7 Гц, 1H), 4,20-4,09 (м, 2H), 3,98 (дд, J=15,9, 1,0 Гц, 1H), 3,66-3,62 (м, 1H), 3,61 (с, 3H).

43	МС: 356,6 (M+H) <sup>+</sup> ; <sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, Хлороформ-d) δ 8,27 (д, J=7,9 Гц, 1H), 8,17 (с, 1H), 6,96 (ддд, J=9,0, 3,1, 0,9 Гц, 1H), 6,88-6,81 (м, 1H), 6,77 (дд, J=9,0, 4,7 Гц, 1H), 6,41 (д, J=7,9 Гц, 1H), 5,71-5,63 (м, 1H), 4,43 (дт, J=10,0, 4,4 Гц, 1H), 4,09 (ддд, J=10,3, 8,4, 4,0 Гц, 1H), 3,96-3,92 (м, 1H), 3,87 (дд, J=15,0, 0,8 Гц, 1H), 3,77 (дд, J=15,0, 7,2 Гц, 1H), 3,55-3,51 (м, 2H), 1,33 (т, J=7,2 Гц, 3H),
44	МС: 370,1 (M+H) <sup>+</sup> ; <sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) 9,28 (дд, J=5,8, 4,0 Гц, 1H), 8,71 (д, J=7,9 Гц, 1H), 8,08 (с, 1H), 7,16 (дд, J=9,5, 3,0 Гц, 1H), 6,98-7,09 (м, 2H), 6,82 (д, J=8,0 Гц, 1H), 5,48 (д, J=15,0 Гц, 1H), 4,42-4,51 (м, 1H), 4,16-4,23 (м, 1H), 4,04-4,14 (м, 2H), 3,74-3,82 (м, 2H), 3,39-3,46 (м, 1H), 1,58-1,81 (м, 2H), 0,97 (т, J=7,3 Гц, 3H).
45	МС: 370,1 (M+H) <sup>+</sup> ; <sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) 8,87-8,98 (м, 1H), 8,69-8,79 (м, 1H), 8,04-8,12 (м, 1H), 7,10-7,18 (м, 1H), 6,92-7,04 (м, 3H), 5,09-5,18 (м, 1H), 4,61-4,69 (м, 1H), 4,50-4,56 (м, 1H), 4,41-4,49 (м, 1H), 4,16 (д, J=15,30 Гц, 1H), 3,57-3,68 (м, 2H), 1,23-1,27 (м, 6H).
46	МС: 368,1 (M+H) <sup>+</sup> ; <sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) 9,35 (дд, J=7,0, 2,7 Гц, 1H), 8,81 (д, J=7,8 Гц, 1H), 8,07-8,15 (м, 1H), 7,19 (дд, J=9,2, 2,3 Гц, 1H), 7,01-7,08 (м, 2H), 6,98 (д, J=7,8 Гц, 1H), 5,53 (дд, J=15,1, 1,5 Гц, 1H), 4,47 (дт, J=10,22, 4,25 Гц, 1H), 4,34 (т, J=5,08 Гц, 1H), 4,14 (д, J=15,30 Гц, 1H), 4,02-4,10 (м, 2H), 3,79-3,92 (м, 1H), 1,12-1,16 (м, 1H), 1,03-1,08 (м, 2H), 0,81-0,86 (м, 1H).

47	МС: 372,1 (M+H) <sup>+</sup> ; <sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) 9,25 (т, J=4,9 Гц, 1H), 8,71 (д, J=7,9 Гц, 1H), 8,07 (с, 1H), 7,22 (дд, J=9,5, 3,0 Гц, 1H), 7,05 -7,11 (м, 1H), 6,96-7,04 (м, 1H), 6,83 (д, J=8,0 Гц, 1H), 5,51 (д, J=14,6 Гц, 1H), 4,96 (т, J=5,4 Гц, 1H), 4,42-4,51 (м, 1H), 4,24 (ддд, J=10,9, 6,8, 4,2 Гц, 1H), 4,09-4,20 (м, 2H), 3,91 (дт, J=15,2, 5,5 Гц, 1H), 3,67-3,82 (м, 3H), 3,39-3,51 (м, 1H).
48	МС: 356,1 (M+H) <sup>+</sup> ; <sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) 9,70 (д, J=8,6 Гц, 1H), 8,76 (д, J=8,0 Гц, 1H), 8,09 (с, 1H), 7,25 (дд, J=9,5, 3,0 Гц, 1H), 7,01-7,11 (м, 1H), 6,94-7,00 (м, 1H), 6,71 (д, J=8,0 Гц, 1H), 5,64-5,73 (м, 1H), 4,34 (д, J=9,6 Гц, 1H), 4,28 (т, J=8,9 Гц, 1H), 4,10 (д, J=15,0 Гц, 1H), 3,94 (дд, J=9,6, 3,6 Гц, 1H), 3,58 (с, 3H), 1,36 (д, J=6,8 Гц, 3H).
49	МС: 324,1 (M+H) <sup>+</sup> ; <sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) 9,52 (д, J=4,5 Гц, 1H), 8,74 (д, J=7,9 Гц, 1H), 8,09 (с, 1H), 7,44 (д, J=7,6 Гц, 1H), 7,18-7,25 (м, 1H), 7,02 (д, J=7,9 Гц, 1H), 6,93 (т, J=7,4 Гц, 1H), 6,71 (д, J=7,9 Гц, 1H), 5,69 (д, J=14,8 Гц, 1H), 4,47 (дт, J=10,1, 4,1 Гц, 1H), 4,01-4,13 (м, 2H), 3,83-3,90 (м, 1H), 3,54-3,61 (м, 3H), 3,38-3,46 (м, 1H).
50	МС: 328,1 (M+H) <sup>+</sup> ; <sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) 9,80 (д, J=7,82 Гц, 1H), 8,89 (т, J=6,00 Гц, 1H), 8,58 (д, J=7,62 Гц, 1H), 8,03-8,08 (м, 1H), 7,12-7,18 (м, 1H), 6,99-7,05 (м, 2H), 6,39 (д, J=7,62 Гц, 1H), 5,13-5,21 (м, 1H), 4,46-4,53 (м, 1H), 3,87-4,00 (м, 4H).
51	МС: 342,3 (M+H) <sup>+</sup> ; <sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, хлороформ-d с CD <sub>3</sub> OD) δ 8,14 (с, 1H), 7,81 - 7,72 (м, 1H), 7,10 (дд, J=9,0, 3,0 Гц, 1H), 6,88 (ддд, J=9,0, 7,6, 3,0 Гц, 1H), 6,80 (дд, J=9.2, 4,4 Гц, 1H), 6,20 (д, J=7,4 Гц, 1H), 5,75 (тд, J=7,2, 1,9 Гц, 1H), 4,52-4,46 (м, 1H), 4,09 (тдд, J=9,6, 6,4, 3,9 Гц, 2H), 3,60-3,52 (м, 1H), 1,52 (д, J=7,0 Гц, 3H).

