(19) Евразийское патентное ведомство

(11) 042084 (13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.01.11

(21) Номер заявки
202090507

(22) Дата подачи заявки
2018.08.15

(51) Int. Cl. ***A61K 31/5025*** (2006.01)
C07D 513/14 (2006.01)
A61P 7/08 (2006.01)
A61P 7/06 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)

(54) АКТИВАТОРЫ ПИРУВАТКИНАЗЫ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ЛЕЧЕНИИ НАРУШЕНИЙ СО СТОРОНЫ КРОВИ

(31) **PCT/CN2017/097496; 62/673,526; 62/673,533**
(32) **2017.08.15; 2018.05.18; 2018.05.18**
(33) **CN; US; US**
(43) **2020.07.27**
(86) **PCT/US2018/000128**
(87) **WO 2019/035864 2019.02.21**

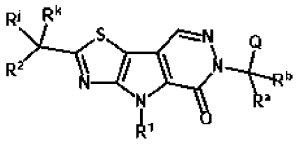
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
АДЖИОС ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Чианкетта Джованни, Лю Тао, Падьяна Анил Кумар, Суй Чжихуа (US), Цай Чжэньвэй, Цуй Давэй, Цзи Цзинцзин (CN)

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

(56) WO-A1-2012151448
JIAN-KANG JIANG ET AL.: "Evaluation of thieno[3,2-b]pyrrole[3,2-d]pyridazinones as activators of the tumor cell specific M2 isoform of pyruvate kinase", BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, vol. 20, no. 11, 1 June 2010 (2010-06-01), pages 3387-3393, XP055039623, ISSN: 0960-894X, DOI: 10.1016/j.bmcl.2010.04.015, the whole document

(57) В данном изобретении описаны соединения, которые активируют пируваткиназу, фармацевтические композиции на их основе и способы их применения. Данные соединения представлены формулой (I)



(I),

где R^1, R^2, R^a, R^b, R^j, R^k и Q определены в данном изобретении.

042084 B1

042084 B1

Перекрестная ссылка на родственные заявки

Настоящая заявка испрашивает преимущество приоритета согласно предварительным заявкам на патент США №№ 62/673526 и 62/673533, которые обе поданы 18 мая 2018 г. Настоящая заявка также испрашивает преимущество приоритета согласно международной заявке на патент № PCT/CN2017/097496, поданной 15 августа 2017 г. Каждая из вышеуказанных приоритетных заявок включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

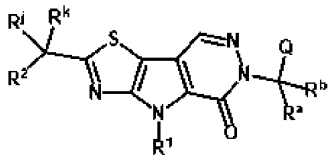
Предпосылки создания изобретения

Дефицит пируваткиназы (PKD) представляет собой заболевание, поражающее эритроциты, обусловленное дефицитом фермента пируваткиназы R (PKR), вызванным рецессивными мутациями гена PKLR (Wijk et al. Human Mutation, 2008, 30 (3) 446-453). Активаторы PKR могут быть полезными для лечения PKD, талассемии (например, бета-талассемии), наследственного эллиптоцитоза, абеталипопротеинемии или синдрома Бассена-Корнцвейга, серповидноклеточной анемии, пароксизмальной ночной гемоглобинурии, анемии (например, врожденных анемий (например, энзимопатий), гемолитической анемии (например, наследственной и/или врожденной гемолитической анемии, приобретенной гемолитической анемии, хронической гемолитической анемии, обусловленной дефицитом фосфоглицераткиназы, анемии при хронических заболеваниях, несфероцитарной гемолитической анемии или наследственного сфероцитоза).

Краткое описание изобретения

В данном документе описаны соединения формулы (I), которые активируют ферменты, представляющие собой пируваткиназу R (PKR) дикого типа и/или мутантную (в частности ферменты, описанные в данном документе), и их фармацевтически приемлемые соли.

В одном варианте осуществления в настоящем изобретении представлено соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль



(I),

где R^1, R^2, R^a, R^b, R^j, R^k и Q определены в данном документе.

В одном варианте осуществления соединение или его фармацевтически приемлемая соль выбраны из соединений из табл. 1 или фиг. 1.

Также представлены фармацевтические композиции, содержащие соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель.

В настоящем изобретении дополнительно представлен способ лечения анемии у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества (1) соединения, описанного в данном документе, или его фармацевтически приемлемой соли; (2) фармацевтически приемлемой композиции, содержащей соединение, описанное в данном документе, или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель. В определенных вариантах осуществления анемия представляет собой дизэритропоэтическую анемию, такую как врожденная дизэритропоэтическая анемия типа I, II, III или IV.

В настоящем изобретении дополнительно представлен способ лечения серповидноклеточной анемии у субъекта, предусматривающий введение субъекту эффективного количества (1) соединения, раскрытого в данном документе, или его фармацевтически приемлемой соли; (2) фармацевтической композиции, содержащей соединение, раскрытое в данном документе, или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель.

В настоящем изобретении дополнительно представлен способ лечения гемолитической анемии (например, хронической гемолитической анемии, обусловленной дефицитом фосфоглицераткиназы, Blood Cells Mol Dis, 2011; 46(3):206) у субъекта, предусматривающий введение субъекту эффективного количества (1) соединения, раскрытого в данном документе, или его фармацевтически приемлемой соли; (2) фармацевтической композиции, содержащей соединение, раскрытое в данном документе, или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель. В определенных вариантах осуществления гемолитическая анемия представляет собой наследственную и/или врожденную гемолитическую анемию, приобретенную гемолитическую анемию или анемию, являющуюся составляющей системного заболевания. В определенных вариантах осуществления гемолитическая анемия представляет собой врожденную анемию. В определенных вариантах осуществления гемолитическая анемия является наследственной (например, несфероцитарная гемолитическая анемия или наследственный сфероцитоз).

В настоящем изобретении дополнительно представлен способ лечения талассемии (например, бета-талассемии), наследственного сфероцитоза, наследственного эллиптоцитоза, абеталипопротеинемии (или синдрома Бассена-Корнцвейга), пароксизмальной ночной гемоглобинурии, приобретенной гемолитической анемии (например, врожденных анемий (например, энзимопатий)), серповидноклеточной анемии или анемии хронических заболеваний у субъекта, предусматривающий введение субъекту эффективного

количества (1) соединения, раскрытого в данном документе, или его фармацевтически приемлемой соли; (2) фармацевтической композиции, содержащей соединение, раскрытое в данном документе, или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель. В одном варианте осуществления приобретенная гемолитическая анемия включает врожденные анемии. В определенных вариантах осуществления представленный способ является способом лечения талассемии. В определенных вариантах осуществления талассемия представляет собой бета-талассемию.

В настоящем изобретении дополнительно представлен способ лечения дефицита пируваткиназы (PKD) у субъекта, при этом способ предусматривает введение субъекту эффективного количества (1) соединения, раскрытого в данном документе, или его фармацевтически приемлемой соли; (2) фармацевтической композиции, содержащей соединение, раскрытое в данном документе, или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель. В определенных вариантах осуществления PKD представляет собой дефицит PKR. В определенных вариантах осуществления дефицит PKR ассоциирован с мутацией пируваткиназы R.

Соединения и фармацевтические композиции, описанные в данном документе, представляют собой активаторы PKR, характеризующиеся более низкими уровнями активности по сравнению с такими у дикого типа, поэтому они являются применимыми для способов по настоящему изобретению. В определенных вариантах осуществления PKR представляет собой PKR дикого типа. В определенных вариантах осуществления PKR представляет собой мутантную форму PKR. Такие мутации в PKR могут влиять на активность фермента (каталитическую эффективность), регуляторные свойства (модуляцию с помощью бисфосфата фруктозы (FBP)/ATP) и/или термостабильность фермента. Примеры таких мутаций описаны в Valentini et al, JBC 2002. Некоторые примеры мутантных форм, которые активируются соединениями, описанными в данном документе, включают G332S, G364D, T384M, R479H, R479K, R486W, R532W, K410E, R510Q и R490W. Не ограничиваясь какой-либо теорией, в определенных вариантах осуществления соединения, описанные в данном документе, влияют на уровни активности мутантных форм PKR путем активирования мутантных форм PKR, не восприимчивых к FBP, восстановления термостабильности у мутантных форм с пониженной стабильностью или восстановления каталитической эффективности у мутантных форм с нарушенной функцией. Активирующую активность соединений по настоящему изобретению в отношении мутантных форм PKR можно исследовать в соответствии со способом, описанным в разделе "Примеры". В определенных вариантах осуществления соединения, описанные в данном документе, также представляют собой активаторы PKR дикого типа.

В одном варианте осуществления в настоящем изобретении представлен способ активации PKR в эритроцитах у нуждающегося в этом субъекта, предусматривающий введение субъекту эффективного количества (1) соединения, раскрытого в данном документе, или его фармацевтически приемлемой соли; (2) фармацевтической композиции, содержащей соединение, раскрытое в данном документе, или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель. В определенных вариантах осуществления PKR представляет собой PKR дикого типа. В определенных вариантах осуществления PKR представляет собой мутантную форму PKR.

В одном варианте осуществления мутантная форма PKR выбрана из G332S, G364D, T384M, K410E, R479H, R479K, R486W, R532W, R510Q и R490W. В определенных вариантах осуществления мутантная форма PKR выбрана из A468V, A495V, I90N, T408I, и Q421K, и R498H. В определенных вариантах осуществления мутантная форма PKR представляет собой R532W, K410E или R510Q.

Краткое описание графических материалов

На фиг. 1 представлен перечень структур иллюстративных соединений по настоящему изобретению.

На фиг. 2 показан синтез иллюстративных промежуточных соединений, используемых в примерах 1-10.

Подробное описание настоящего изобретения

Особенности конструкции и расположение компонентов, изложенные в следующем описании или проиллюстрированные в графических материалах, не предназначены для ограничения. Варианты осуществления можно осуществлять на практике или выполнять различными способами. Фразы и термины, используемые в данном документе, предназначены для описания и не должны рассматриваться как ограничивающие.

Определения

Соединения, описанные в данном документе, могут содержать один или более асимметричных центров и таким образом могут существовать в различных стереоизомерных формах, например, в формах энантиомеров и/или диастереомеров. Например, описанные в данном документе соединения могут быть представлены в форме отдельного энантиомера, диастереомера или геометрического изомера или могут быть представлены в форме смеси стереоизомеров, включая рацемические смеси и смеси, обогащенные одним или более стереоизомерами. Изомеры можно выделять из смесей с помощью способов, известных специалистам в данной области техники, включая хиральную жидкостную хроматографию при высоком давлении (HPLC), а также образование и кристаллизацию хиральных солей; или предпочтительные изомеры можно получать с помощью вариантов асимметрического синтеза. См., например, Jacques et al., Enantiomers, Racemates and Resolutions (Wiley Interscience, New York, 1981); Wilen et al., Tetrahedron

33:2725 (1977); Eliel, E.L. Stereochemistry of Carbon Compounds (McGraw-Hill, NY, 1962); и Wilen, S.H. Tables of Resolving Agents and Optical Resolutions p. 268 (E.L. Eliel, Ed., Univ. of Notre Dame Press, Notre Dame, IN 1972).

Описанные в данном документе соединения также могут быть представлены в нескольких таутомерных формах, в таких случаях прямо включены все таутомерные формы описанных в данном документе соединений, несмотря на то, что может быть представлена лишь одна таутомерная форма (например, алкилирование кольцевой системы может привести к алкилированию по нескольким сайтам; все продукты такой реакции прямо включены). Все такие изомерные формы таких соединений прямо включены. Если таутомер соединения является ароматическим, то данное соединение является ароматическим. Подобным образом, если таутомер заместителя является гетероарилом, то данный заместитель является гетероарилом.

Термин "алкил" относится к радикалу, представляющему собой насыщенную углеводородную группу с прямой или разветвленной цепью, содержащую от 1 до 10 атомов углерода ("C_{1-10}алкил"). Примеры C_{1-6}алкильных групп включают метил (C_1), этил (C_2), пропил (C_3) (например, н-пропил, изопропил), бутил (C_4) (например, н-бутил, трет-бутил, втор-бутил, изобутил), пентил (C_5) (например, н-пентил, 3-пентанил, амил, неопентил, 3-метил-2-бутанил, третичный амил) и гексил (C_6) (например, н-гексил). Если не указано иное, то каждый вариант алкильной группы является независимо незамещенным ("незамещенный алкил") или замещенным ("замещенный алкил") одним или более заместителями (например, галогеном, таким как F). В определенных вариантах осуществления алкильная группа представляет собой незамещенный -C_{1-10}алкил. В определенных вариантах осуществления алкильная группа представляет собой замещенный -C_{1-10}алкил.

Термин "галогеналкил" относится к замещенной алкильной группе, где один или более атомов водорода независимо заменены галогеном, например, фтором, бромом, хлором или йодом, и включает алкильные фрагменты, в которых все атомы водорода были заменены галогеном (например, перфторалкилом). В некоторых вариантах осуществления галогеналкильный фрагмент содержит от 1 до 8 атомов углерода ("C_{1-8}галогеналкил").

Термин "алкокси" или "алкоксил" относятся к -О-алкильному радикалу. Например, с 1-6 атомами углерода.

Термин "арилокси" относится к -О-арильному радикалу. В некоторых вариантах осуществления арилоксильная группа представляет собой фенокси.

Термин "алкенил" относится к радикалу, представляющему собой углеводородную группу с прямой или разветвленной цепью, содержащую от 2 до 10 атомов углерода и одну или более углерод-углеродных двойных связей (например, 1, 2, 3 или 4 двойные связи). Одна или более углерод-углеродных двойных связей могут быть внутренними (такими как у 2-бутенила) или концевыми (такими как у 1-бутенила). Примеры -C_{2-4}алкенильных групп включают этенил (C_2), 1-пропенил (C_3), 2-пропенил (C_3), 1-бутенил (C_4), 2-бутенил (C_4), бутадиенил (C_4), пентенил (C_5), пентадиенил (C_5), гексенил (C_6), гептенил (C_7), октенил (C_8), октатриенил (C_8) и т.п. Если не указано иное, то каждый вариант алкенильной группы является независимо незамещенным ("незамещенный алкенил") или замещенным ("замещенный алкенил") одним или более заместителями. В определенных вариантах осуществления алкенильная группа представляет собой незамещенный -C_{2-10}алкенил. В определенных вариантах осуществления алкенильная группа представляет собой замещенный -C_{2-10}алкенил. В алкенильной группе двойная связь C=C может представлять собой (E)- или (Z)-двойную связь.