51-1	МС: 342,2 (М+Н) <sup>+</sup> , <sup>1</sup> Н ЯМР (500 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) δ ч/млн 9,71 (уш.д, J=5,21 Гц, 1Н), 8,77 (уш.д, J=6,86 Гц, 1Н), 8,57 (д, J=7,41 Гц, 1Н), 8,04 (с, 1Н), 7,11-7,22 (м, 1Н), 6,96-7,04 (м, 2Н), 6,36 (д, J=7,68 Гц, 1Н), 5,63 (уш.дд, J=6,86, 5,49 Гц, 1Н), 4,50 (дт, J=10,15, 3,98 Гц, 1Н), 4,01 (тд, J=9,61, 3,84 Гц, 1Н), 3,87 (дт, J=10,09, 3,74 Гц, 1Н), 3,35-3,46 (м, 1Н), 1,45 (д, J=7,14 Гц, 3Н).
52	МС: 376,5 (М+Н) <sup>+</sup> ; <sup>1</sup> Н ЯМР (500 МГц, Хлороформ-d) δ 9,92 (с, 1Н), 8,29-8,18 (м, 2Н), 7,01 (дд, J=9,2, 8,2 Гц, 1Н), 6,77 (дд, J=9,2, 4,2 Гц, 1Н), 6,37- 6,26 (м, 1Н), 6,19 (д, J=7,6 Гц, 1Н), 6,12 (с, 1Н), 4,53-4,45 (м, 1Н), 4,14 (д, J=6,3 Гц, 1Н), 4,04-3,98 (м, 1Н), 3,57 (с, 1Н), 1,74 (д, J=7,3 Гц, 3Н).
55	МС: 385,6 (М+Н) <sup>+</sup> ; <sup>1</sup> Н ЯМР (300 МГц, Метанол-d <sub>4</sub> ) 8,35 (д, J=7,6 Гц, 1Н), 8,24 (с, 1Н), 7,24-6,96 (м, 1Н), 6,82 (м, 2Н), 6,41 (дд, J=7,7, 4,8 Гц, 1Н), 5,59 (м, 1Н), 5,31-5,05 (м, 1Н), 4,39-4,21 (м, 1Н), 3,17-3,02 (м, 1Н), 1,58 (д, J=6,9 Гц, 3Н).
56	МС: 372,3 (М+Н) <sup>+</sup> ; <sup>1</sup> Н ЯМР (300 МГц, Метанол-d <sub>4</sub> ) δ 8,35 (д, J=7,6 Гц, 1Н), 8,18 (с, 1Н), 7,05 (д, J=9,4 Гц, 1Н), 6,82 (дд, J=6,5, 1,8 Гц, 1Н), 6,39 (д, J=7,6 Гц, 1Н), 5,60 (м, 1Н), 4,92 (м, 2Н), 4,08 (дд, J=13,1, 9,9 Гц, 1Н), 3,91-3,81 (м, 2Н), 3,73 (дд, J=12,6, 5,1 Гц, 1Н), 1,58 (д, J=6,9 Гц, 3Н).
57	МС: 371,4 (М+Н) <sup>+</sup> , <sup>1</sup> Н ЯМР (300 МГц, Метанол-d <sub>4</sub> ) δ 8,46 (д, J=7,6 Гц, 1Н), 8,41 (с, 1Н), 7,00 (дд, J=9,1, 2,9 Гц, 1Н), 6,88-6,78 (м, 2Н), 6,58 (д, J=7,7 Гц, 1Н), 5,20 (с, 1Н), 4,65 (с, 2Н), 3,49 (кв., J=7,3 Гц, 2Н),
58	МС: 358,5 (М+Н) <sup>+</sup> , <sup>1</sup> Н ЯМР (300 МГц, Хлороформ-d) δ 8,37 (с, 1Н), 8,21 (д, J=7,6 Гц, 1Н), 6,90 (д, J=7,5 Гц, 3Н), 6,10 (д, J=7,6 Гц, 1Н), 5,88 (с, 1Н), 5,11-4,85 (м, 3Н), 4,20 (дд, J=15,1, 5,7 Гц, 1Н), 4,05 (дд, J=14,0, 9,9 Гц, 1Н), 3,83-3,68 (м, 3Н), 3,44 (д, J=7,3 Гц, 1Н).

59	МС: 386,1 (М+Н) <sup>+</sup> ; <sup>1</sup> Н ЯМР (500 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) 9,97 (с, 1Н), 8,57 (д, J=7,6 Гц, 1Н), 8,40 (д, J=5,9 Гц, 1Н), 8,10 (с, 1Н), 6,85 (дд, J=8,9, 4,8 Гц, 1Н), 6,60 (д, J=7,6 Гц, 1Н), 7,23 (дд, J=9,3, 3,2 Гц, 1Н), 7,00 (тд, J=8,6, 3,2 Гц, 1Н), 5,90 (д, J=6,4 Гц, 1Н), 4,27-4,34 (м, 2Н), 3,90 (т, J=9,33 Гц, 2Н), 3,66 (с, 3Н).
60	МС: 371,1 (М+Н) <sup>+</sup> ; <sup>1</sup> Н ЯМР (500 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) 9,98 (уш.с, 1Н), 8,54 (д, J=7,6 Гц, 1Н), 8,33 (д, J=6,24 Гц, 1Н), 8,07 (с, 1Н), 7,44 (уш.с, 1Н), 7,28 (уш.с, 1Н), 7,18 (дд, J=9,6, 3,2 Гц, 1Н), 6,94 (тд, J=8,5, 3,2 Гц, 1Н), 6,83 (дд, J=8,9, 4,9 Гц, 1Н), 6,66 (д, J=7,5 Гц, 1Н), 5,86 (д, J=6,4 Гц, 1Н), 4,22-4,36 (м, 2Н), 3,84-3,97 (м, 2Н).
61	МС: 343,2 (М+Н) <sup>+</sup> , <sup>1</sup> Н ЯМР (500 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) δ ч/млн 9,22 (дд, J=6,87, 2,86 Гц, 1Н), 8,78 (д, J 7,45 Гц, 1Н), 8,10 (с, 1Н), 8,06 (д, J=3,44 Гц, 1Н), 7,80 (дд, J=8,59, 2,86 Гц, 1Н), 6,74 (д, J=8,02 Гц, 1Н), 5,44 (дд, J=14,89, 1,72 Гц, 1Н), 4,69 (ддд, J=10,88, 8,59, 4,58 Гц, 1Н), 4,32-4,39 (м, 1Н), 4,21 (д, J=15,47 Гц, 1Н), 3,80-3,88 (м, 1Н), 3,58 (с, 3Н), 3,41-3,49 (м, 1Н).
62	МС: 371,2 (М+Н) <sup>+</sup> , <sup>1</sup> Н ЯМР (500 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) δ ч/млн 8,72-8,80 (м, 2Н), 8,08 (с, 1Н), 8,01 (д, J=2,74 Гц, 1Н), 7,49 (дд, J=8,78, 2,74 Гц, 1Н), 7,00 (д, J=8,23 Гц, 1Н), 4,94-5,06 (м, 2Н), 4,57-4,68 (м, 1Н), 4,26-4,39 (м, 2Н), 3,66-3,77 (м, 1Н), 3,49-3,55 (м, 1Н), 1,56 (д, J=6,59 Гц, 3Н), 1,22 (д, J=6,60 Гц, 3Н).
66	МС: 368,2 (М+Н) <sup>+</sup> . <sup>1</sup> Н ЯМР (500 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) δ ч/млн 9,56 (дд, J=6,87, 2,86 Гц, 1Н), 9,02 (д, J=6,87 Гц, 1Н), 8,58 (д, J=8,02 Гц, 1Н), 8,03 (с, 1Н), 7,18 (дд, J=9,74, 2,86 Гц, 1Н), 6,97-7,08 (м, 2Н), 6,41 (д, J=7,45 Гц, 1Н), 4,68-4,80 (м, 1Н), 4,48 (дт, J=10,60, 4,15 Гц, 1Н), 4,05 (ддд, J=10,45, 8,45, 4,01 Гц, 1Н), 3,75-3,84 (м, 1Н), 3,36-3,43 (м, 1Н), 1,26-1,38 (м, 1Н), 0,63 (тт, J=8,74, 4,44 Гц, 1Н), 0,37-0,49 (м, 2Н), 0,28 (дкв., J=9,31, 4,53 Гц, 1Н).

67	МС: 370,2 (M+N) <sup>+</sup> , <sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) δ ч/млн 9,75 (уш.д, J=6,30 Гц, 1H), 8,78 (д, J=7,45 Гц, 1H), 8,57 (д, J=8,02 Гц, 1H) 8,04 (с, 1H), 7,06 (дт, J=9,16, 1,43 Гц, 1H), 6,98-7,02 (м, 2H), 6,39 (д, J=7,45 Гц, 1H), 5,13 (ддд, J=10,02, 7,73, 1,72 Гц, 1H), 4,51 (дт, J=9,88, 3,65 Гц, 1H) 3,94 (тт, J=9,88, 3,72 Гц, 1H), 3,82-3,90 (м, 1H), 3,39-3,43 (м, 1H), 1,96-2,09 (м, 1H), 1,12 (д, J=6,30 Гц, 3H), 0,68 (д, J=6,30 Гц, 3H),
75	МС: 356,2 (M+N) <sup>+</sup> , <sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) δ ч/млн 8,73 (д, J=8,02 Гц, 1H), 8,25 (т, J=4,30 Гц, 1H), 8,10 (с, 1H), 7,14-7,21 (м, 1H), 7,00-7,04 (м, 2H), 6,68 (д, J=8,02 Гц, 1H), 5,75 (уш.д, J=14,32 Гц, 1H), 4,33-4,43 (м, 1H), 4,22 (уш.д, J=6,87 Гц, 1H), 4,05 (уш.д, J=14,89 Гц, 1H), 3,59-3,68 (м, 1H), 3,59-3,68 (м, 1H), 3,37-3,45 (м, 1H), 1,98-2,17 (м, 2H),
76-1	МС: 356,2 (M+N) <sup>+</sup> , <sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) δ ч/млн 8,68 (д, J=7,45 Гц, 1H), 8,53 (д, J=7,45 Гц, 1H), 8,40 (с, 1H), 8,03 (с, 1H), 7,11-7,18 (м, 1H), 6,96-7,00 (м, 2H), 6,32 (д, J=7,45 Гц, 1H), 5,65-5,74 (м, 1H), 4,29-4,36 (м, 1H), 4,20-4,26 (м, 1H), 3,54-3,62 (м, 1H), 3,39-3,47 (м, 1H), 1,98-2,17 (м, 2H), 1,41 (д, J=7,45 Гц, 3H),
84	МС: 358,2 (M+N) <sup>+</sup> , <sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) δ ч/млн 8,78 (д, J=6,79 Гц, 1H), 8,58 (д, J=7,62 Гц, 1H), 8,05 (с, 1H), 7,36 (д, J=2,61 Гц, 1H), 7,21 (дд, J=8,85, 2,68 Гц, 1H), 7,03 (д, J=8,85 Гц, 1H), 6,36 (д, J=7,68 Гц, 1H), 5,62 (кв., J=6,90 Гц, 1H), 4,52 (дт, J=10,15, 3,98 Гц, 1H), 3,98-4,11 (м, 1H), 3,80-3,92 (м, 1H), 3,35-3,47 (м, 1H), 1,45 (д, J=7,07 Гц, 3H),

85	МС: 356,2 (M+N) <sup>+</sup> , <sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) δ ч/млн 9,73 (уш.д, J=5,49 Гц, 1H), 8,74 (д, J=7,14 Гц, 1H), 8,57 (д, J=7,68 Гц, 1H), 8,04 (с, 1H), 7,06-7,14 (м, 1H), 6,97-7,03 (м, 2H), 6,37 (д, J=7,68 Гц, 1H), 5,33-5,45 (м, 1H), 4,51 (дт, J=10,15, 3,43 Гц, 1H), 3,98 (тд, J=9,88, 3,84 Гц, 1H), 3,82-3,93 (м, 1H), 3,39 (тд, J=9,61, 2,74 Гц, 1H), 1,85-1,99 (м, 1H), 1,62-1,76 (м, 1H), 0,87 (т, J=7,14 Гц, 3H),
86	МС: 382,2 (M+N) <sup>+</sup> , <sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) δ ч/млн 9,74 (дд, J=7,16, 2,00 Гц, 1H), 8,64 (д, J=6,87 Гц, 1H), 8,57 (д, J=7,45 Гц, 1H) 8,05 (с, 1H), 6,95-7,06 (м, 3H), 6,38 (д, J=8,02 Гц, 1H), 5,47 (дд, J=10,60, 7,16, 1,15 Гц, 1H), 4,54 (дт, J=10,17, 3,79 Гц, 1H), 4,01 (тд, J=9,59, 3,72 Гц, 1H), 3,80-3,90 (м, 1H), 3,39-3,48 (м, 1H), 2,66-2,77 (м, 1H), 2,12-2,23 (м, 1H), 1,83 (уш.д, J=2,29 Гц, 3H), 1,55-1,73 (м, 2H),
87	МС: 346,2 (M+N) <sup>+</sup> , <sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) δ ч/млн 9,40 (с, 1H), 8,77 (д, J=8,23 Гц, 1H), 8,10 (с, 1H), 7,19-7,26 (м, 1H), 7,01-7,08 (м, 2H), 6,72 (д, J=8,23 Гц, 1H), 5,64 (дд, J=15,09, 1,37 Гц, 1H), 4,08 (д, J=14,82 Гц, 1H), 3,58 (с, 3H),
88	МС: 404,2 (M+N) <sup>+</sup> , <sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) δ ч/млн 9,70 (дд, J=6,87, 2,86 Гц, 1H), 9,26 (д, J=7,45 Гц, 1H), 8,66 (д, J=7,45 Гц, 1H), 8,09 (с, 1H), 7,35-7,45 (м, 4H), 7,28-7,34 (м, 1H), 7,15 (дд, J=9,16, 3,44 Гц, 1H), 7,09-7,13 (м, 1H), 7,04-7,09 (м, 1H), 6,92 (д, J=6,87 Гц, 1H), 6,52 (д, J=7,45 Гц, 1H), 4,56 (дт, J=10,31, 4,01 Гц, 1H), 4,08-4,14 (м, 1H), 3,87 (ддт, J=13,75, 7,59, 3,94, 3,94 Гц, 1H), 3,44-3,49 (м, 1H),

89	МС: 382,2 (М+Н) <sup>+</sup> . <sup>1</sup> Н ЯМР (500 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) δ ч/млн 9,76 (дд, J=7,45, 2,29 Гц, 1Н), 8,77 (д, J=7,45 Гц, 1Н), 8,58 (д, J=8,02 Гц, 1Н), 8,05 (с, 1Н), 7,09 (дт, J=9,74, 1,72 Гц, 1Н), 7,00 (дд, J=6,30, 1,72 Гц, 2Н), 6,38 (д, J=7,45 Гц, 1Н), 5,56-5,63 (м, 1Н), 4,51 (дт, J=10,17, 3,79 Гц, 1Н), 3,99 (тд, J=9,59, 3,72 Гц, 1Н), 3,86 (ддт, J=13,75, 7,45, 3,72, 3,72 Гц, 1Н), 3,38-3,43 (м, 1Н), 1,94 (ддд, J=13,89, 7,88, 6,30 Гц, 1Н) 1,44 (дт, J=14,03, 7,30 Гц, 1Н), 0,63-0,73 (м, 1Н), 0,37-0,45 (м, 1Н), 0,27-0,34 (м, 1Н), 0,18 (дкв., J=9,24, 4,75
	Гц, 1Н), -0,12-0,04 (м, 1Н),
90	МС: 372,2 (М+Н) <sup>+</sup> , <sup>1</sup> Н ЯМР (500 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) δ ч/млн 8,68 (д, J=8,02 Гц, 1Н), 8,52 (д, J=7,45 Гц, 1Н), 8,36 (т, J=4,01 Гц, 1Н), 8,04 (с, 1Н), 7,16 (дд, J=9,45, 3,15 Гц, 1Н), 7,06 (дд, J=9,17, 4,58 Гц, 1Н), 6,95-7,02 (м, 1Н), 6,30 (д, J=8,02 Гц, 1Н), 5,66-5,75 (м, 1Н), 5,45 (д, J=4,58 Гц, 1Н), 4,12-4,25 (м, 2Н), 4,05 (д, J=9,16 Гц, 1Н), 3,60-3,67 (м, 1Н), 3,28-3,31 (м, 1Н), 1,42 (д, J=6,87 Гц, 3Н),
91	МС: 372,2 (М+Н) <sup>+</sup> , <sup>1</sup> Н ЯМР (500 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) δ ч/млн 8,70 (д, J=6,87 Гц, 1Н), 8,53 (д, J=7,45 Гц, 1Н), 8,47 (дд, J=8,31, 2,00 Гц, 1Н), 8,03 (с, 1Н), 7,07-7,13 (м, 1Н), 6,97-7,03 (м, 2Н), 6,34 (д, J=7,45 Гц, 1Н), 5,60 (кв., J=7,02, 7,02, 7,02, 7,02, 1,72 Гц, 1Н), 5,36 (д, J=4,01 Гц, 1Н), 4,42 (уш.д, J=10,88 Гц, 1Н), 4,01-4,14 (м, 2Н), 3,88-3,97 (м, 1Н), 3,10-3,17 (м, 1Н), 1,41 (д, J=7,45 Гц, 3Н),