Термин "алкинил" относится к радикалу, представляющему собой углеводородную группу с прямой или разветвленной цепью, содержащую от 2 до 10 атомов углерода и одну или более углерод-углеродных тройных связей (например, 1, 2, 3 или 4 тройных связей) ("C_{2-10}алкинил"). Примеры алкинильных групп включают этинил (C_2), 1-пропинил (C_3), 2-пропинил (C_3), 1-бутинил (C_4), 2-бутинил (C_4), пентинил (C_5), гексинил (C_6), гептинил (C_7), октинил (C_8) и т.п. Если не указано иное, то каждый вариант алкинильной группы является независимо незамещенным ("незамещенный алкинил") или замещенным ("замещенный алкинил") одним или более заместителями. В некоторых вариантах осуществления алкинильная группа представляет собой незамещенный -C_{2-10}алкинил. В некоторых вариантах осуществления алкинильная группа представляет собой замещенный -C_{2-10}алкинил.

Термин "карбоциклил" или "карбоциклический" относится к радикалу, представляющему собой неароматическую моноциклическую, бициклическую, или трициклическую, или полициклическую углеводородную кольцевую систему, содержащую от 3 до 14 атомов углерода в кольце ("C_{3-14}карбоциклил") и ноль гетероатомов в неароматической кольцевой системе. Карбоциклильные группы включают полностью насыщенные кольцевые системы (например, циклоалкилы) и частично насыщенные кольцевые системы. В некоторых вариантах осуществления карбоциклильная группа содержит от 3 до 10 атомов углерода в кольце ("C_{3-10}карбоциклил").

Используемый в данном документе термин "циклоалкил" включает насыщенные циклические, бициклические, трициклические или полициклические углеводородные группы, содержащие от 3 до 14 атомов углерода, при этом состоящие из указанного числа колец и атомов углерода (например, моноциклический C_3-C_{14}-, бициклический C_4-C_{14}-, трициклический C_5-C_{14}- или полициклический C_6-C_{14}-

циклоалкил). В некоторых вариантах осуществления "циклоалкил" представляет собой моноциклический циклоалкил. Примеры моноциклических циклоалкильных групп включают циклопентил (C_5), циклогексил (C_5), циклопропил (C_3), циклобутил (C_4), циклогептил (C_7) и циклооктил (C_8). В некоторых вариантах осуществления "циклоалкил" представляет собой бициклический циклоалкил. Примеры бициклических циклоалкилов включают бицикло[1.1.0]бутан (C_4), бицикло[1.1.1]пентан (C_5), спиро[2.2]пентан (C_5), бицикло[2.1.0]пентан (C_5), бицикло[2.1.1]гексан (C_6), бицикло[3.3.3]ундекан (C_{11}), декагидронафталин (C_{10}), бицикло[4.3.2]ундекан (C_{11}), спиро[5.5]ундекан (C_{11}) и бицикло[4.3.3]додекан (C_{1-8}). В некоторых вариантах осуществления "циклоалкил" представляет собой трициклический циклоалкил. Примеры трициклических циклоалкилов включают адамантин (C_{12}). Если не указано иное, то каждый вариант циклоалкильной группы является независимо незамещенным ("незамещенный циклоалкил") или замещенным ("замещенный циклоалкил") одним или более заместителями. В конкретных вариантах осуществления циклоалкильная группа представляет собой незамещенный C_{3-14}циклоалкил. В некоторых вариантах осуществления циклоалкильная группа представляет собой замещенный C_{3-14}циклоалкил.

Термин "гетероциклил" или "гетероциклический" относится к радикалу, представляющему собой 3-14-членную неароматическую кольцевую систему, содержащую атомы углерода в кольце и 1-4 гетероатома в кольце, где каждый гетероатом независимо выбран из азота, кислорода и серы ("3-14-членный гетероциклил"). В гетероциклильных группах, которые содержат один или более атомов азота, точка присоединения может представлять собой атом углерода или азота, как позволяет валентность. Гетероциклильная группа может быть либо моноциклической ("моноциклический гетероциклил"), либо полициклической (например, конденсированная, мостиковая или спирокольцевая система, такая как бициклическая система ("бициклический гетероциклил") или трициклическая система ("трициклический гетероциклил")), а также может быть насыщенной или может содержать одну или более углерод-углеродных двойных или тройных связей. Гетероциклильные полициклические кольцевые системы могут включать один или более гетероатомов в одном или обоих кольцах. Термин "гетероциклил" также включает кольцевые системы, где гетероциклильное кольцо, определенное выше, является конденсированным с одной или более карбоциклильными группами, при этом точка присоединения находится либо на карбоциклильном, либо на гетероциклильном кольце, или кольцевые системы, где гетероциклильное кольцо, определенное выше, является конденсированным с одной или более арильными или гетероарильными группами, при этом точка присоединения находится на гетероциклильном кольце, и в таких случаях количество членов кольца продолжает обозначать количество членов кольца в гетероциклильной кольцевой системе. Если не указано иное, то каждый вариант гетероциклила является независимо незамещенным ("незамещенный гетероциклил") или замещенным ("замещенный гетероциклил") одним или более заместителями. В конкретных вариантах осуществления гетероциклильная группа представляет собой незамещенный 3-14-членный гетероциклил. В конкретных вариантах осуществления гетероциклильная группа представляет собой замещенный 3-14-членный гетероциклил. В некоторых вариантах осуществления гетероциклильная группа представляет собой 5-10-членную неароматическую кольцевую систему, содержащую атомы углерода в кольце и 1-4 гетероатома в кольце, при этом каждый гетероатом независимо выбран из азота, кислорода и серы ("5-10-членный гетероциклил"). Иллюстративные гетероциклильные группы включают азиридинил, оксиранил, тииранил, азетидинил, оксетанил, тиетанил, тетрагидрофуранил, дигидрофуранил, тетрагидротиофенил, дигидротиофенил, пирролидинил, дигидропирролил, пирролил-2,5-дион, диоксоланил, оксатиоланил, дитиоланил, триазолинил, оксадиазолинил, тиадиазолинил, пиперидинил, тетрагидропиранил, дигидропиридинил, тианил, пиперазинил, морфолинил, дитианил, диоксанил, триазинанил, азепанил, оксепанил, тиепанил, азоканил, оксеканил, тиоканил, индолинил, изоиндолинил, дигидробензофуранил, дигидробензотиенил, тетрагидробензотиенил, тетрагидробензофуранил, тетрагидроиндолил, тетрагидрохинолинил, тетрагидроизохинолинил, декагидрохинолинил, декагидроизохинолинил, октагидрохроменил, октагидроизохроменил, декагидронафтиридинил, декагидро-1,8-нафтиридинил, октагидропирроло[3,2-b]пиррол, индолинил, фталимидил, нафталимидил, хроманил, хроменил, 1H-бензо[e][1,4]диазепинил, 1,4,5,7-тетрагидропирано[3,4-b]пирролил, 5,6-дигидро-4H-фуро[3,2-b]пирролил, 6,7-дигидро-5H-фуро[3,2-b]пиранил, 5,7-дигидро-4H-тиено[2,3-c]пиранил, 2,3-дигидро-1H-пирроло[2,3-b]пиридинил, 2,3-дигидрофуро[2,3-b]пиридинил, 4,5,6,7-тетрагидро-1H-пирроло[2,3-b]пиридинил, 4,5,6,7-тетрагидрофуро[3,2-c]пиридинил, 4,5,6,7-тетрагидротиено[3,2-b]пиридинил, 1,2,3,4-тетрагидро-1,6-нафтиридинил и т.п.

Термин "арил" относится к радикалу, представляющему собой моноциклическую или полициклическую (например, бициклическую или трициклическую) 4n+2 ароматическую кольцевую систему (например, содержащую 6, 10 или 14 π-электронов, делокализованных в циклической структуре), содержащую 6-14 атомов углерода в кольце и ноль гетероатомов, включенных в ароматическую кольцевую систему ("C_{6-14}арил"). В некоторых вариантах осуществления арильная группа содержит 6 атомов углерода в кольце ("C_6арил"; например, фенил). В некоторых вариантах осуществления арильная группа содержит 10 атомов углерода в кольце ("C_{10}арил"; например, нафтил, такой как 1-нафтил и 2-нафтил). В некоторых вариантах осуществления арильная группа содержит 14 атомов углерода в кольце ("C_{14}арил"; например, антрацил). Термин "арил" также включает кольцевые системы, где арильное кольцо, определенное выше, является конденсированным с одной или более карбоциклильными или гетероциклильными группами,

при этом радикал или точка присоединения находятся на арильном кольце, и в таких случаях количество атомов углерода продолжает обозначать количество атомов углерода в арильной кольцевой системе. Если не указано иное, то каждый вариант арильной группы является независимо незамещенным ("незамещенный арил") или замещенным ("замещенный арил") одним или более заместителями. В конкретных вариантах осуществления арильная группа представляет собой незамещенный C_{6-14}арил. В конкретных вариантах осуществления арильная группа представляет собой замещенный C_{6-14}арил.

Термин "гетероарил" относится к радикалу, представляющему собой 5-14-членную моноциклическую или полициклическую (например, бициклическую, трициклическую) 4n+2 ароматическую кольцевую систему (например, содержащую 6 π-электронов, делокализованных в циклической структуре), содержащую атомы углерода в кольце и 1-4 гетероатома в кольце, включенные в ароматическую кольцевую систему, где каждый гетероатом независимо выбран из азота, кислорода и серы ("5-14-членный гетероарил") В некоторых вариантах осуществления гетероарил может представлять собой 5- или 6-членный моноциклический гетероарил, содержащий 1-4 гетероатома. В некоторых вариантах осуществления гетероарил может представлять собой 8-12-членный бициклический гетероарил, содержащий 1-6 гетероатомов. "5- или 6-членный моноциклический гетероарил" или "5-членный или 6-членный моноциклический гетероарил" относится к 5- или 6-членной моноциклической и неконденсированной 4n+2 ароматической кольцевой системе, содержащей атомы углерода в кольце и 1-4 гетероатома в кольце. Иллюстративный моноциклические 5- или 6-членные гетероарильные группы включают пирролил, фуранил, тиофенил, имидазолил, пиразолил, оксазолил, изоксазолил, тиазолил, изотиазолил, триазолил, оксадиазолил, тиадиазолил, тетразолил, пиридинил, пиридазинил, пиримидинил, пиразинил, триазинил и тетразинил. Как используется в данном документе, если таутомер радикала представляет собой гетероарил, данный радикал представляет собой гетероарил. Термин "таутомеры" или "таутомерный" относится к двум или более взаимопревращаемым соединениям/заместителям, возникающим в результате по меньшей мере одного формального перемещения атома водорода и по меньшей мере одного изменения валентности (например, одинарной связи на двойную связь, тройной связи на одинарную связь или наоборот). Точное соотношение таутомеров зависит от нескольких факторов, включающих температуру, растворитель и значение pH. Реакции таутомеризации (т.е. реакцию, обеспечивающую образование таутомерной пары) можно катализировать с помощью кислоты или основания. Иллюстративные реакции таутомеризации включают реакции кето-енольной, амид-имидной, лактам-лактимной, енамин-иминной таутомеризации и реакцию таутомеризации енамина в другой енамин.

Термин "насыщенный" относится к фрагменту, который не содержит двойной или тройной связи, т.е. фрагмент содержит исключительно одинарные связи.

Термин "необязательно замещенный" относится к тому, что может быть замещенным или незамещенным. В общем термин "замещенный" означает, что по меньшей мере один атом водорода, присутствующий в группе, заменен допустимым заместителем, например заместителем, который при замещении обеспечивает образование стабильного соединения, например соединения, которое самопроизвольно не подвергается такому превращению, как перегруппировка, замыкание цикла, элиминирование или другой реакции. Если не указано иное, "замещенная" группа содержит заместитель (например, C_{1-6}алкил, галоген, нитро, циано, гидроксил, C_{1-6}галогеналкил, C_{1-6}галогеналкокси, C_{1-6}ацил, C_{3-6}циклоалкил, C_{6-10}арил, моноциклический или бициклический гетероарил и моноциклический или бициклический гетероциклил) при одном или более замещаемых положениях группы, и если в любой приведенной структуре замещено более одного положения, заместители при каждом положении являются либо одинаковыми, либо разными. Предусматривается, что термин "замещенный" включает замещение органических соединений всеми допустимыми заместителями и включает любые заместители, описанные в данном документе, которые обеспечивают образование стабильного соединения. В настоящем изобретении предусматриваются все без исключения такие комбинации с тем, чтобы получить стабильное соединение. Для целей настоящего изобретения такие гетероатомы, как атомы азота, могут иметь заместители, представляющие собой водород, и/или любой подходящий заместитель, описанный в данном документе, который соответствует валентностям гетероатомов и обеспечивает образование стабильного фрагмента. Предполагается, что настоящее изобретение не ограничивается каким-либо образом иллюстративными заместителями, описанными в данном документе.

"Замещаемый атом углерода в кольце" относится к атому углерода в арильном/гетероарильном/карбоциклильном/гетероциклильном кольце, где при этом в атоме углерода присутствует по меньшей мере один атом водорода, который заменен допустимым заместителем, определенным выше. "Замещаемый атом азота в кольце" относится к атому азота в гетероарильном-гетероциклильном кольце, где при этом в атоме азота присутствует по меньшей мере один атом водорода, который заменен допустимым заместителем.

Если не указано иное, "замещенная" группа содержит заместитель при одном или более замещаемых положениях группы, и если в любой приведенной структуре замещено более одного положения, заместители при каждом положении являются либо одинаковыми, либо различными. Предусматривается, что термин "замещенный" включает замещение органических соединений всеми допустимыми заместителями и включает любые заместители, описанные в данном документе, которые обеспечивают обра-

зование стабильного соединения. В настоящем изобретении предусматриваются все без исключения такие комбинации с тем, чтобы получить стабильное соединение. Для целей настоящего изобретения такие гетероатомы, как атомы азота, могут иметь заместители, представляющие собой водород, и/или любой подходящий заместитель, описанный в данном документе, который соответствует валентностям гетероатомов и обеспечивает образование стабильного фрагмента. Предполагается, что настоящее изобретение не ограничивается каким-либо образом иллюстративными заместителями, описанными в данном документе.

Термин "галоген" или "галогенид" относится к фтору, хлору, брому или йоду.