92	МС: 356,2 (M+N) <sup>+</sup> , <sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) δ ч/млн 9,41 (дд, J=6,01, 3,72 Гц, 1H), 8,71 (д, J=7,45 Гц, 1H), 8,58 (д, J=7,45 Гц, 1H), 8,06 (с, 1H), 7,14 (дд, J=9,74, 3,44 Гц, 1H), 7,07 (дд, J=9,17, 4,58 Гц, 1H), 6,96 (ддд, J=9,17, 8,02, 3,44 Гц, 1H), 6,35 (д, J=7,45 Гц, 1H), 5,63-5,74 (м, 1H), 4,77-4,89 (м, 1H), 3,73-3,85 (м, 1H), 3,52-3,58 (м, 1H), 1,43 (д, J=6,87 Гц, 3H), 1,19 (уш.д, J=6,30 Гц, 3H),
93	МС: 356,2 (M+N) <sup>+</sup> , <sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) δ ч/млн 9,82 (дд, J=8,02, 2,29 Гц, 1H), 8,81 (д, J=6,87 Гц, 1H), 8,58 (д, J=7,45 Гц, 1H), 8,04 (с, 1H), 7,12 (дд, J=9,45, 3,15 Гц, 1H), 6,99-7,05 (м, 1H), 6,94-6,99 (м, 1H), 6,36 (д, J=7,45 Гц, 1H), 5,53 (кв., J=6,87, 6,87, 6,87, 6,87, 1,15 Гц, 1H), 4,45-4,52 (м, 1H), 3,90 (ддд, J=13,46, 8,31, 4,01 Гц, 1H), 3,10-3,17 (м, 1H), 1,46 (д, J=6,30 Гц, 3H), 1,44 (д, J=7,45 Гц, 3H),
94	МС: 356,2 (M+N) <sup>+</sup> , <sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) δ ч/млн 9,49 (дд, J=7,45, 2,86 Гц, 1H), 8,77 (д, J=7,45 Гц, 1H), 8,09 (с, 1H), 7,15 (дд, J=9,45, 3,15 Гц, 1H), 7,04-7,09 (м, 1H), 6,97-7,03 (м, 1H), 6,73 (д, J=8,02 Гц, 1H), 5,54 (дд, J=14,89, 1,72 Гц, 1H), 4,55 (ддд, J=7,59, 5,87, 4,30 Гц, 1H), 4,08 (д, J=14,89 Гц, 1H), 3,85-3,92 (м, 1H), 3,59 (с, 3H), 3,16 (ддд, J=13,60, 7,88, 3,15 Гц, 1H), 1,45 (д, J=6,30 Гц, 3H),
95	МС: 356,2 (M+N) <sup>+</sup> , <sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) δ ч/млн 9,71 (д, J=8,59 Гц, 1H) 8,76 (д, J=8,02 Гц, 1H) 8,09 (с, 1H) 7,25 (дд, J=9,45, 3,15 Гц, 1H) 7,02-7,09 (м, 1H) 6,95-7,00 (м, 1H) 6,71 (д, J=8,02 Гц, 1H) 5,68 (дд, J=14,89, 1,15 Гц, 1H) 4,34 (дд, J=9,45, 1,43 Гц, 1H) 4,24-4,30 (м, 1H) 4,10 (д, J=14,89 Гц, 1H) 3,94 (дд, J=9,74, 4,01 Гц, 1H) 3,58 (с, 3H) 1,36 (д, J=6,87 Гц, 3H),

96	МС: 372,2 (М+Н) <sup>+</sup> , <sup>1</sup> Н ЯМР (500 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) δ ч/млн 8,64 (д, J=8,23 Гц, 1Н) 8,27 (уш.с, 1Н) 8,08 (с, 1Н) 7,15 (уш.д, J=6,59 Гц, 1Н) 7,04-7,10 (м, 1Н) 6,96-7,02 (м, 1Н) 6,66 (д, J=8,23 Гц, 1Н) 5,11 (уш.с, 1Н) 4,28 (уш.с, 2Н) 4,15 (уш.с, 1Н) 4,06 (уш.с, 1Н) 3,90 (уш.с, 2Н) 3,57 (с, 3Н) 3,29 (уш.с, 1Н),
97	МС: 356,2 (М+Н) <sup>+</sup> , <sup>1</sup> Н ЯМР (500 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) δ ч/млн 9,49 (дд, J=7,45, 2,86 Гц, 1Н), 8,77 (д, J=8,02 Гц, 1Н), 8,09 (с, 1Н), 7,15 (дд, J=9,74, 2,86 Гц, 1Н), 7,04-7,10 (м, 1Н), 6,97-7,03 (м, 1Н), 6,73 (д, J=8,02 Гц, 1Н), 5,54 (дд, J=14,89, 1,72 Гц, 1Н), 4,50-4,60 (м, 1Н), 4,08 (д, J=15,47 Гц, 1Н), 3,84-3,92 (м, 1Н), 3,59 (с, 3Н), 3,16 (ддд, J=13,46, 7,73, 2,86 Гц, 1Н), 1,45 (д, J=6,30 Гц, 3Н),
98	МС: 358,2 (М+Н) <sup>+</sup> . <sup>1</sup> Н ЯМР (500 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) δ ч/млн 9,76 (дд, J=7,45, 2,29 Гц, 1Н), 8,82 (д, J=6,87 Гц, 1Н), 8,58 (д, J=7,45 Гц, 1Н), 8,05 (с, 1Н), 7,06-7,15 (м, 1Н), 6,99-7,04 (м, 2Н), 6,45 (д, J=8,02 Гц, 1Н), 5,57-5,66 (м, 1Н), 5,16-5,25 (м, 1Н), 4,52 (дт, J=10,17, 3,79 Гц, 1Н), 3,99 (тд, J=9,74,
	4,01 Гц, 1Н), 3,87 (ддт, J=13,82, 7,52, 3,94, 3,94 Гц, 1Н), 3,71 (ддд, J=11,17, 8,31, 6,30 Гц, 1Н), 3,59 (дт, J=11,17, 5,01 Гц, 1Н), 3,36-3,45 (м, 1Н),
99	МС: 372,2 (М+Н) <sup>+</sup> , <sup>1</sup> Н ЯМР (500 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) δ ч/млн 8,72 (д, J=8,02 Гц, 1Н), 8,53 (д, J=7,45 Гц, 1Н), 8,40 (т, J=4,01 Гц, 1Н), 8,04 (с, 1Н), 7,09 (дд, J=9,16, 2,86 Гц, 1Н), 6,95-7,05 (м, 2Н), 6,42 (д, J=7,45 Гц, 1Н), 5,63-5,72 (м, 1Н), 5,16 (т, J=5,44 Гц, 1Н), 4,29-4,37 (м, 1Н), 4,19-4,27 (м, 1Н), 3,65 (ддд, J=11,17, 8,31, 6,30 Гц, 1Н), 3,53-3,61 (м, 2Н), 3,41-3,48 (м, 1Н), 2,00-2,18 (м, 2Н),

100	МС: 356,2 (M+N) <sup>+</sup> , <sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) δ ч/млн 9,46 (дд, J=7,16, 2,58 Гц, 1H), 8,77 (д, J=8,02 Гц, 1H), 8,11 (с, 1H), 7,22 (дд, J=9,74, 2,29 Гц, 1H), 7,01-7,06 (м, 2H), 6,74 (д, J=8,02 Гц, 1H), 6,20-6,30 (м, 1H), 4,50 (дт, J=10,31, 4,01 Гц, 1H), 4,05 (ддд, J=10,31, 9,16, 4,01 Гц, 1H), 3,85 (ддт, J=13,68, 7,52, 3,72, 3,72 Гц, 1H), 3,38-3,49 (м, 4H), 1,53 (д, J=7,45 Гц, 3H),
101	МС: 400,2 (M+N) <sup>+</sup> , <sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) δ ч/млн 9,58 (дд, J=7,45, 2,86 Гц, 1H), 8,50 (с, 1H), 8,01 (с, 1H), 7,36 (дд, J=9,16, 2,86 Гц, 1H), 7,00-7,14 (м, 2H), 5,61 (дд, J=14,61, 1,43 Гц, 1H), 4,44-4,52 (м, 1H), 4,14 (д, J=12,60 Гц, 1H), 4,00-4,09 (м, 2H), 3,81-3,92 (м, 2H), 3,39-3,47 (м, 1H), 1,40 (с, 3H), 1,38 (с, 3H),
102	МС: 327,2 (M+N) <sup>+</sup> , <sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) δ ч/млн 9,58-9,70 (м, 1H), 9,09 (д, J=6,87 Гц, 1H), 8,42 (с, 1H), 7,22 (дд, J=9,74, 2,86 Гц, 1H), 7,11 (д, J=7,45 Гц, 1H), 6,84-6,97 (м, 2H), 4,37-4,50 (м, 1H), 3,90-4,06 (м, 3H), 3,42-3,64 (м, 3H), 2,54-2,62 (м, 1H),
103	МС: 341,2 (M+N) <sup>+</sup> , <sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) δ ч/млн 9,04 (д, J=6,87 Гц, 1H), 8,56 (т, J=4,01 Гц, 1H), 8,40 (с, 1H), 7,19 (дд, J=9,74, 2,86 Гц, 1H), 7,06 (д, J=6,87 Гц, 1H), 6,81-6,96 (м, 2H), 4,19-4,29 (м, 2H), 3,53-3,63 (м, 4H), 3,24-3,31 (м, 2H), 2,09-2,21 (м, 2H),
104	МС: 358,2 (M+N) <sup>+</sup> , <sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) δ ч/млн 8,79 (д, J=8,02 Гц, 1H), 8,70 (дд, J=7,45, 2,86 Гц, 1H), 8,07 (с, 1H), 7,59 (дд, J=8,59, 5,73 Гц, 1H), 7,10 (тд, J=8,59, 2,86 Гц, 1H), 7,04 (дд, J=10,02, 2,58 Гц, 1H), 6,78 (д, J=8,02 Гц, 1H), 5,79 (дд, J=15,75, 1,43 Гц, 1H), 4,17 (д, J=16,04 Гц, 1H), 3,73-3,82 (м, 1H), 3,59 (с, 3H), 3,52-3,58 (м, 1H), 3,26-3,30 (м, 1H), 3,18-3,23 (м, 1H),
105	МС: 411,2 (M+N) <sup>+</sup> ,

106	МС: 374,2 (M+N) <sup>+</sup> , <sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) δ ч/млн 8,84 (д, J=8,02 Гц, 1H), 8,09-8,19 (м, 2H), 8,07 (с, 1H), 7,35 (тд, J=8,45, 2,58 Гц, 1H), 7,22 (дд, J=10,31, 2,29 Гц, 1H), 6,86 (д, J=8,02 Гц, 1H), 5,75 (д, J=16,61 Гц, 1H), 4,57 (д, J=16,61 Гц, 1H), 4,11-4,15 (м, 1H), 3,79-3,87 (м, 2H), 3,59 (с, 3H), 3,48-3,57 (м, 1H),
107	МС: 390,2 (M+N) <sup>+</sup> , <sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) δ ч/млн 8,83 (д, J=8,02 Гц, 1H), 8,12 (дд, J=9,16, 5,73 Гц, 1H), 8,07 (с, 1H), 7,82 (уш.т, J=5,16 Гц, 1H), 7,39 (тд, J=8,59, 2,86 Гц, 1H), 7,14-7,21 (м, 1H), 6,84 (д, J=7,45 Гц, 1H), 5,37-5,54 (м, 1H), 4,61-4,76 (м, 1H), 3,83-3,93 (м, 1H), 3,57-3,63 (м, 5H), 3,46-3,54 (м, 1H),
108	МС: 371,2 (M+N) <sup>+</sup> , <sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) δ ч/млн 9,73 (уш.д, J=6,87 Гц, 1H) 9,09 (д, J=8,00 Гц, 1H) 8,41 (с, 1H) 7,20 (дд, J=9,74, 2,86 Гц, 1H) 7,11 (д, J=6,87 Гц, 1H) 6,94 (дд, J=9,16, 4,58 Гц, 1H) 6,78-6,88 (м, 1H) 4,44 (ддд, J=8,88, 5,44, 4,01 Гц, 1H) 3,99-4,06 (м, 1H) 3,88-3,97 (м, 1H) 3,67-3,73 (м, 1H) 3,47-3,53 (м, 1H) 3,12-3,21 (м, 1H) 2,54-2,62 (м, 1H) 1,43 (д, J=6,30 Гц, 3H),
109	МС: 371,2 (M+N) <sup>+</sup> , <sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) δ ч/млн 9,43 (д, J=2,29 Гц, 1H) 8,73 (д, J=6,87 Гц, 1H) 8,57 (д, J=7,50 Гц, 1H) 8,01 (с, 1H) 7,16 (дд, J=9,17, 2,86 Гц, 1H) 7,00-7,11 (м, 2H) 6,34 (д, J=7,45 Гц, 1H) 5,61-5,73 (м, 1H) 4,37 (дд, J=10,31, 4,01 Гц, 1H) 4,00 (ддт, J=8,45, 4,30, 2,22, 2,22 Гц, 1H) 3,88-3,96 (м, 1H) 1,48 (д, J=6,87 Гц, 3H) 1,42 (д, J=7,45 Гц, 3H),
110	МС: 371,2 (M+N) <sup>+</sup> , <sup>1</sup> H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) δ ч/млн 9,95 (д, J=8,59 Гц, 1H) 8,79 (д, J=6,87 Гц, 1H) 8,58 (д, J=7,45 Гц, 1H) 8,04 (с, 1H) 7,16 (дд, J=9,45, 3,15 Гц, 1H) 6,98-7,05 (м, 1H) 6,92-6,97 (м, 1H) 6,34 (д, J=8,02 Гц, 1H) 5,67 (кв., J=7,02, 7,02, 7,02, 7,02, 1,72 Гц, 1H) 4,35 (дд, J=9,45, 1,43 Гц, 1H) 4,20-4,30 (м, 1H) 3,93 (дд, J=9,74, 4,01 Гц, 1H) 1,47 (д, J=7,45 Гц, 3H) 1,37 (д, J=6,87 Гц, 3H)
111	МС: 371,2 (M+N) <sup>+</sup> .
112	МС: 345,2 (M+N) <sup>+</sup> .