Термин "ацил" относится к группе, имеющей общую формулу $-C(=O)R^{X1}$, $-C(=O)OR^{X1}$, $-C(=O)-O-C(=O)R^{X1}$, $-C(=O)SR^{X1}$, $-C(=O)N(R^{X1})_2$, $-C(=S)R^{X1}$, $-C(=S)N(R^{X1})_2$ и $-C(=S)S(R^{X1})$, $-C(=NR^{X1})R^{X1}$, $-C(=NR^{X1})OR^{X1}$, $-C(=NR^{X1})SR^{X1}$ и $-C(=NR^{X1})N(R^{X1})_2$, где R^{X1} представляет собой водород; галоген; замещенный или незамещенный гидроксил; замещенный или незамещенный тиол; замещенный или незамещенный амино; замещенный или незамещенный ацил, циклический или ациклический, замещенный или незамещенный, разветвленный или неразветвленный C_{1-10}алкил; циклический или ациклический, замещенный или незамещенный, разветвленный или неразветвленный C_{2-10}алкенил; замещенный или незамещенный C_{2-10}алкинил; замещенный или незамещенный C_{6-12}арил, замещенный или незамещенный гетероарил, если позволяет валентность. Иллюстративные ацильные группе включают альдегиды (-CHO), карбоновые кислоты ($-CO_2H$), кетоны, ацилгалогениды, сложные эфиры, амиды, имины, карбонаты, карбаматы и мочевины.

В конкретных вариантах осуществления заместитель, присутствующий при атоме азота, атоме кислорода или атоме серы, представляет собой защитную группу для атома азота, защитную группу для атома кислорода или защитную группу для атома серы соответственно. Защитные группы для атома азота, кислорода и серы хорошо известны из уровня техники и включают те из них, которые подробно описаны в документе Protecting Groups in Organic Synthesis, T. W. Greene and P. G. M. Wuts, 3"^{e} издание, John Wiley & Sons, 1999 г., включенном в данный документ посредством ссылки. Например, защитные группы для атома азота включают без ограничения формамид, ацетамид, хлорацетамид, трихлорацетамид, трифторацетамид, фенилацетамид, метилкарбамат, этилкарбамат, 9-флуоренилметилкарбамат (Fmoc), трет-бутилкарбамат (BOC или Boe), 1-адамантилкарбамат (Adoc), винилкарбамат (Voc), аллилкарбамат (Alloc), 2-(триметилсилил)этокси]метил (SEM), п-толуолсульфонамид (Ts), бензолсульфонамид, 2,3,6-триметил-4-метоксибензолсульфонамид (Mtr), 2,4,6-триметоксибензолсульфонамид (Mtb), производное фенотиазинил-(10)-ацила, производное N'-п-толуолсульфониламиноацила и т.д. Иллюстративные защитные группы для атома кислорода включают без ограничения метил, метоксиметил (MOM), метилтиометил (MTM), трет-бутилтиометил, (фенилдиметилсилил) метоксиметил (SMOM), бензилоксиметил (BOM), п-метоксибензилоксиметил (PMBM), (4-метоксифенокси)метил (p-AOM), тетрагидропиранил (THP), метансульфонат (мезилат), бензилсульфонат и тозилат (Ts).

Термин "уходящая группа" приводится в его обычном значении в области синтеза органических соединений и относится к атому или группе, которые могут быть вытеснены нуклеофилом. Примеры подходящих уходящих групп включают без ограничения галоген (такой как F, Cl, Br или I (йод)), алкоксикарбонилокси, арилоксикарбонилокси, алкансульфонилокси, аренсульфонилокси, алкилкарбонилокси (например, ацетокси), сложный эфир сульфоновой кислоты, такой как толуолсульфонат (тозилат, -OTs), метансульфонат (мезилат, -OMs), п-бромбензолсульфонилокси (брозилат, -OBs), $-OS(=O)_2(CF_2)_3CF_3$ (нонафлат, -ONf) или трифторметансульфонат (трифлат, -OTf).

Термин "фармацевтически приемлемая соль" относится к таким солям, которые в пределах объема медицинского мнения являются подходящими для применения в контакте с тканями людей и низших животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции и т.п., а также являются сопоставимыми с разумным соотношением пользы/риска. Фармацевтически приемлемые соли хорошо известны из уровня техники.

Например, Berge et al. подробно описали фармацевтически приемлемые соли в документе J. Pharmaceutical Sciences, 1977, 66, 1-19, включенном в данный документ посредством ссылки. Фармацевтически приемлемые соли соединений по настоящему изобретению включают соли, которые получены из подходящих неорганических и органических кислот и оснований. Примерами фармацевтически приемлемых, нетоксичных солей присоединения кислоты являются соли, образованные аминогруппами и неорганическими кислотами, такими как хлористоводородная кислота, бромистоводородная кислота, фосфорная кислота, серная кислота и перхлорная кислота, или органическими кислотами, такими как уксусная кислота, щавелевая кислота, малеиновая кислота, винная кислота, лимонная кислота, янтарная кислота или малоновая кислота, или полученные с помощью других способов, известных из уровня техники, таких как ионный обмен. Другие фармацевтически приемлемые соли включают соли, представляющие собой адипат, альгинат, аскорбат, аспартат, бензолсульфонат, бензоат, бисульфат, борат, бутират, камфорат, камфорсульфонат, цитрат, циклопентанпропионат, диглюконат, додецилсульфат, этансульфонат, формиат, фумарат, глюкогептонат, глицерофосфат, глюконат, гемисульфат, гептаноат, гексаноат, йодгидрат, 2-гидрокси-этансульфонат, лактобионат, лактат, лаурат, лаурилсульфат, малат, малеат, малонат, метансульфонат, 2-нафталинсульфонат, никотинат, нитрат, олеат, оксалат, пальмитат, памоат, пектинат, персульфат, 3-фенилпропионат, фосфат, пикрат, пивалат, пропионат, стеарат, сукцинат, сульфат,

тартрат, тиоцианат, п-толуолсульфонат, ундеканоат, валерат и т.п. Соли, полученные из подходящих оснований, включают соли щелочных металлов, щелочноземельных металлов, аммония и $N^+(C_{1-4}алкил)_4^-$. Типичные соли щелочных или щелочноземельных металлов включают соли натрия, лития, калия, кальция, магния и т.п. Дополнительные фармацевтически приемлемые соли включают, если это целесообразно, нетоксичные катионы аммония, четвертичного аммония и аминов, при этом образованы с использованием таких противоионов, как ионы галогенида, гидроксида, карбоксилата, сульфата, фосфата, нитрата, низшего алкилсульфоната и арилсульфоната.

Термины "композиция" и "состав" применяют взаимозаменяемо.

Термин "субъект", в отношении которого предусмотрено введение, относится к человеку (т.е. мужчине или женщине любой возрастной группы, например, субъекту детского возраста (например, младенцу, ребенку или подростку) или субъекту, являющемуся взрослым человеком (например, молодому человеку, человеку средних лет или пожилому человеку)) или животному, отличному от человека. В конкретных вариантах осуществления животное, отличное от человека, представляет собой млекопитающее (например, примат (например, яванский макак или макак-резус)), коммерчески значимое млекопитающее (например, крупный рогатый скот, свинья, лошадь, овца, коза, кошка или собака) или птицу (например, коммерчески значимая птица, такая как курица, утка, гусь или индюк). В конкретных вариантах осуществления животное, отличное от человека, представляет собой рыбу, рептилию или земноводное. Животное, отличное от человека, может представлять собой особь мужского пола или особь женского пола на любой стадии развития. Животное, отличное от человека, может представлять собой трансгенное животное или генетически сконструированное животное. В конкретных вариантах осуществления субъект является пациентом. Термин "пациент" относится к субъекту, являющемуся человеком, нуждающимся в лечении заболевания. В конкретных вариантах осуществления термин "пациент" относится к взрослому человеку в возрасте старше 18 лет, нуждающемуся в лечении заболевания. В конкретных вариантах осуществления термин "пациент" относится к человеку, являющемуся ребенком в возрасте не старше 18 лет, нуждающемуся в лечении заболевания. В конкретных вариантах осуществления пациента не подвергали регулярной процедуре переливания крови (например, подвергали не более 4 процедурам переливания крови за 12-месячный период). В определенных вариантах осуществления пациента подвергали регулярной процедуре переливания крови (например, подвергали по меньшей мере 4 процедурам переливания крови за 12-месячный период). В определенных вариантах осуществления субъекта подвергали спленэктомии. В определенных вариантах осуществления субъекта подвергали спленэктомии и подвергали регулярной процедуре переливания крови. В определенных вариантах осуществления субъекта подвергали спленэктомии и не подвергали регулярной процедуре переливания крови.

Термин "вводить", "осуществлять введение" или "введение" относится к имплантации, обеспечению всасывания, проглатыванию, впрыскиванию, вдыханию или внедрению иным образом соединения, описанного в данном документе, или композиции на его основе в организм субъекта или на его тело.

Термины "лечение", "лечить" и "осуществлять лечение" относятся к устранению, облегчению, задержке возникновения или подавлению прогрессирования заболевания, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления лечение может совершаться после развития или наблюдения одного или более признаков или симптомов заболевания (т.е. терапевтическое лечение). В других вариантах осуществления лечение может совершаться при отсутствии признаков или симптомов заболевания. Например, лечение может совершаться в отношении предрасположенного к заболеванию субъекта до проявления симптомов (т.е. профилактическое лечение) (например, с учетом анамнеза симптомов и/или с учетом воздействия патогена). Лечение можно также продолжать после устранения симптомов, например, для задержки или предотвращения повторного проявления симптомов. В некоторых вариантах осуществления лечение включает задержку возникновения по меньшей мере одного симптома нарушения в течение некоторого периода времени.

Термины "состояние", "заболевание" и "нарушение" применяют взаимозаменяемо.

"Эффективное количество" соединения, описанного в данном документе, относится к количеству, достаточному для обеспечения необходимого биологического ответа. Эффективное количество соединения, описанного в данном документе, может варьировать в зависимости от таких факторов, как необходимая биологическая конечная точка, фармакокинетика соединения, состояние, подлежащее лечению, способ введения, а также возраст и общее состояние здоровья субъекта. В некоторых вариантах осуществления эффективное количество представляет собой терапевтически эффективное количество. В конкретных вариантах осуществления эффективное количество должно вызывать у субъекта ответ в отношении гемоглобина, представляющий собой повышение концентрации Hb относительно исходного уровня, составляющее ≥1,5 г/дл. Исходная концентрация Hb у субъекта представляет собой среднее значение всех доступных значений концентрации Hb перед лечением с помощью соединения. В конкретных вариантах осуществления эффективное количество должно вызывать у субъекта ответ в отношении гемоглобина, представляющий собой повышение концентрации Hb относительно исходного уровня, составляющее ≥1,0 г/дл. В конкретных вариантах осуществления эффективное количество должно вызывать у субъекта ответ в отношении гемоглобина, представляющий собой повышение концентрации Hb

относительно исходного уровня, составляющее ≥2,0 г/дл. В конкретных вариантах осуществления эффективное количество представляет собой количество соединения, описанного в данном документе, в однократной дозе. В конкретных вариантах осуществления эффективное количество представляет собой объединенные количества соединения, описанного в данном документе, в нескольких дозах. В определенных вариантах осуществления эффективное количество представляет собой терапевтически эффективное количество.

"Терапевтически эффективное количество" соединения, описанного в данном документе, представляет собой количество, достаточное для обеспечения терапевтического преимущества в лечении состояния или для задержки или сведения к минимуму одного или более симптомов, ассоциированных с состоянием. Терапевтически эффективное количество соединения означает количество терапевтического средства, отдельно или в комбинации с другими видами терапии, которое обеспечивает терапевтическое преимущество в лечении состояния. Термин "терапевтически эффективное количество" может охватывать количество, которое улучшает в целом терапию, уменьшает или устраняет симптомы, признаки или причины состояния и/или повышает терапевтическую эффективность другого терапевтического средства. В конкретных вариантах осуществления терапевтически эффективное количество представляет собой количество, достаточное для обеспечения измеряемого уровня активации PKR дикого типа или ее мутантной формы. В определенных вариантах осуществления терапевтически эффективное количество представляет собой количество, достаточное для обеспечения регуляции уровней 2,3-дифосфоглицерата и/или ATP в крови, в отношении которой существует такая необходимость, или для лечения дефицита пируваткиназы (PKD), гемолитической анемии (например, хронической гемолитической анемии, наследственной несфероцитарной анемии), серповидноклеточной анемии, талассемии (например, бета-талассемии), наследственного сфероцитоза, наследственного эллиптоцитоза, абеталипопротеинемии (или синдрома Бассена-Корнцвейга), пароксизмальной ночной гемоглобинурии, приобретенной гемолитической анемии (например, врожденных анемий (например, энзимопатий)), анемии при хронических заболеваниях, или лечения заболеваний или состояний, которые ассоциированы с повышенными уровнями 2,3-дифосфоглицерата (например, заболеваний печени). В определенных вариантах осуществления терапевтически эффективное количество представляет собой количество, достаточное для обеспечения измеряемого уровня активации PKR дикого типа или ее мутантной формы и для регуляции уровней 2,3-дифосфоглицерата в крови, в отношении которой существует такая необходимость, или для лечения дефицита пируваткиназы (PKD), гемолитической анемии (например, хронической гемолитической анемии, наследственной несфероцитарной анемии), серповидноклеточной анемии, талассемии (например, бета-талассемии), наследственного сфероцитоза, наследственного эллиптоцитоза, абеталипопротеинемии (или синдрома Бассена-Корнцвейга), пароксизмальной ночной гемоглобинурии, приобретенной гемолитической анемии (например, врожденных анемий (например, энзимопатий)), анемии при хронических заболеваниях, или лечения заболеваний или состояний, которые ассоциированы с повышенными уровнями 2,3-дифосфоглицерата (например, заболеваний печени). В одном аспекте терапевтически эффективное количество представляет собой количество, требующееся для обеспечения у субъекта ответа в отношении гемоглобина, представляющего собой увеличение концентрации Hb относительно исходного уровня, составляющее ≥1,0 г/дл (в частности, ≥1,5 г/дл или ≥2,0 г/дл). Исходное значение концентрации Hb у субъекта представляет собой среднее по всем доступным значениям концентрации Hb в пределах по меньшей мере двух недель (например, 3 недель, 4 недель, 5 недель или 6 недель) до проведения лечения с помощью соединения, описанного в данном документе. В определенных аспектах терапевтически эффективное количество представляет собой количество, требуемое для уменьшения общего количества переливаний крови, которые необходимы пациенту. В одном аспекте терапевтически эффективное количество находится в диапазоне 0,01-100 мг/кг веса тела/день представленного соединения, как, например, 0,1-100 мг/кг веса тела/день. В определенных вариантах осуществления терапевтически эффективное количество должно уменьшать общее количество переливаний крови, которые необходимы пациенту.

Как это используется в данном документе, уменьшение общего необходимого количества переливаний крови означает уменьшение по меньшей мере на 20% количества единиц RBC, переливание которых осуществляют в пределах по меньшей мере 5 недель лечения. В определенных вариантах осуществления уменьшение общего необходимого количества переливаний крови представляет собой уменьшение на ≥33% количества единиц RBC, переливание которых осуществляют в пределах по меньшей мере 5 недель лечения. В определенных вариантах осуществления уменьшение общего необходимого количества переливаний крови наблюдают через по меньшей мере 10 недель (например, по меньшей мере 20 недель или по меньшей мере 24 недели) лечения.