#### Биологический пример 1. Биохимические анализы киназ.

МЕТ/ALK/AXL/TRK ферментное ингибирование может быть измерено при помощи Omnia (Invitrogen Inc.) непрерывного флуориметрического анализа. Реакции проводят в 50 мкл объемах в планшетах на 96 лунок при 30°C. Смеси содержат 1 нМ человеческий рекомбинантный киназный домен-мишень, 2 мкМ фосфоакцепторный пептид, тестовое соединение (11-доза, 3-кратные серийные разведения, 2% ДМСО конечное) или ДМСО только, 0,2 мМ DTT и 10 мМ MgCl<sub>2</sub> в 20 мМ Hepes, pH 7,5, и реакции инициируют путем добавления АТР (100 мкМ конечная концентрация) с последующим 20 мин преинкубированием. Начальные скорости образования фосфопептидов измеряют в течение 20 мин при помощи Tecan Safire микропланшетного ридера с установками длин волн 360 нм для возбуждения и 485 нм для эмиссии. Значения K<sub>i</sub> рассчитывают путем подгонки данных к уравнению конкурентного ингибирования при помощи нелинейного способа регрессии (GraphPad Prism, GraphPad Software, San Diego, CA).

#### Биологический пример 2. Клеточные анализы ELISA киназного фосфорилирования.

Эксперименты выполняют на основании процедур, описанных в публикации (Christensen, J. et al., "Cyto-reductive antitumor activity of PF-2341066, a novel inhibitor of anaplastic lymphoma kinase and c-Met, in experimental models of anaplastic large-cell lymphoma", Mol. Cancer Ther. 2007, 6(12):3314-3322.) Все эксперименты выполняют при стандартных условиях (37°C и 5% CO<sub>2</sub>). IC<sub>50</sub> значения вычисляются по кривой концентрация/ответ фитинга с использованием Microsoft Excel на основе метода четырех параметров. Клетки высевали в 96-луночные планшеты в среде, дополненной 10% фетальной бычьей сыворотки (FBS) и переносили в бессывороточную среду [с 0,04% бычьего сывороточного альбумина (BSA)], через 24 ч. В экспериментах, расследующих лигандзависимое фосфорилирование RTK, соответствующие фак-

торы роста добавляют до 20 мин. После инкубации клеток с ингибитором в течение 1 ч и/или подходящих лигандов в назначенное время клетки промывали один раз с помощью HBSS с добавлением 1 ммоль/л  $\text{Na}_2\text{VO}_4$  и белковые лизаты получали из клеток. Впоследствии фосфорилирование выбранных протеинкиназ оценивают с помощью сэндвич-метода ИФА с использованием специфических антител захвата для нанесения покрытий на 96-луночные планшеты и детектирующего антитела, специфического для фосфорилированных остатков тирозина. Пластины, покрытые антителами (а), инкубируют в присутствии белковых лизатов при 4°C всю ночь, (b) промывают семь раз в 1% Tween 20 в PBS, (c) инкубируют в конъюгированном с пероксидазой хрена анти общим антифосфотирозинным (PY-20) антителом (1:500) в течение 30 мин, (d) семь раз снова промывают, (e) инкубируют в 3,3,5,5-тетраметилбензидиновом пероксидазном субстрате (Bio-rad), чтобы инициировать колориметрическую реакцию, которую останавливают добавлением 0,09н.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , и (f) измеряют поглощение при 450 нм с использованием спектрофотометра. Клеточные линии, которые используются для отдельных киназ, включают A549 для MET, Каграс 299 для ALK, 293-AXL для AXL, PAET RKA для TRKA и PAE-TRKB для TRKB.

Биологический пример 3. Анализы связывания киназ.

Анализ связывания киназ проводили на DiscoverX с использованием общего KINOMEScan  $K_d$  Protocol (Fabian, M.A. et al., "A small molecule-kinase interaction map for clinical kinase inhibitors", Nat. Biotechnol. 2005, 23(3):329-36). Для большинства анализов киназа-меченые штаммы фагов T7 были приготовлены в *E. coli* хозяина, полученного из штамма BL21.

*E. coli* были выращены в лог-фазе и инфицированы T7 фагом и их инкубировали при встряхивании при 32°C до лизиса. Лизаты центрифугировали и фильтровали для удаления остатков клеток. Остальные киназы были генерированы в клетках HEK-293, а затем помечены ДНК для обнаружения кПЦР. Стрептавидин-покрытые магнитные гранулы обрабатывают биотинилированными небольшими молекулами лигандов в течение 30 мин при комнатной температуре, чтобы генерировать смолы средства для анализов киназ. Эти лигандированные шарики были заблокированы с избытком биотина, и их промывали блокирующим буфером (SeaBlock (Pierce), 1% бычьего сывороточного альбумина, 0,05% Tween 20, 1 mM DTT) для удаления несвязанного лиганда и для уменьшения неспецифического связывания. Реакции связывания были собраны путем комбинирования киназ, лигандированных шариков и тестовых соединений в 1× буфере для связывания (20% SeaBlock, 0,17× PBS, 0,05% Tween 20, 6 mM DTT). Все реакции проводили в полистирольных 96-луночных планшетах в конечном объеме 0,135 мл. Аналитические планшеты инкубировали при комнатной температуре при встряхивании в течение 1 часа и шарики аффинности промывали промывочным буфером (1× PBS, 0,05% Tween 20). Затем шарики вновь суспендировали в буфере для элюирования (1× PBS, 0,05% Tween 20, 0,5 мкМ небитинилированный аффинный лиганд) и инкубировали при комнатной температуре при встряхивании в течение 30 мин. Концентрацию киназы в элюатах измеряли с помощью кПЦР. Результаты для соединений, протестированных в данном анализе, представлены в табл. 2. В этом способе пример 20 также имел средство к связыванию с PLK4 киназой ( $K_d$  2,9 нМ).

Таблица 2

Пр.	TRKA $K_d$ (нМ)	TRKB $K_d$ (нМ)	TRKC $K_d$ (нМ)	JAK1 $K_d$ (нМ)	JAK2 $K_d$ (нМ)	JAK3 $K_d$ (нМ)	ALK $K_d$ (нМ)	ROS1 $K_d$ (нМ)
11-1	1900						>30000	1900
20	0.031	0.18	0.30	>1000	4.8	120	80	21
39	0.23				27		180	4.7
40							600	410
41	6.00			280	2.6	33	200	
42	0.088							
43	0.086				3.7			
45	0.082				7.8			
49	0.14				24			
50	0.20				0.57			
51	0.065			65	0.15	4.3		
51-1	0.051			37	0.048	1.8	6.8	0.73
52	6.5						270	62
75	0.015				6.5			
92					0.12		8.2	
93					0.082		5.7	
98					0.74		14	
103					1.9		28	

Биологический пример 4. Ва/Ф3 анализ клеточной пролиферации.

TRKA Ва/Ф3 анализы клеточной пролиферации проводили с помощью ACD (Advanced Cellular Dynamics). Линии Ва/Ф3 клеток поддерживали в RPMI-1640 культуральной среде, содержащей 10% фетальной бычьей сыворотки и антибиотиков. Клетки в логарифмической фазе роста собирали и 5000 клеток были распределены в каждую лунку 384-луночного планшета в 50 мкл ростовой среды. 50 нл разведенного соединения добавляли в соответствующие лунки в двух экземплярах и клетки культивировали в течение 48 ч при 37°C в увлажненном инкубаторе с 5% CO<sub>2</sub>. Жизнеспособность определяли добавлением 15 мкл CellTiter-Glo и измеряли люминесценцию, которую сообщали в виде относительных световых единиц (RLU), измеренных в единицах в секунду. Данные (RLU) для каждого соединения были нормализованы к средней максимальной ответной реакции, полученной в присутствии основы (ДМСО) в одиночку. Эти данные были использованы для получения процента ингибирования (100% максимального ответа) и среднее значение двух точек данных/концентрация было использовано для расчета значений IC<sub>50</sub> (концентрация, вызывающая половину максимального ингибирования выживания клеток) с помощью нелинейного регрессионного анализа с помощью программного обеспечения GraphPad Prism (GraphPad, Inc., San Diego, CA). С помощью этого способа пример 20 ингибировал пролиферацию клеток TRKA Ва/Ф3 при IC<sub>50</sub> 3,0 нМ. Данные для соединений, протестированных в данном анализе, представлены в табл. 3.

Биологический пример 5. Создание стабильной клеточной линии ЕМЛ4-ALK Ва/Ф3 и анализ клеточной пролиферации.

Ген дикого типа ЕМЛ4-ALK (вариант 1) был синтезирован в GenScript и клонирован в PCDH-CMV-MCS-EFL-Puro плазмиды (System Biosciences, Inc). Ва/Ф3-ЕМЛ4-ALK линия клеток дикого типа была создана путем инфицирования Ва/Ф3 клеток лентивирусом, содержащим ЕМЛ4-ALK дикого типа. Стабильные клеточные линии были выбраны путем пурамициновой обработки, с последующим IL-3 извлечением. 5000 клеток высевали в 384-луночный белый планшет в течение ночи перед обработкой соединением. Пролиферацию клеток измеряли с использованием анализа CellTiter-Glo люциферазы на основе обнаружения АТФ (Promega) в соответствии с протоколом изготовителя через 48 ч различной концентрации соединения инкубации. IC<sub>50</sub> определения были выполнены с использованием программного обеспечения GraphPad Prism (GraphPad, Inc., San Diego, CA). Данные для соединения, протестированного в данном анализе, представлены в табл. 3.

Биологический пример 6. Анализы клеточной пролиферации.

Колоректальные клеточные линии КМ 12 (содержащие эндогенный TRPM3-TrkA слитый ген) клетки культивировали в среде DMEM, с добавлением 10% эмбриональной бычьей сыворотки и 100 ед/мл пенициллин/стрептомицина. 5000 клеток засевали в 384-луночный белый планшет в течение 24 ч перед обработкой соединением. Пролиферацию клеток измеряли с помощью анализа CellTiter-Glo люциферазы на основе обнаружения АТФ (Promega) в соответствии с протоколом производителей через 72 ч инкубации. IC<sub>50</sub> определения были выполнены с использованием программного обеспечения GraphPad Prism (GraphPad, Inc., San Diego, CA).

В качестве альтернативы: колоректальную линию клеток КМ12 (содержащую эндогенный TRPM3-TRKA слитый ген) культивировали в среде DMEM с добавлением 10% эмбриональной бычьей сыворотки и 100 ед/мл пенициллина/стрептомицина. Эссенциальные клетки клеточной линии тромбоцитомии SET-2 (содержащие эндогенный JAK2 V618F слитый ген) или клеточную линию Т-клеточной лимфомы Karpas-299 (содержащую эндогенный слитый ген NPM-ALK) культивировали в RPMI среде, дополненной 10% фетальной бычьей сывороткой и 100 ед/мл пенициллина/стрептомицина. 5000 клеток засевали в 384-луночный белый планшет в течение 24 ч перед обработкой соединением. Пролиферацию клеток измеряли с помощью анализа CellTiter-Glo люциферазы на основе обнаружения АТФ (Promega) в соответствии с протоколом производителя через 72 ч инкубации. IC<sub>50</sub> определения были выполнены с использованием программного обеспечения GraphPad Prism (GraphPad, Inc., San Diego, CA).

Данные для соединений, протестированных в этих анализах, представлены в табл. 3.

Таблица 3

Пр.	КМ 12 клет. пролиф. IC <sub>50</sub> (нМ)	SET2 клет. пролиф. IC <sub>50</sub> (нМ)	Karpas 299 клет. пролиф. IC <sub>50</sub> (нМ)	ЕМЛ4-ALK Ва/Ф3 клет. пролиф. IC <sub>50</sub> (нМ)
11-1	>10000	>10000	>10000	
20	0,86	2000	1000	
39	3,8	8800	3800	
40	204	>10000	>10000	
41	118	1500	3900	

42	4,0	2000	3400	
43	2,6	1700	2800	
44	9,9	2030	4100	
45	0,35	8000	>10000	
46	1,5	7000	7100	
47	31	>10000	>10000	
48	62	6000	6000	
49	6,7	7000	3900	
50	74	6000	4100	
51	3,2	425	832	
51-1	1,3	234	289	248
52	52	3600	7800	
59	>1000			
60	>1000			
61	0,6	3747	3900	
62	0,9		4000	
66	17,5	1543	1900	
67	2,8	1231	1200	
75	0,6	4436	3900	
76-1	5,8	1003	3800	
84	0,8	3146	4200	
85	0,9	928	1080	
86		1998	1000	
87	0,3	2734	1591	
88	50,4	1900	3129	
89	0,2	859	1398	
90	1,8	5911	1653	
91	1,8	1536	961	
92	0,3	142	88,7	78,6
93	0,5	242	23,7	21,1
94	0,2	>10000	>10000	
95	0,4	2673	4107	
96	0,6	6000	5000	
97	0,3	6500	1419	
98	7,4	808	281	
99	6,3	6848	506	
100	0,6	5834	5364	
101	>1000	6000	>10000	
102	1,2	2450	2304	
103	15	>10000	1956	
104	0,3	2353	5747	
105	500	>10000	>5000	
106	176	>10000	>10000	
107	75,6	3000	>10000	
108	3,6	870	619	
109	0,86	398	225	
110	0,7	219	163	
111	76	1996	329	

Биологический пример 7. Клеточный механизм исследований действия-TRKA и анализы фосфорилирования нижних сигнальных мишеней.

Колоректальные клеточные линии KM 12 (содержащие эндогенный TPM3-TrkA слитый ген) культивировали в среде DMEM с добавлением 10% эмбриональной бычьей сыворотки и 100 ед/мл пенициллина/стрептомицина. 1 млн клеток высевали в 6-луночные планшеты в течение 24 ч перед обработкой

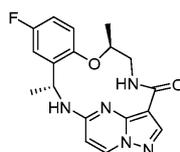
соединением. Клетки промывали с  $1 \times$  PBS и собирали через 5 ч обработки и подвергали лизису в буфере RIPA (50 мМ Трис, pH 7,4, 150 мМ NaCl, 1% NP-40, 0,5% дезоксихолата, 0,1% SDS), дополненном 10 мМ EDTA, Halt протеазными и фосфатазными ингибиторами (Thermo Scientific). Белковые лизаты (20 мкМ) были разрешены на 4-12% Bolt Bis-Tris предварительно отвержденные гели в MES-проточном буфере (Life Technologies), перенесены на нитроцеллюлозные мембраны с использованием трансферной системы Trans-Blot Turbo (Bio-rad) и детектированы антителами, фосфорилированными TRK A (Cell Signaling Technology, Y496, Y680, Y681, клон C50F3; разведение 1:1000), общая TRK A (Santa Cruz Biotechnology, SC-11, клон C-14, 1:2000 разведение), фосфорилированная АКТ (Cell signaling, S473, D9E, # 9271; 1:5000 разведение), общая АКТ (Cell Signaling Technology, 40D4; 1: 2000 разведение), фосфорилированная ERK (Cell Signaling Technology, Thr 202/204, D13.14.4E, # 4370; 1: 2000 разведение), общая ERK (Cell Signaling Technology; разведение 1:1000) и тубулином (Sigma, T4026, разведение 1:5000). Антитела, как правило, инкубируют всю ночь при температуре  $4^{\circ}\text{C}$  при осторожном встряхивании, с последующей промывкой и инкубацией с соответствующими HRP-конъюгированными вторичными антителами. Мембраны подвергали воздействию хемилуминесцентного субстрата в течение 5 мин при комнатной температуре (SuperSignal West Femto, Thermo Scientific). Изображения были получены с помощью системы C-Digit Imaging System (LI-COR Biosciences). Относительная плотность полос была получена непосредственно с помощью Image Studio Digits от Licor. Значения концентрации половины ингибирования ( $\text{IC}_{50}$ ) были рассчитаны с использованием нелинейного анализа регрессии с помощью программного обеспечения GraphPad Prism (GraphPad, Inc., San Diego, CA). С помощью этого метода пример 20 ингибировал автофосфорилирование TPM3-TRKA с  $\text{IC}_{50}$  1,07 нМ и фосфорилирование его нижних сигнальных мишеней АКТ и ERK с  $\text{IC}_{50}$  2,80 и 2,00 нМ соответственно в клетках KM12.