Используемые в данном документе серповидноклеточная анемия (SCD), заболевание, обусловленное генотипом SS гемоглобина, и дрепаноцитоз применяют взаимозаменяемо. Термин "серповидноклеточная анемия" (SCD) описывает группу наследственных нарушений со стороны эритроцитов. В определенных вариантах осуществления у субъектов с SCD в эритроцитах имеется аномальный гемоглобин, называемый гемоглобином S или гемоглобином серповидных эритроцитов. В определенных вариантах осуществления у людей с SCD имеется по меньшей мере один аномальный ген, обуславливающий про-

дуцирование гемоглобина S в организме. В определенных вариантах осуществления у людей с SCD имеется два гена гемоглобина S, генотип SS гемоглобина.

Талассемия представляет собой наследственное нарушение со стороны крови, при котором в организме продуцируется аномальная форма гемоглобина. В определенных вариантах осуществления аномальная форма гемоглобина приводит в результате к дефициту либо альфа-, либо бета-глобина. В определенных вариантах осуществления нарушение приводит в результате к разрушению больших количеств эритроцитов, что вызывает анемию. В определенных вариантах осуществления талассемия представляет собой альфа-талассемию. В определенных вариантах осуществления талассемия представляет собой бета-талассемию.

Как это используется в данном документе, термин "активатор" означает средство, которое обеспечивает (на измеряемом уровне) увеличение активности пируваткиназы R дикого типа (wt PKR) или вызывает увеличение активности пируваткиназы R дикого типа (wt PKR) до уровня, который превышает исходные уровни активности wt PKR, или средство, которое обеспечивает (на измеряемом уровне) увеличение активности мутантной формы пируваткиназы R (mPKR) или вызывает увеличение активности мутантной формы пируваткиназы R (mPKR) до уровня, который превышает исходные уровни активности мутантной формы PKR, например, до уровня, который составляет 20%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 100% от активности PKR дикого типа.

Как это используется в данном документе, термин "эритроцитарная масса" или PRBC относится к эритроцитам, полученным из единицы цельной крови путем центрифугирования и удаления большей части плазмы крови. В определенных вариантах осуществления единица PRBC характеризуется гематокритным числом, составляющим по меньшей мере приблизительно 95%. В определенных вариантах осуществления единица PRBC характеризуется гематокритным числом, составляющим по меньшей мере приблизительно 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20% или 10%.

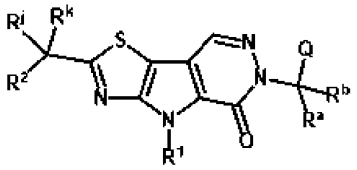
Как это используется в данном документе, термин "ex vivo" в отношении способа означает, что способ осуществляют вне организма. Например, клетку (например, эритроциты), ткань или кровь (содержащие по меньшей мере эритроциты, плазму и гемоглобин) можно выделить из организма для приведения в контакт с одним или более соединениями, представленными в данном документе, или их фармацевтически приемлемой солью или фармацевтической композицией на их основе необязательно в искусственно контролируемых условиях (например, температуре).

Как это используется в данном документе, термин "in vitro" в отношении способа означает, что способ осуществляют вне организма и он изолирован в пределах искусственной среды. Например, клетку (например, эритроциты) ткань или кровь (содержащие по меньшей мере эритроциты, плазму и гемоглобин) можно выделить из организма для приведения в контакт с одним или более соединениями, представленными в данном документе, или их фармацевтически приемлемой солью или фармацевтической композицией на их основе в изолированной искусственной среде (например, системе для культивирования), в частности, в пробирке, в культуре, в колбе, в микротитрационном планшете, на чашках Петри и т.п.

Соединения

В данном документе описаны соединения и композиции, которые активируют PKR дикого типа и/или мутантные формы PKR, в частности такие, которые описаны в данном документе. В одном варианте осуществления предусмотрено соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль или фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы (I)или его фармацевтически приемлемую соль.

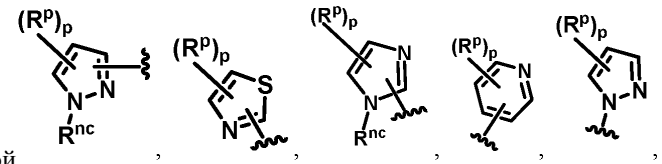
В первом варианте осуществления настоящего изобретения представлено соединение, представленное формулой (I)

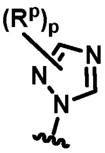
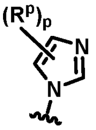
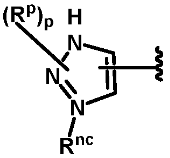
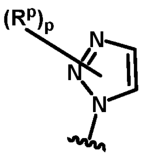
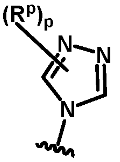
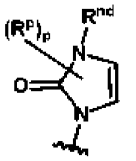


(I),

или его фармацевтически приемлемая соль, где

R^1 представляет собой C_1-C_6-алкил;

R^2 представляет собой 

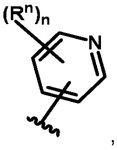
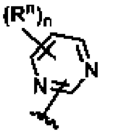
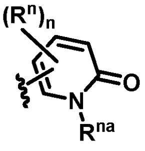

,

,

,

,

или

, где

каждый вариант R^p независимо представляет собой галоген, C_1-C_6-алкил, -OC_1.C_6-алкил, -NH_2, -NHC_1-C_6-алкил, -$N(C_1$-C_6-алкил$)_2$, -NO_2 или C_1-C_6-алкил, замещенный OH; или

R^{nc} представляет собой водород или -C_1-C_6-алкил;

R^{nd} представляет собой водород;

P равен 0, 1 или 2, как позволяет валентность;

Q представляет собой

,

или

;

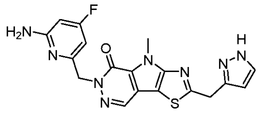
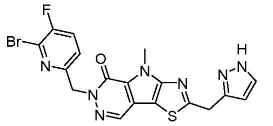
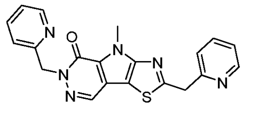
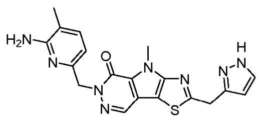
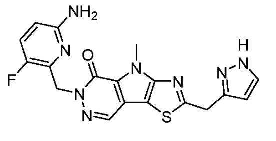
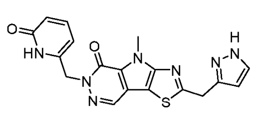
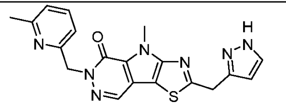
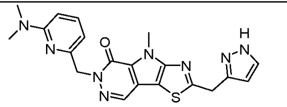
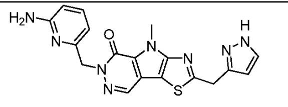
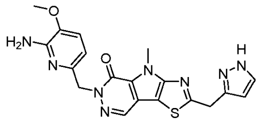
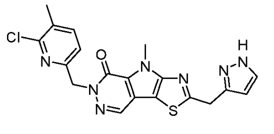
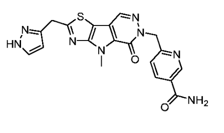
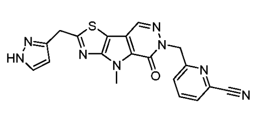
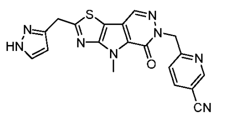
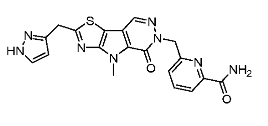
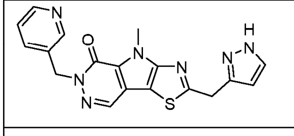
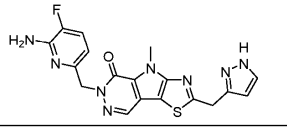
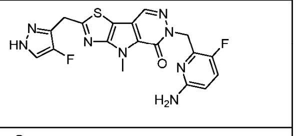
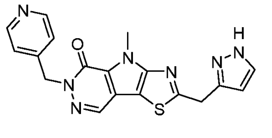
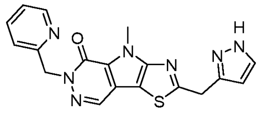
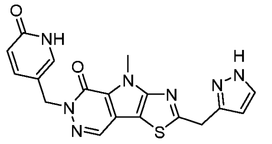
n равен 0, 1 или 2, как позволяет валентность;

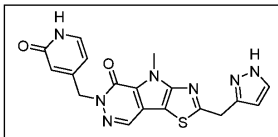
каждый R^n независимо представляет собой галоген, -OH, -CN, -NH_2, C_1-C_6-алкил, C_1-C_6-галогеналкил, -OC_1-C_6-алкил, -C(=O)NH_2, -C(=O)OH, -C_1-C_6-галогеналкокси, -$N(C_1$-C_6-алкил$)_2$, -NHOH, -NHC(=O)C_1-C_6-алкил, -NHC_1-C_6-алкил или C_1-C_6-алкил, замещенный OH, -C(=O)NH_2, NH_2 или -OC_1-C_6-алкилом;

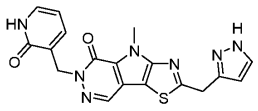
каждый R^{na} независимо представляет собой водород или -C_1-C_6-алкил; каждый из R^a и R^b представляет собой водород; и

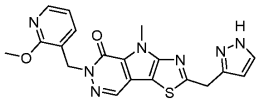
каждый из R^j и R^k представляет собой водород, OH, -OC_1-C_6-алкил, галоген, C_1.C_6-алкил; или в качестве альтернативы R^j и R^k, взятые вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, могут образовывать C=O.

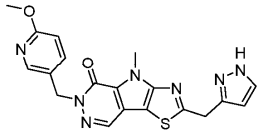
Во втором варианте осуществления настоящего изобретения представлено соединение, представленное формулой (I), или его фармацевтически приемлемая соль, соединение выбрано из следующих:

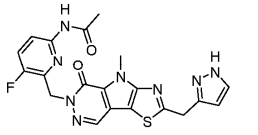
		
		
		
		
		
		
		

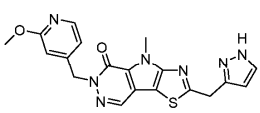


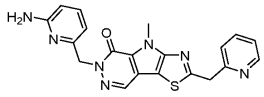


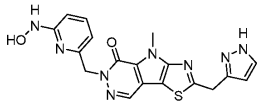


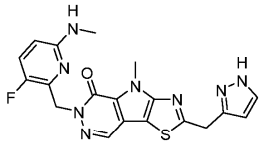


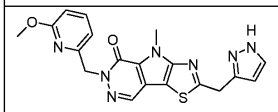


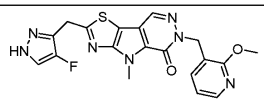


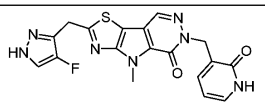


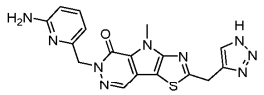


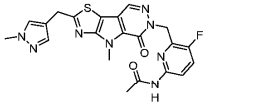


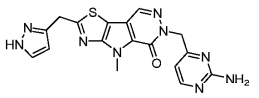


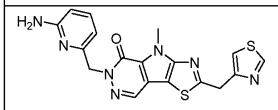


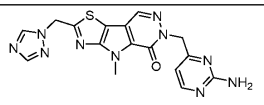


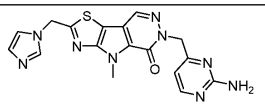


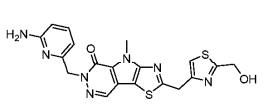


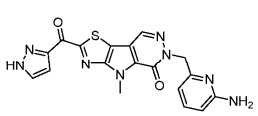


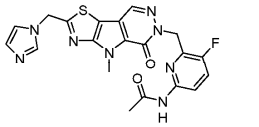


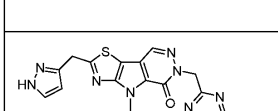


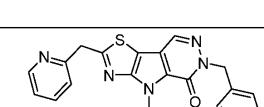


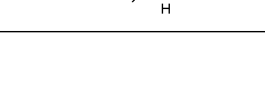


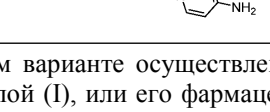


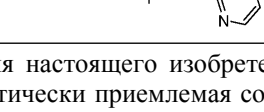


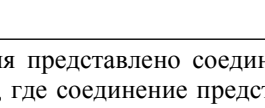


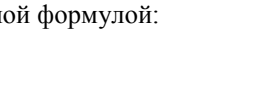


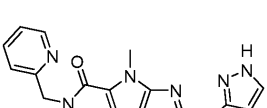


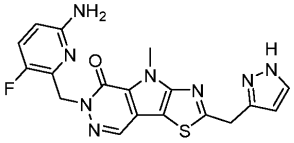


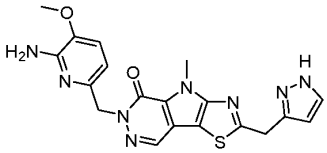










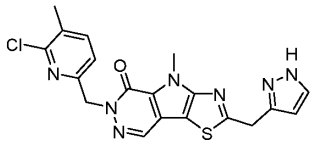


В третьем варианте осуществления настоящего изобретения представлено соединение, представленное формулой (I), или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение представлено следующей структурной формулой:

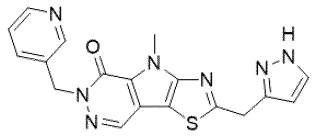
В четвертом варианте осуществления настоящего изобретения представлено соединение, представленное формулой (I), или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение представлено следующей структурной формулой:

В пятом варианте осуществления настоящего изобретения представлено соединение, представленное формулой (I), или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение представлено следующей структурной формулой:

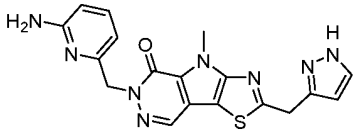
В шестом варианте осуществления настоящего изобретения представлено соединение, представленное формулой (I), или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение представлено следующей структурной формулой:



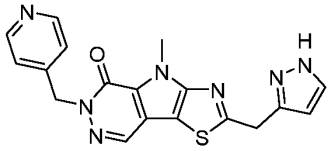
В седьмом варианте осуществления настоящего изобретения представлено соединение, представленное формулой (I), или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение представлено следующей структурной формулой:



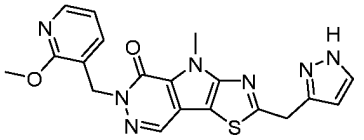
В восьмом варианте осуществления настоящего изобретения представлено соединение, представленное формулой (I), или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение представлено следующей структурной формулой:



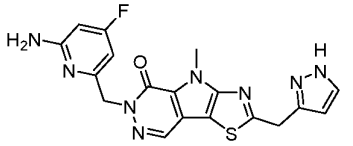
В девятом варианте осуществления настоящего изобретения представлено соединение, представленное формулой (I), или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение представлено следующей структурной формулой:



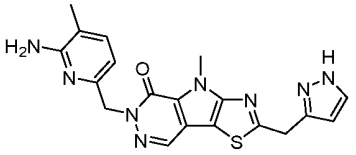
В десятом варианте осуществления настоящего изобретения представлено соединение, представленное формулой (I), или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение представлено следующей структурной формулой:



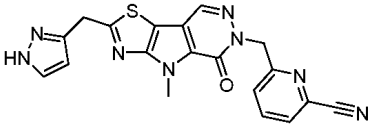
В одиннадцатом варианте осуществления настоящего изобретения представлено соединение, представленное формулой (I), или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение представлено следующей структурной формулой:



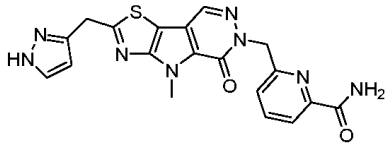
В двенадцатом варианте осуществления настоящего изобретения представлено соединение, представленное формулой (I), или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение представлено следующей структурной формулой:



В тринадцатом варианте осуществления настоящего изобретения представлено соединение, представленное формулой (I), или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение представлено следующей структурной формулой:

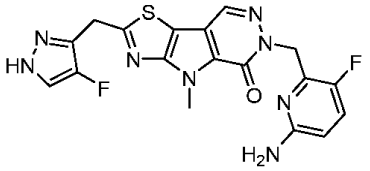


В четырнадцатом варианте осуществления настоящего изобретения представлено соединение, представленное формулой (I), или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение представлено следующей структурной формулой:



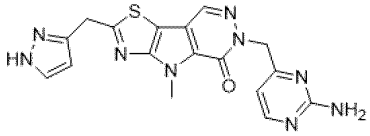
.