Биологический пример 8. Анализы каспазной активности.

KM12 клетки поддерживали в DMEM среде, дополненной 10% фетальной бычьей сывороткой и антибиотиками. 500000 клеток высевали в 12-луночный планшет и различные концентрации соединения были введены в течение 72 ч. Для обработки стауроспорином 500 нМ STS были добавлены во время 60 ч инкубации и 12 ч в качестве положительного контроля. Были собраны все клетки и промыты  $1 \times$  PBS дважды и затем лизированы в буфере для лизиса (20 мМ HEPES, 150 мМ NaCl, 10 мМ KCl, 5 мМ EDTA, 1% NP40), дополненном Halt протеазными и фосфатазными ингибиторами (Thermo Scientific). Для каспазных анализов приблизительно 20 мкл (20 мкг) лизата клеток инкубировали с 20 мкл caspase3 Glo реагента (Promega), измеряли ферментативную активность по высвобождению люминесценции после 20 мин инкубации при  $37^{\circ}\text{C}$ . Для вестерн-блоттинга клеточные лизаты кипятили и анализировали с помощью SDS-PAGE/иммуноблоттинга с помощью PARP или актиновых антител. С помощью этого способа пример 20 индуцировал апоптоз KM12 клеток.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ ингибирования в клетке протеин- или тирозинкиназы, выбранной из MET, ALK, ROS1, AXL, TRK и/или JAK, включающий приведение в контакт клетки с эффективным количеством соединения формулы



или его фармацевтически приемлемой соли,

где приведение в контакт происходит *in vitro*, *ex vivo* или *in vivo*.

2. Способ по п.1, где протеин- или тирозинкиназа представляет собой киназу MET.

3. Способ по п.1, где протеин- или тирозинкиназа представляет собой киназу ALK.

4. Способ по п.1, где протеин- или тирозинкиназа представляет собой киназу ROS1.

5. Способ по п.1, где протеин- или тирозинкиназа представляет собой киназу AXL.

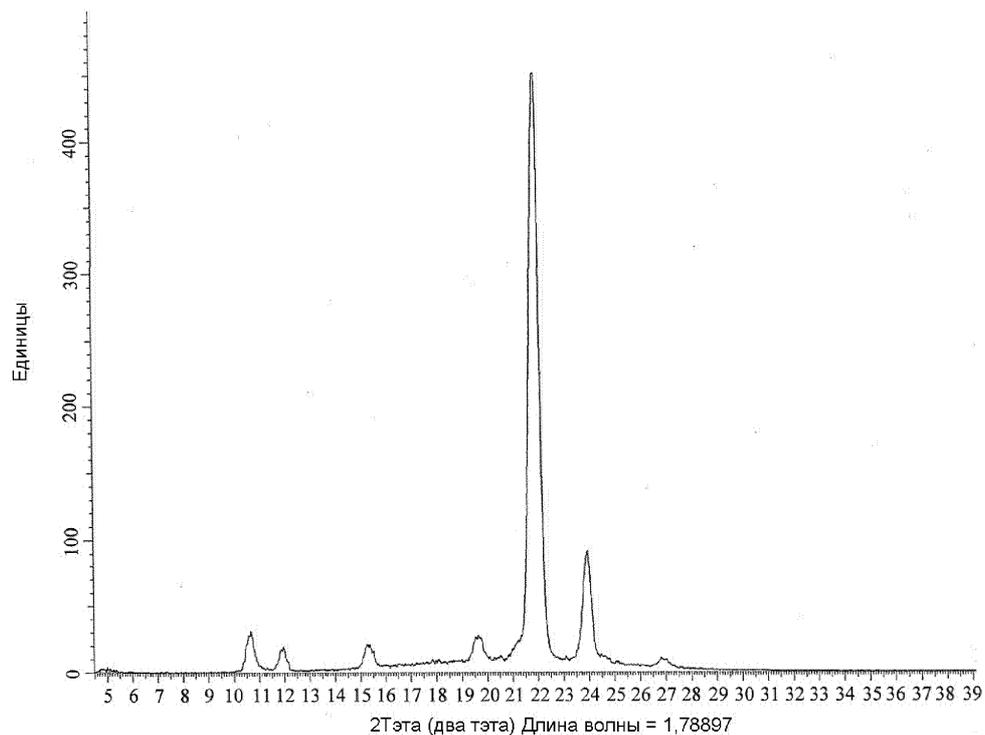
6. Способ по п.1, где протеин- или тирозинкиназа представляет собой киназу TRK.

7. Способ по п.1, где протеин- или тирозинкиназа представляет собой киназу JAK.

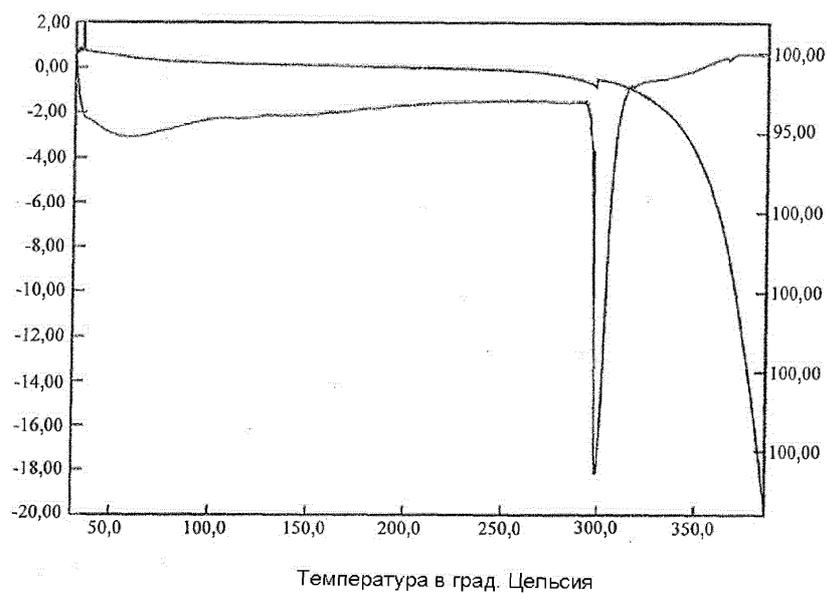
8. Способ по п.1, где клетка представляет собой клетку рака.

9. Способ по п.8, где рак выбирают из группы, состоящей из рака легких, рака толстой кишки, рака молочной железы, рака предстательной железы, гепатоцеллюлярной карциномы, почечно-клеточного рака, рака желудка и пищеводно-желудочного рака, глиобластомы, рака головы и шеи и анапластической мелкоклеточной лимфомы.

10. Способ по п.9, где рак представляет собой мелкоклеточный рак легких.



Фиг. 1



Фиг. 2