В пятнадцатом варианте осуществления настоящего изобретения представлено соединение, представленное формулой (I), или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение представлено следующей структурной формулой:



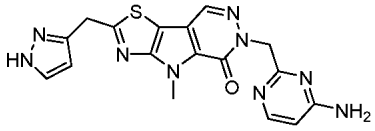
.

В шестнадцатом варианте осуществления настоящего изобретения представлено соединение, представленное формулой (I), или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение представлено следующей структурной формулой:



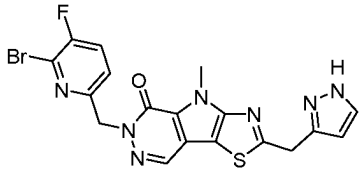
.

В семнадцатом варианте осуществления настоящего изобретения представлено соединение, представленное формулой (I), или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение представлено следующей структурной формулой:



.

В восемнадцатом варианте осуществления настоящего изобретения представлено соединение, представленное формулой (I), или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение представлено следующей структурной формулой:



.

В девятнадцатом варианте осуществления настоящего изобретения соединения, описанные в данном документе, применимы в качестве активаторов мутантных форм PKR, характеризующихся более низкими уровнями активности по сравнению с PKR дикого типа, таким образом, они являются применимыми для способов по настоящему изобретению. Такие мутации в PKR могут влиять на активность фермента (каталитическую эффективность), регуляторные свойства (модуляцию с помощью бисфосфата фруктозы (FBP)/ATP) и/или термостабильность фермента. Примеры таких мутаций описаны в Valentini et al, JBC 2002. Некоторые примеры мутантных форм, которые активируются соединениями, описанными в данном документе, включают G332S, G364D, T384M, R479H, R479K, R486W, R532W, K410E, R510Q и R490W. Без ограничения какой-либо теорией соединения, описанные в данном документе, влияют на уровни активности мутантных форм PKR путем активирования мутантных форм PKR, не восприимчивых к FBP, восстановления термостабильности у мутантных форм с пониженной стабильностью или восстановления каталитической эффективности у мутантных форм с нарушенной функцией. Активирующую активность соединений по настоящему изобретению в отношении мутантных форм PKR можно исследовать в соответствии со способом, описанным в примерах 11-17. Соединения, описанные в данном документе, также применимы в качестве активаторов PKR дикого типа.

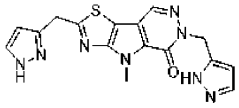
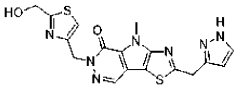
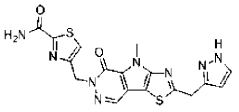
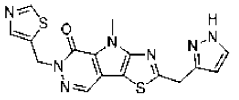
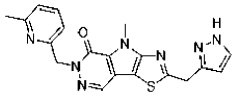
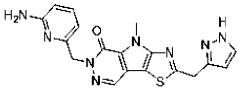
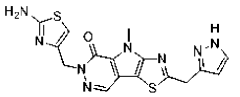
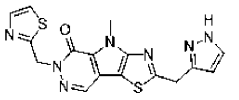
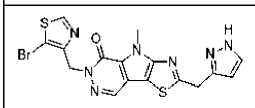
В одном варианте осуществления, чтобы увеличить продолжительность жизни эритроцитов, соединение, композицию или фармацевтическую композицию, описанные в данном документе, экстракорпорально добавляют непосредственно к цельной крови или эритроцитарной массе или обеспечивают их непосредственную доставку пациенту (например, путем и/п, в/в, в/м введения, перорального, ингаляционного (доставка в аэрозолизированном виде), трансдермального, подъязычного и других путей достав-

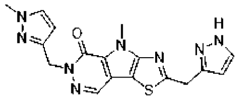
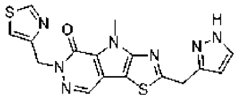
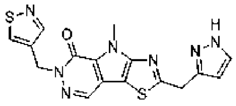
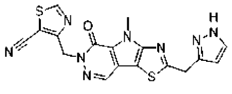
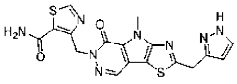
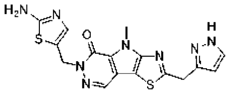
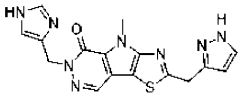
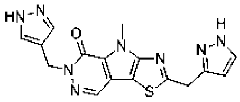
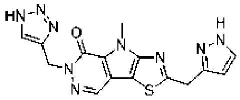
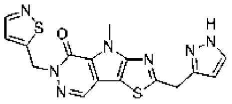
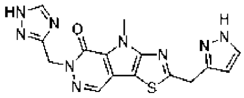
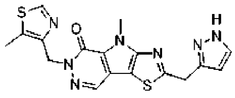
ки). Без ограничения какой-либо теорией соединения, описанные в данном документе, увеличивают продолжительность жизни RBC, и таким образом препятствуют старению крови при хранении, оказывая влияние на уровень 2,3-DPG и/или ATP из крови. Снижение уровня концентрации 2,3-DPG обуславливает сдвиг кривой диссоциации кислорода и гемоглобина влево и сдвигает аллостерическое равновесие к R- или окисленному, состоянию, обеспечивая таким образом терапевтическое ингибирование внутриклеточной полимеризации, которая лежит в основе образования серповидно-клеточных эритроцитов, путем увеличения сродства к кислороду за счет истощения запаса 2,3-DPG, стабилизируя тем самым более растворимый оксигемоглобин. Соответственно, в одном варианте осуществления соединения и фармацевтические композиции, описанные в данном документе, применимы в качестве средств против серповидноклеточной анемии. В другом варианте осуществления, чтобы обеспечить контроль 2,3-дифосфоглицерата, соединение, композицию или фармацевтическую композицию, описанные в данном документе, экстракорпорально добавляют непосредственно к цельной крови или эритроцитарной массе или обеспечивают их непосредственную доставку пациенту (например, путем и/п, в/в, в/м введения, перорального, ингаляционного (доставка в аэрозолизированном виде), трансдермального, подъязычного и других путей доставки). В другом варианте осуществления соединение, композиция или фармацевтическая композиция, описанные в данном документе, могут увеличивать уровень ATP и способствовать защите клеток от активных форм кислорода (Mol Cell. 2012 Oct 26; 48(2): 158-167).

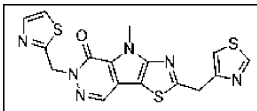
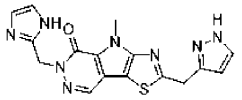
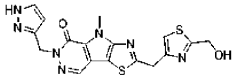
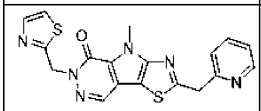
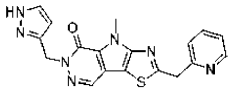
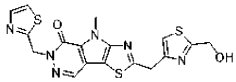
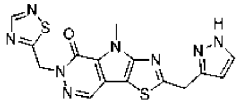
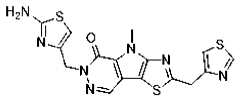
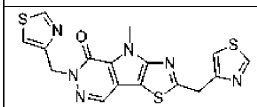
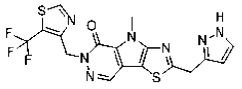
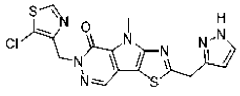
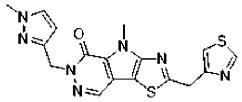
В табл. 1 соединение, описанное в данном документе, может характеризоваться AC_{50} PKR дикого типа, PKR K410E или PKR 510Q. "A" относится к AC_{50}, составляющей менее 0,300 мкМ; "B" относится к AC_{50}, составляющей от 0,301 мкМ до 0,800 мкМ; и "C" относится к AC_{50}, составляющей более 0,800 мкМ. AC_{50} PKR дикого типа для некоторых соединений дополнительно определяли в клеточном анализе ATP. "AA" относится к AC_{50}, равной 1 мкМ или меньше, и "BB" относится к AC_{50}, составляющей более 1 мкМ.

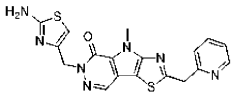
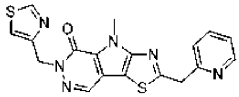
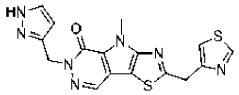
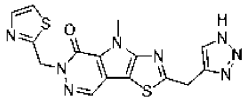
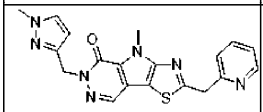
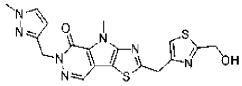
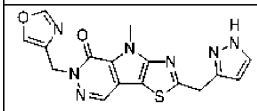
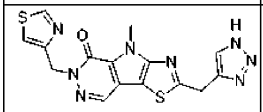
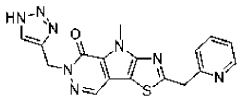
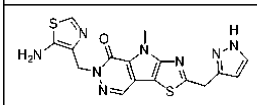
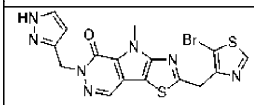
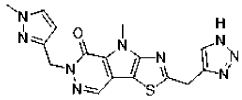
Таблица 1

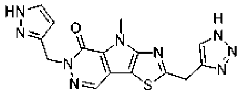
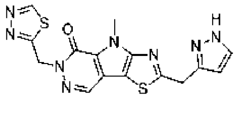
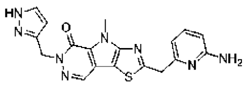
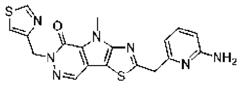
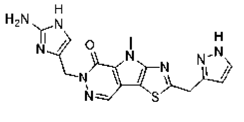
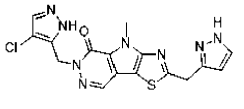
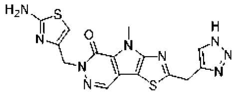
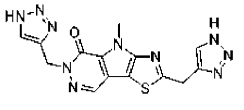
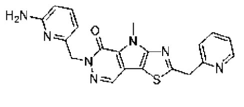
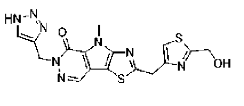
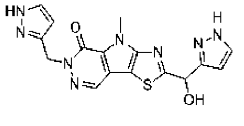
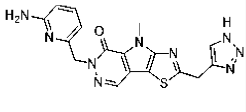
Активация PKR дикого типа и мутантной формы PKR с помощью иллюстративных соединений

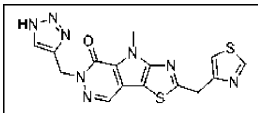
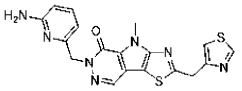
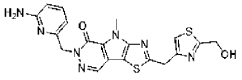
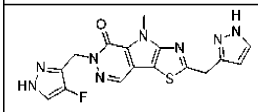
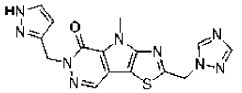
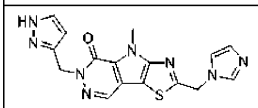
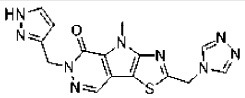
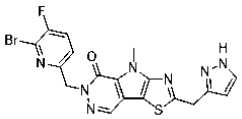
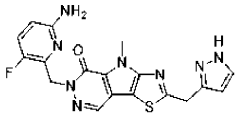
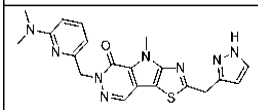
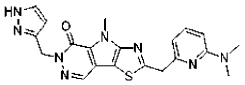
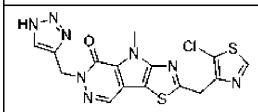
Соединение	**AC_{50} PKR WT**	**AC_{50} PKR K410E**	**AC_{50} PK R510Q**	**AC_{50} в клеточном анализе ATP**
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA

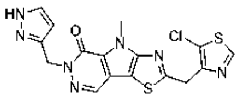
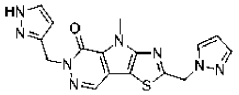
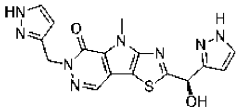
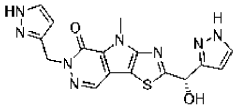
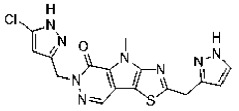
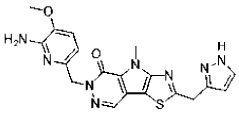
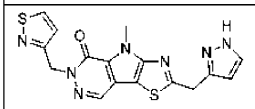
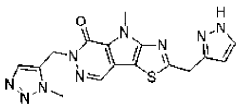
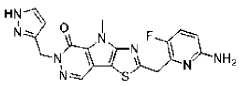
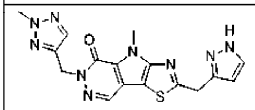
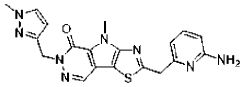
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA

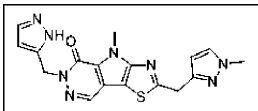
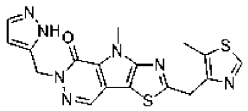
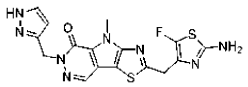
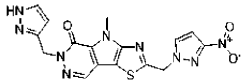
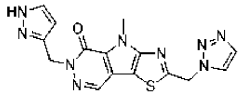
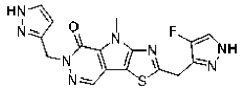
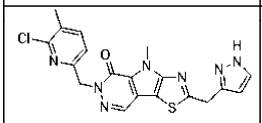
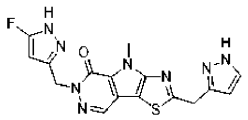
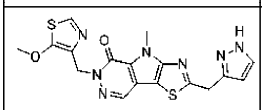
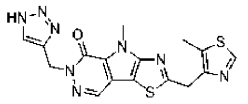
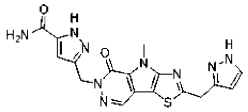
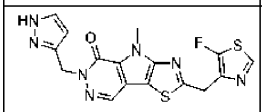
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	C	C	C	BB
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA

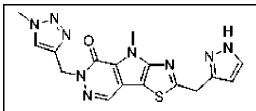
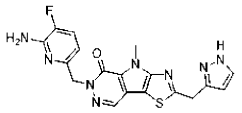
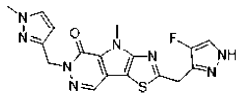
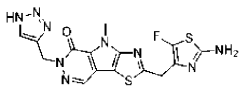
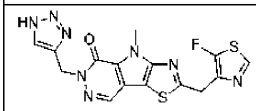
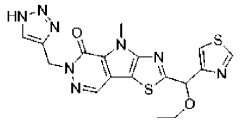
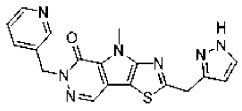
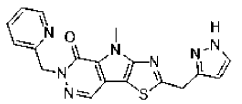
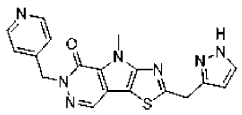
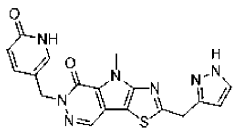
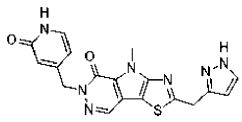
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	B	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA

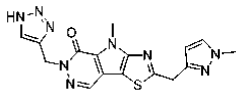
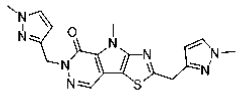
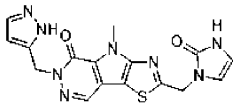
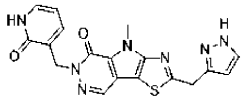
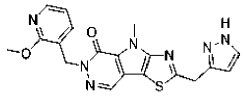
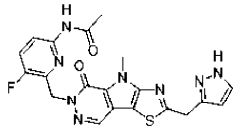
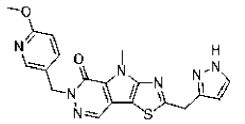
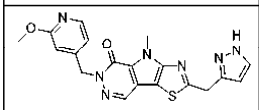
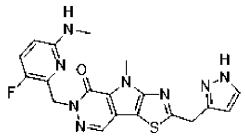
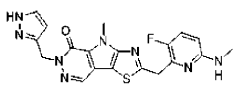
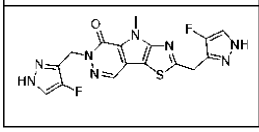
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA

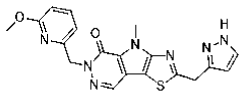
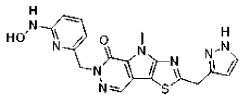
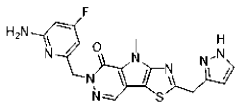
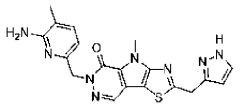
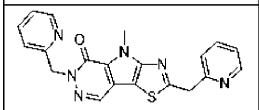
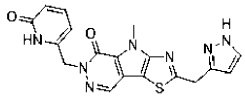
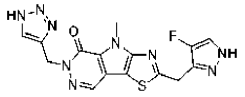
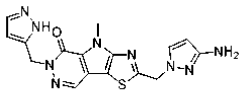
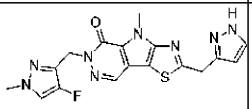
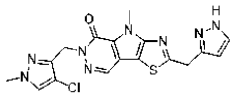
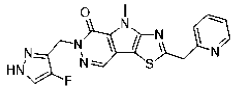
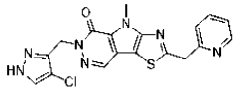
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	B	AA
	C	C	C	BB
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA

	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	C	C	C	BB
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA

	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	B	B	C	BB
	A	A	A	AA

	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	C	C	C	BB
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	B	AA

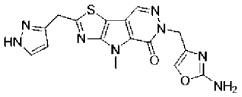
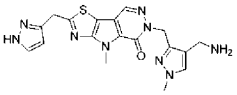
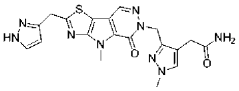
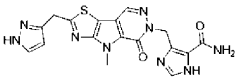
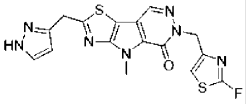
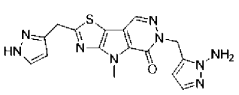
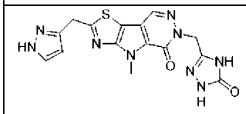
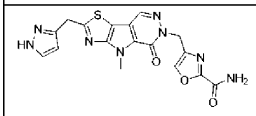
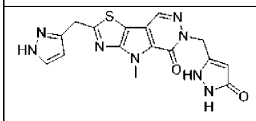
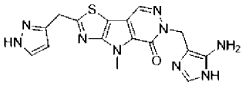
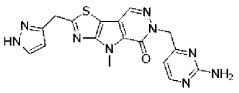
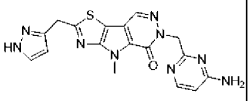
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	C	C	A	BB
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA

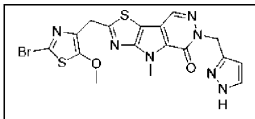
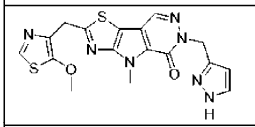
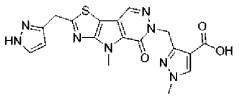
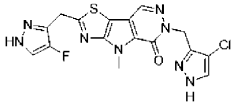
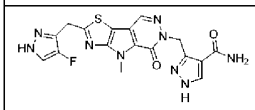
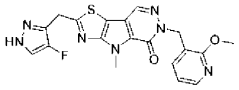
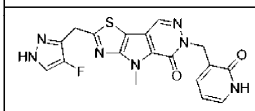
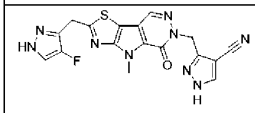
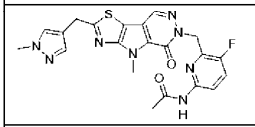
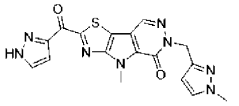
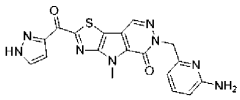
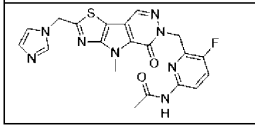
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	B	AA
	A	A	B	BB
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA

	A	A	A	AA
	C	B	C	BB
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA

	A	A	A	AA
	B	A	A	AA
	B	A	C	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA

	A	A	A	AA
	A	A	B	AA
	A	A	A	AA
	B	B	B	BB
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	C	C	C	BB
	A	A	A	AA
	B	B	B	BB

	A	A	A	AA
	C	C	A	BB
	C	C	C	BB
	B	B	C	BB
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	C	C	C	BB
	C*	C*	C*	AA
	B	B	A	BB
	B	B	B	BB
	A	A	A	AA
	A	B	A	AA

	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	C	C	C	BB
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	C	C	C	BB
	C*	C*	C*	AA
	B*	A*	A*	AA
	C	C	C	BB

	B	B	A	AA
	C	C	C	Не соответствует требованиям
	C	C	C	Не соответствует требованиям
	Не соответствует требованиям	Не соответствует требованиям	Не соответствует требованиям	Не соответствует требованиям
	A	A	A	AA
	A	A	A	AA
	B	C	B	AA

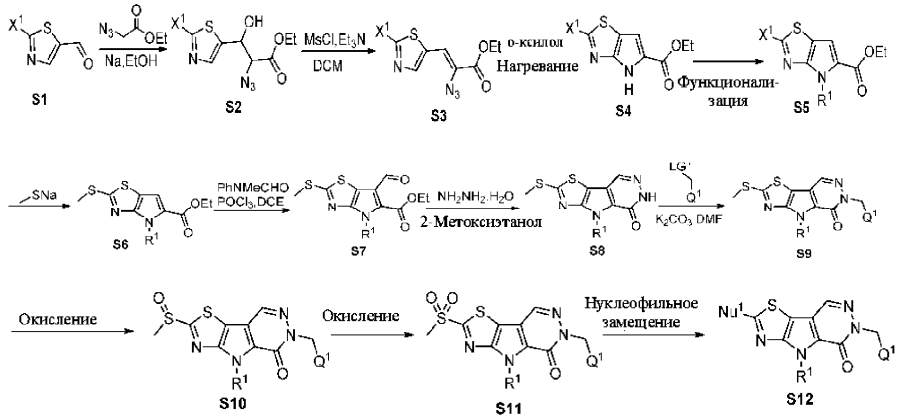
"*" означает, что значение основано на среднем значении результатов нескольких испытаний

Соединения, описанные в данном документе, можно получать с применением ряда методик синтеза, изложенных в примерах. Химические превращения при синтезе и методики, касающиеся защитных групп (введение защитной группы и удаление защитной группы), применимые в синтезе соединений, описанных в данном документе, известны в данной области техники и включают, например, такие, которые описаны в R. Larock, Comprehensive Organic Transformations, VCH Publishers (1989); T.W. Greene and P.G.M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 2-e Ed., John Wiley and Sons (1991); L. Fieser and M. Fieser, Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis, John Wiley and Sons (1994); and L. Paquette, ed., Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis, John Wiley and Sons (1995), а также в их последующих изданиях.

Некоторые соединения-активаторы, применимые в качестве активаторов PKR дикого типа и/или мутантной формы PKR, являются такими, которые демонстрируют специфичность в отношении фермента PKR (фермента дикого типа и/или мутантной формы фермента), и его активацию в отсутствие FBP до уровня, составляющего более 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 99 или 100% от уровня в присутствии FBP.

Синтез соединений по настоящему изобретению

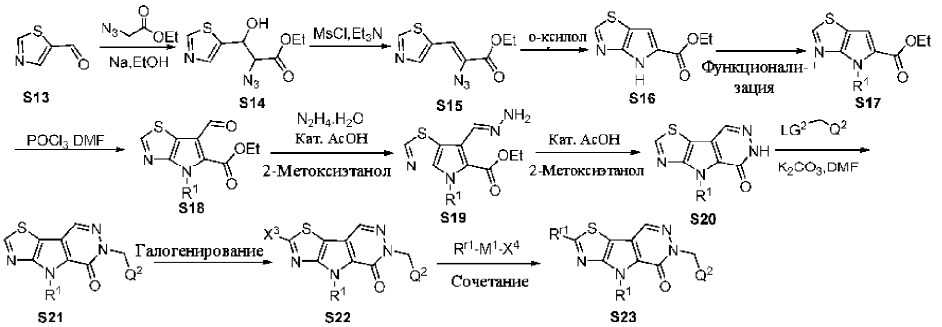
Схема 1



В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I) могут быть получены с использованием способов, проиллюстрированных на схеме 1. Тиазолилальдегид формулы S1 вступает в реакцию с этилазидоацетатом в условиях нуклеофильного присоединения (например, основания) в подходящем растворителе (например, этаноле) с получением промежуточных соединений формулы S2. Гидроксильная группа формулы S2 может быть преобразована в уходящую группу и подвержена элиминированию с

получением формулы S3. Замыкание цикла и последующая функционализация аминогруппы обеспечивают бициклическое соединение формулы S5, которое подвергается нуклеофильному замещению с помощью метантиолата натрия, а затем окислению с получением формулы S7. Дальнейшее замыкание цикла формулы S7 в присутствии гидразина с последующим нуклеофильным замещением с помощью LG^1-CH_2-Q^1 в присутствии основания обеспечивает промежуточные соединения формулы S9. Серосодержащая группа в формуле S9 может быть окислена до сульфинила или сульфонила с получением формулы S10 или S11, которая является субстратом для последующего нуклеофильного замещения с образованием общей формулы S12. Как это используется в данном документе, X^1 представляет собой уходящую группу, определенную в данном документе. В определенных вариантах осуществления X^1 представляет собой галоген, алкансульфонилокси, аренсульфонилокси, диазоний, алкилдиазен, арилдиазен, алкилтриазен, арилтриазен, нитро, алкилнитрат, арилнитрат, алкилфосфат, арилфосфат, алкилкарбонилокси, арилкарбонилокси, алкоксикарбонилокси, арилоксикарбонилокси аммиак, алкиламины, ариламины, гидроксильную группу, алкилоксигруппу, арилоксигруппу; LG^1 представляет собой уходящую группу, определенную в данном документе; Q^1 представляет собой необязательно замещенный циклоалкил, необязательно замещенный гетероциклил, необязательно замещенный арил или необязательно замещенный гетероарил (например, необязательно замещенный 5- или 6-членный моноциклический гетероарил); и Nu^1 представляет собой нуклеофил, определенный в данном документе (например, необязательно замещенный 5- или 6-членный моноциклический гетероарил алкилен). Nu^1 соединения формулы S12 может быть далее преобразовано в другие функциональные группы с помощью стандартных химических превращений. R^1 определен в первом варианте осуществления. В определенных вариантах осуществления Q^1 представляет собой необязательно замещенный гетероарил.

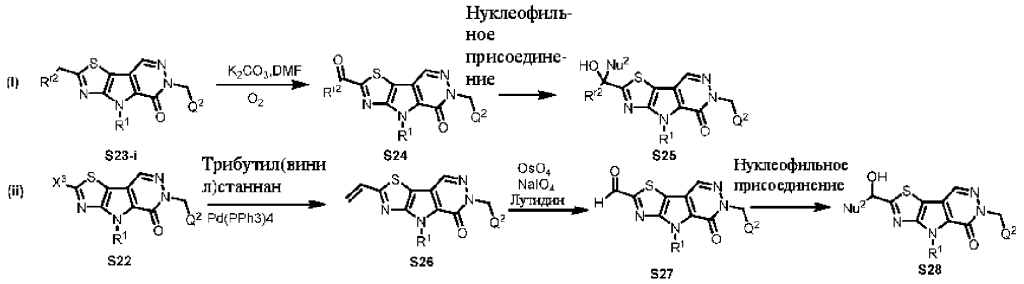
Схема 2



В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I) можно получить с применением способов, проиллюстрированных на схеме 2. Аналогично схеме 1 формулу S21 можно получить из тиазолальдегида формулы S13. Галогенирование формулы S21 дает формулу S22, которая может подвергаться реакции сочетания между органическими соединениями с помощью связи алкил-металл, алкенил-металл, алкинил-металл, арил-металл, гетероарил-металл, гетероциклил-металл или циклоалкил-металл с получением соединения формулы S23. Используемый в данном документе X^3 представляет собой галоген; R^1 определен в первом варианте осуществления настоящего изобретения; LG^2 представляет собой уходящую группу, определенную в данном документе; Q^2 представляет собой необязательно замещенный циклоалкил, необязательно замещенный гетероциклил, необязательно замещенный арил или необязательно замещенный гетероарил (например, необязательно замещенный 5- или 6-членный моноциклический гетероарил); M^1 представляет собой металл (например, Li, Na, K, Mg, Zn, Sn, B, Pd, Si, Cu и т.д.), X^4 представляет собой галоген или сложный алкиловый эфир сульфоновой кислоты или сложный ариловый эфир сульфоновой кислоты; R^{r1} представляет собой необязательно замещенный алкил, необязательно замещенный алкенил, необязательно замещенный алкинил, необязательно замещенный циклоалкил, необязательно замещенный гетероциклил, необязательно замещенный арил или необязательно замещенный гетероарил. В конкретных вариантах осуществления реакция сочетания между органическими соединениями представляет собой реакцию Негиши; X^3 представляет собой I; и M^1 представляет собой Zn.

Соединения формулы S22 и S23 являются применимыми промежуточными соединениями для введения большего количества функциональных групп в положении X^3 и/или R^{r1} (схема 3). В конкретных вариантах осуществления соединение формулы 23-i может быть дополнительно окислено с образованием формулы S24. Благодаря реакции нуклеофильного присоединения между S24 и подходящим нуклеофилом образуется соединение S25. В другом варианте осуществления соединения формулы S22 можно подвергать реакции сочетания между винилом и металлом для введения винильной группы в тиазольное кольцо. Окисление винильной группы с последующим нуклеофильным присоединением обеспечивает получение соединения формулы S28. Как это используется в данном документе, Nu^2 представляет собой нуклеофил. В определенных вариантах осуществления R^{r1} представляет собой необязательно замещенный 5- или 6-членный моноциклический гетероарилалкилен, и Q^2 представляет собой необязательно замещенный 5- или 6-членный моноциклический гетероарил.

Схема 3

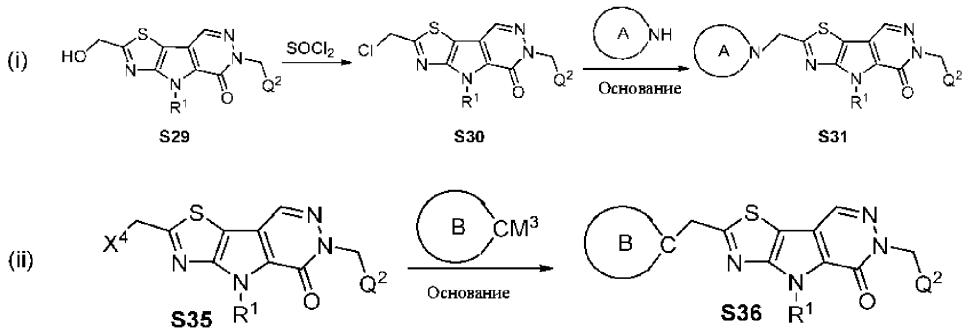


Как это используется в данном документе, R^{r2} представляет собой необязательно замещенный алкил, необязательно замещенный алкенил, необязательно замещенный алкинил, необязательно замещенный циклоалкил, необязательно замещенный гетероциклил, необязательно замещенный арил или необязательно замещенный гетероарил; и Q^2 определен на схеме 2. В определенных вариантах осуществления каждый из R^{r2} и Q^2 независимо представляет собой необязательно замещенный 5- или 6-членный моноциклический гетероарил.

Как это используется в данном документе, "нуклеофил" представляет собой химическую частицу, которая выступает в качестве донора электронной пары для электрофила с образованием химической связи в зависимости от реакции. Все молекулы или ионы со свободной парой электронов или по меньшей мере одной пи-связью могут выступать в качестве нуклеофилов. Иллюстративные нуклеофилы содержат по меньшей мере одну группу, обладающую нуклеофильной функциональностью, например, альфа-углеродный атом (например, атом углерода, смежный с карбонильной, сульфонильной, сульфинильной, арильной группой или гетероарилом), тиольную группу, гидроксильную группу, первичную аминогруппу, вторичную аминогруппу, галогенид, цианид, азид, алкоксид, металл органического соединения или неорганическое основание.

В некоторых вариантах осуществления соединения, описанные в данном документе, могут быть получены с использованием способов, показанных на схеме 4. Нуклеофильное замещение формул S30 и S33 с помощью вторичного циклического амина обеспечивает соответственно формулы S31 и S34. Реакции сочетания между органическими соединениями (например, реакция сочетания Сузуки, реакции сочетания Стилле и т.д.) в случае соединения S35 обеспечивают соединение формул S36(i)-(ii).

Схема 4



Как это используется в данном документе,  представляет собой 5- или 6-членное моноциклическое гетероарильное кольцо A с азотом в качестве атома кольца. Как это используется в данном документе,  представляет собой 5- или 6-членное моноциклическое гетероарильное кольцо B с точкой присоединения при атоме углерода в кольце.

R^1 определен в первом варианте осуществления. X^4 представляет собой галоген или -OTf. M^4 представляет собой металл органического соединения, при необходимости с подходящими лигандами (органическими или неорганическими), как позволяет валентность. Приведенный в качестве примера M^4 включает без ограничения Li, Sn, B (например, бороновые кислоты и сложные эфиры бороновой кислоты), Zn, Mg, Si, Pd и Cu органического соединения.

Способы лечения

В одном варианте осуществления представлен способ лечения анемии, предусматривающий введение соединения, фармацевтически приемлемой соли соединения или фармацевтической композиции, содержащей соединение, описанное в данном документе, (например, соединение формулы (I), представленное в примерах и в табл. 1 и на фиг. 1.

Соединения и композиции, описанные в данном документе, можно вводить в клетки в культуре, например in vitro или ex vivo, или субъекту, например in vivo, для лечения и/или диагностики ряда нарушений, включая описанные в данном документе ниже.

В одном варианте осуществления по настоящему изобретению представлен способ лечения серповидноклеточной анемии, предусматривающий введение нуждающемуся в этом субъекту эффективного количества (1) соединения, описанного в данном документе, (например, соединения формулы (I), представленного в примерах и в табл. 1 и на фиг. 1), или его фармацевтически приемлемой соли; (2) фармацевтически приемлемой композиции, содержащей соединение, описанное в данном документе, или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель.

Используемые в данном документе серповидноклеточная анемия (SCD), заболевание, обусловленное генотипом SS гемоглобина, и дрепаноцитоз используют взаимозаменяемо. Термин "серповидноклеточная анемия" (SCD) описывает группу наследственных нарушений со стороны эритроцитов. В определенных вариантах осуществления у субъектов с SCD в эритроцитах имеется аномальный гемоглобин, называемый гемоглобином S или гемоглобином серповидных эритроцитов. В определенных вариантах осуществления субъект с SCD имеет по меньшей мере один аномальный ген, обуславливающий продуцирование гемоглобина S в организме. В определенных вариантах осуществления у субъекта с SCD имеется два гена гемоглобина S, генотип SS гемоглобина.

В одном варианте осуществления по настоящему изобретению представлен способ лечения дефицита пируваткиназы (PKD) у субъекта, предусматривающий введение субъекту эффективного количества (1) соединения, описанного в данном документе (например, соединения формулы (I), представленного в примерах и в табл. 1 и на фиг. 1), или его фармацевтически приемлемой соли; (2) фармацевтически приемлемой композиции, содержащей соединение, описанное в данном документе, или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель.

Как это описано в данном документе, PKD представляет собой дефицит PKR. В определенных вариантах осуществления дефицит PKR ассоциирован с мутацией PKR. В определенных вариантах осуществления PKD относится к присутствию по меньшей мере 2 мутантных аллелей в гене PKLR. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере 1 из по меньшей мере 2 мутантных аллелей в гене PKLR представляет собой миссенс-мутацию. В определенных вариантах осуществления у пациента с PKD концентрация Hb равняется 10,0 г/дл или меньше. В определенных вариантах осуществления пациента не подвергали регулярной процедуре переливания крови (например, подвергали не более 4 процедурам переливания крови за 12-месячный период). В определенных вариантах осуществления пациента подвергали регулярной процедуре переливания крови (например, подвергали по меньшей мере 4 процедурам переливания крови за 12-месячный период). В определенных вариантах осуществления пациента подвергали регулярной процедуре переливания крови, при этом его подвергали по меньшей мере 6 процедурам переливания крови за 12-месячный период. В определенных вариантах осуществления у пациента, подвергавшегося регулярной процедуре переливания крови, концентрация гемоглобина (Hb) составляет ≤12,0 г/дл (у мужчин) или ≤11,0 г/дл (у женщин). Например, 15. В определенных вариантах осуществления пациента подвергали спленэктомии.

В одном варианте осуществления мутация PKR выбрана из группы, состоящей из A31V, A36G, G37Q, R40W, R40Q, L73P, S80P, P82H, R86P, I90N, T93I, G95R, M107T, G111R, A115P, S120F, H121Q, S130P, S130Y, V134D, R135D, A137T, G143S, I153T, A154T, L155P, G159V, R163C, R163L, T164N, G165V, L167M, G169G, E172Q, W201R, I219T, A221Y, D221N, G222A, I224T, G232C, N253D, G263R, G263W, E266K, V269F, L272V, L272P, G275R, G275R, E277K, V280G, D281N, F287V, F287L, V288L, D293N, D293V, A295I, A295V, I310N, I314T, E315K, N316K, V320L, V320M, S330R, D331N, D331G, D331E, G332S, V335M, A336S, R337W, R337P, R337Q, D339N, D339Q, G341A, G341D, I342F, K348N, A352D, I357T, G358R, G358E, R359C, R359H, C360Y, N361D, G364D, K365M, V368F, T371I, L374P, S376I, T384M, R385W, R385K, E387G, D390N, A392T, N393D, N393S, N393K, A394S, A394D, A394V, V395L, D397V, G398A, M403I, G406R, E407K, E407G, T408P, T408A, T408I, K410E, G411S, G411A, Q421K, A423A, A423A, R426W, R426Q, E427A, E427N, A431T, R449C, I457V, G458D, A459V, V460M, A468V, A468G, A470D, T477A, R479C, R479H, S485F, R486W, R486L, R488Q, R490W, I494T, A495T, A495V, R498C, R498H, A503V, R504L, Q505E, V506I, R510Q, G511R, G511E, R518S, R531C, R532W, R532Q, E538D, G540R, D550V, V552M, G557A, R559G, R559P, N566K, M568V, R569Q, R569L, Q58X, E174X, W201X, E241X, R270X, E440X, R486X, Q501X, L508X, R510X, E538X, R559X. Такие мутации описаны в Canu et.al., Blood Cells, Molecules and Diseases 2016, 57, pp. 100-109. В одном варианте осуществления мутантная форма PKR выбрана из G332S, G364D, T384M, K410E, R479H, R479K, R486W, R532W, R510Q и R490W. В определенных вариантах осуществления мутантная форма PKR выбрана из A468V, A495V, I90N, T408I, и Q421K, и R498H. В определенных вариантах осуществления мутантная форма PKR представляет собой R532W, K410E или R510Q.

В одном варианте осуществления по настоящему изобретению представлен способ лечения анемии у субъекта, предусматривающий введение субъекту эффективного количества (1) соединения, описанного в данном документе (например, соединения формулы (I), представленного в примерах и в табл. 1 и на фиг. 1), или его фармацевтически приемлемой соли; (2) фармацевтически приемлемой композиции, содержащей соединение, описанное в данном документе, или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель. В определенных вариантах осуществления анемия представляет собой дизэритропоэтическую анемию, такую как врожденная дизэритропоэтическая анемия типа I, II, III

или IV. В определенных вариантах осуществления анемия представляет собой гемолитическую анемию. В определенных вариантах осуществления гемолитическая анемия представляет собой врожденную и/или наследственную форму гемолитической анемии, такую как PKD, серповидноклеточная анемия, талассемии (например, альфа или бета), наследственный сфероцитоз, наследственный эллиптоцитоз, пароксизмальная ночная гемоглобинурия, абеталипопротеинемия (синдром Бассена-Корнцвейга). В определенных вариантах осуществления гемолитическая анемия представляет собой приобретенную гемолитическую анемию, как, например, аутоиммунную гемолитическую анемию, гемолитическую анемию, индуцированную лекарственным средством. В определенных вариантах осуществления гемолитическая анемия представляет собой анемию, являющуюся составляющей мультисистемного заболевания, такую как анемия при врожденной эритропоэтической протопорфирии, анемия Фанкони, анемия Даймонда-Блекфена.

Как это используется в данном документе, термин "анемия" относится к дефициту эритроцитов (RBC) и/или гемоглобина. Как это используется в данном документе, анемия включает все типы клинически выраженной анемии, например (без ограничения): микроцитарную анемию, железодефицитную анемию, гемоглобинопатии, нарушение синтеза гема, нарушение синтеза глобина, сидеробластную анемию, нормоцитарную анемию, анемию при хроническом заболевании, апластическую анемию, гемолитическую анемию, макроцитарную анемию, мегалобластическую анемию, пернициозную анемию, диморфную анемию, анемию у недоношенных, анемию Фанкони, наследственный сфероцитоз, серповидноклеточную анемию, аутоиммунную гемолитическую анемию теплого типа, гемолитическую анемию с Холодовыми агглютининами, остеопетроз, талассемию и миелодиспластический синдром.

В определенных вариантах осуществления анемию можно диагностировать по развернутому клиническому анализу крови. В определенных вариантах осуществления анемию можно диагностировать на основе измерения одного или более маркеров гемолиза (например, количества RBC, гемоглобина, ретикулоцитов, шистоцитов, лактатдегидрогеназы (LDH), гаптоглобина, билирубина и ферритина), и/или среднего объема эритроцита (MCV) при гемосидеринурии, и/или ширины распределения эритроцитов по объему (RDW). В контексте настоящего изобретения анемия присутствует в том случае, если концентрация гемоглобина (Hb) у индивидуума находится на уровне, ниже требуемого, например концентрация Hb составляет менее 14 г/дл, более предпочтительно менее 13 г/дл, более предпочтительно менее 12 г/дл, более предпочтительно менее 11 г/дл или наиболее предпочтительно менее 10 г/дл.

В определенных вариантах осуществления в данном документе представлен способ увеличения количества гемоглобина у субъекта путем введения ему эффективного количества соединения, описанного в данном документе, или его фармацевтически приемлемой соли или фармацевтически приемлемой композиции на его основе. В определенных вариантах осуществления представленный способ обеспечивает увеличение концентрации гемоглобина у субъекта. В определенных вариантах осуществления представленный способ обеспечивает увеличение концентрации Hb до необходимого уровня, например до уровня выше 10 г/дл, более предпочтительно выше 11 г/дл, более предпочтительно выше 12 г/дл, более предпочтительно выше 13 г/дл или наиболее предпочтительно выше 14 г/дл. В определенных вариантах осуществления представленный способ обеспечивает увеличение концентрации Hb на по меньшей мере приблизительно 0,5 г/дл. В определенных вариантах осуществления представленный способ обеспечивает увеличение концентрации Hb на по меньшей мере приблизительно 1,0 г/дл. В определенных вариантах осуществления представленный способ обеспечивает увеличение концентрации Hb на по меньшей мере приблизительно 1,5 г/дл. В определенных вариантах осуществления представленный способ обеспечивает увеличение концентрации Hb на по меньшей мере приблизительно 2,0 г/дл. В определенных вариантах осуществления представленный способ обеспечивает увеличение концентрации Hb на по меньшей мере приблизительно 2,5 г/дл. В определенных вариантах осуществления представленный способ обеспечивает увеличение концентрации Hb на по меньшей мере приблизительно 3,0 г/дл. В определенных вариантах осуществления представленный способ обеспечивает увеличение концентрации Hb на по меньшей мере приблизительно 3,5 г/дл. В определенных вариантах осуществления представленный способ обеспечивает увеличение концентрации Hb на по меньшей мере приблизительно 4,0 г/дл. В определенных вариантах осуществления представленный способ обеспечивает увеличение концентрации Hb на по меньшей мере приблизительно 4,5 г/дл. В определенных вариантах осуществления представленный способ обеспечивает увеличение концентрации Hb на по меньшей мере приблизительно 5,0 г/дл. В определенных вариантах осуществления представленный способ обеспечивает увеличение концентрации Hb на по меньшей мере приблизительно 5,5 г/дл. В определенных вариантах осуществления представленный способ обеспечивает увеличение концентрации Hb на по меньшей мере приблизительно 6,0 г/дл.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения представлен способ лечения гемолитической анемии, предусматривающий введение субъекту эффективного количества (1) соединения, описанного в данном документе (например, соединения формул (I)-(V), представленного в примерах и в табл. 1 и на фиг. 1), или его фармацевтически приемлемой соли; (2) фармацевтически приемлемой композиции, содержащей соединение, описанное в данном документе, или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель.

В дополнительном варианте осуществления гемолитическая анемия представляет собой наследст-

венную и/или врожденную гемолитическую анемию, приобретенную гемолитическую анемию или анемию, являющуюся составляющей мультисистемного заболевания. В определенных вариантах осуществления гемолитическая анемия представляет собой врожденную анемию. В определенных вариантах осуществления гемолитическая анемия является наследственной (например, несфероцитарная гемолитическая анемия или наследственный сфероцитоз).

В одном варианте осуществления по настоящему изобретению представлен способ лечения талассемии; наследственного сфероцитоза; наследственного эллиптоцитоза; абеталипопротеинемии или синдрома Бассена-Корнцвейга; пароксизмальной ночной гемоглобинурии; приобретенной гемолитической анемии (например, врожденных анемий (например, энзимопатий)); серповидноклеточной анемии или анемии при хронических заболеваниях, предусматривающий введение субъекту эффективного количества (1) соединения, описанного в данном документе (например, соединения формул (I)-(V), представленного в примерах и в табл. 1 и на фиг. 1), или его фармацевтически приемлемой соли; (2) фармацевтически приемлемой композиции, содержащей соединение, описанное в данном документе, или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель. В одном варианте осуществления приобретенная гемолитическая анемия включает врожденные анемии. В определенных вариантах осуществления представленный способ является способом лечения талассемии. В определенных вариантах осуществления талассемия представляет собой бета-талассемию.

Как это используется в данном документе, талассемия представляет собой наследственное нарушение со стороны крови, при котором в организме вырабатывается аномальная форма гемоглобина. В определенных вариантах осуществления нарушение приводит в результате к разрушению больших количеств эритроцитов, что вызывает анемию. В определенных вариантах осуществления талассемия представляет собой альфа-талассемию. В определенных вариантах осуществления талассемия представляет собой бета-талассемию.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения представлен способ активации мутантной формы PKR в эритроцитах, предусматривающий введение нуждающемуся в этом субъекту эффективного количества (1) соединения, описанного в данном документе (например, соединения формулы (I) в примерах и в табл. 1 и на фиг. 1), или его фармацевтически приемлемой соли; (2) фармацевтически приемлемой композиции, содержащей соединение, описанное в данном документе, или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель. В одном варианте осуществления способ представляет собой способ ex vivo. В другом варианте осуществления способ представляет собой способ in vitro. В некоторых вариантах осуществления кровь или эритроциты получают от или выделяют у субъекта, страдающего от заболевания или нарушения или предрасположенного к такому, которое выбрано из группы, состоящей из дефицита пируваткиназы (PKD), талассемии (например, бета-талассемии), наследственного сфероцитоза, наследственного эллиптоцитоза, абеталипопротеинемии или синдрома Бассена-Корнцвейга, серповидноклеточной анемии, пароксизмальной ночной гемоглобинурии, анемии (например, дизэритропоэтической анемии), гемолитической анемии и анемии при хронических заболеваниях. В некоторых вариантах осуществления гемолитическая анемия представляет собой наследственную и/или врожденную гемолитическую анемию, приобретенную гемолитическую анемию или анемию, являющуюся составляющей мультисистемного заболевания.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения представлен способ активации PKR дикого типа в эритроцитах, предусматривающий введение нуждающемуся в этом субъекту эффективного количества (1) соединения, описанного в данном документе, (например, соединения формулы (I) в примерах и в табл. 1 и на фиг. 1), или его фармацевтически приемлемой соли; (2) фармацевтически приемлемой композиции, содержащей соединение, описанное в данном документе, или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель. В одном варианте осуществления способ представляет собой способ ex vivo. В другом варианте осуществления способ представляет собой способ in vitro. В некоторых вариантах осуществления кровь или эритроциты получают от или выделяют у субъекта, страдающего от заболевания или нарушения или предрасположенного к такому, которое выбрано из группы, состоящей из дефицита пируваткиназы (PKD), талассемии (например, бета-талассемии), наследственного сфероцитоза, наследственного эллиптоцитоза, абеталипопротеинемии или синдрома Бассена-Корнцвейга, серповидноклеточной анемии, пароксизмальной ночной гемоглобинурии, анемии (например, дизэритропоэтической анемии), гемолитической анемии и анемии при хронических заболеваниях. В некоторых вариантах осуществления гемолитическая анемия представляет собой наследственную и/или врожденную гемолитическую анемию, приобретенную гемолитическую анемию или анемию, являющуюся составляющей мультисистемного заболевания.

В одном варианте осуществления по настоящему изобретению представлено применение (1) соединения, описанного в данном документе (например, соединения формулы (I), представленного в примерах и в табл. 1 и на фиг. 1), или его фармацевтически приемлемой соли; (2) фармацевтически приемлемой композиции, содержащей соединение, описанное в данном документе, или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель для получения лекарственного препарата для увеличения продолжительности жизни эритроцитов (RBC), в отношении которых это необходимо.

В дополнительном варианте осуществления соединение или фармацевтическая композиция состав-

лены для экстракорпорального непосредственного добавления к цельной крови или эритроцитарной массе. В другом варианте осуществления соединение или фармацевтическая композиция составлены для введения нуждающемуся в этом субъекту.

Поскольку соединения и композиции, описанные в данном документе, воздействуют на один и тот же биологический путь и имеют аналогичный механизм действия, как и соединения, описанные в WO 2012/151451, то соединения и композиции, представленные в данном документе, могут активировать мутантные формы PKR, как это описано в WO 2012/151451.

Композиции и пути введения

Композиции, установленные в данном документе, включают соединения, установленные в данном документе (например, соединение, описанное в данном документе), а также дополнительные терапевтические средства, в случае их наличия, в количествах, эффективных для обеспечения модуляции заболевания или симптомов заболевания, в том числе описываемых в данном документе.

Термин "фармацевтически приемлемый носитель или вспомогательное вещество" относится к носителю или вспомогательному веществу, которые можно вводить пациенту вместе с соединением, представленным в данном документе, и которые не подавляют его фармакологическую активность и являются нетоксичными при введении в дозах, достаточных для доставки терапевтического количества соединения.

Фармацевтически приемлемые носители, вспомогательные вещества и среды-носители, которые можно применять в фармацевтических композициях, предусмотренных в данном документе, включают без ограничения ионообменные смолы, оксид алюминия, стеарат алюминия, лецитин, самоэмульгирующиеся системы доставки лекарственного средства (SEDDS), такие как d-α-токоферол-полиэтиленгликоль 1000-сукцинат, поверхностно-активные вещества, применяемые в фармацевтических лекарственных формах, такие как виды Tween или другие аналогичные полимерные матрицы для доставки, сывороточные белки, такие как человеческий сывороточный альбумин, буферные вещества, такие как фосфаты, глицин, сорбиновая кислота, сорбат калия, смеси неполных глицеридов насыщенных жирных кислот растительного происхождения, воду, соли или электролиты, такие как протаминсульфат, двузамещенный фосфорнокислый натрий, фосфорнокислый калий, хлорид натрия, соли цинка, коллоидный диоксид кремния, трисиликат магния, поливинилпирролидон, вещества на основе целлюлозы, полиэтиленгликоль, карбоксиметилцеллюлозу натрия, полиакрилаты, воски, блок-сополимеры полиэтилена и полиоксипропилена, полиэтиленгликоль и ланолин. Циклодекстрины, такие как α-, β- и γ-циклодекстрин, или химически модифицированные производные, такие как гидроксиалкилциклодекстрины, в том числе 2- и 3-гидроксипропил-β-циклодекстрины, или другие солюбилизированные производные также можно успешно применять для улучшения доставки соединений формул, описанных в данном документе.

Фармацевтические композиции, предусмотренные в данном документе, можно вводить перорально, парентерально, путем ингаляционного распыления, путем местного нанесения, ректально, назально, буккально, вагинально или посредством имплантированного депо, предпочтительно, путем перорального введения или введения инъекцией. Фармацевтические композиции, предусмотренные в данном документе, могут содержать любые традиционные нетоксичные фармацевтически приемлемые носители, вспомогательные вещества или среды-носители.

Фармацевтические композиции, предусмотренные в данном документе, можно вводить перорально в любой подходящей для перорального введения лекарственной форме, в том числе без ограничения в капсулах, таблетках, эмульсиях и водных суспензиях, дисперсиях и растворах. В случае таблеток для перорального применения обычно применяемые носители включают лактозу и кукурузный крахмал. Также, как правило, добавляют смазывающие средства, такие как стеарат магния. Для перорального введения в форме капсулы применимые разбавители включают лактозу и сухой кукурузный крахмал. Если водные суспензии и/или эмульсии вводят перорально, активный ингредиент может быть супендирован или растворен в масляной фазе, объединенной с эмульгирующими и/или суспендирующими средствами.

Если композиции, представленные в данном документе, содержат комбинацию соединения формул, описанных в данном документе, и одного или более дополнительных терапевтических или профилактических средств, то как соединение, так и дополнительное средство должны присутствовать при уровнях дозы, составляющих от приблизительно 1 до 100% и более предпочтительно от приблизительно 5 до 95% от дозы, обычно вводимой согласно схеме монотерапии. Дополнительные средства можно вводить отдельно, как часть схемы с несколькими дозами, от соединений, предусмотренных в данном документе. Альтернативно эти средства могут составлять часть единой лекарственной формы, смешанные вместе с соединениями, предусмотренными в данном документе, в единой композиции.

Соединения, описанные в данном документе, например, можно вводить путем инъекции, внутривенно, внутриартериально, субдермально, внутрибрюшинно, внутримышечно или подкожно; или перорально, трансбуккально, назально, трансмукозально, местно, в виде офтальмического препарата или путем ингаляции в дозе, находящейся в диапазоне от приблизительно 0,5 до приблизительно 100 мг/кг массы тела, альтернативно в дозах, находящихся в диапазоне от 1 мг до 1000 мг/доза, каждые 4-120 ч или согласно требованиям для конкретного лекарственного средства. Количество активного ингредиента, который можно комбинировать с материалами носителя для получения одиночной лекарственной фор-

мы, будет варьировать в зависимости от реципиента, получающего лечение, и конкретного способа введения. Типичный препарат будет содержать от приблизительно 5% до приблизительно 95% активного соединения (вес/вес). Альтернативно такие препараты содержат от приблизительно 20% до приблизительно 80% активного соединения.

Экспериментальная часть

Перечень сокращений.

Сокр.	**Полное название**	**Сокр.**	**Полное название**
безводн.	безводный	водн.	водный
мин.	минута (минуты)	насыщ.	насыщенный
мл	миллилитр	ч.	часы
ммоль	миллимоль(-и)	моль	моль(-и)
MS	масс-спектрометрия	ЯМР	ядерный магнитный резонанс
TLC	тонкослойная хроматография	HPLC	высокоэффективная жидкостная хроматография
LCMS	жидкостная хроматография - масс-спектрометрия	MTBE	метил-трет-бутиловый эфир
DAST	диэтиламиносератрифторид	$CHCl_3$	хлороформ
DCM	дихлорметан	DMF	диметилформамид
Et2O	диэтиловый эфир	EtOH	этиловый спирт
EtOAc	этилацетат	MeOH	метиловый спирт
MeCN	ацетонитрил	PE	петролейный эфир
THF	тетрагидрофуран	DMSO	диметилсульфоксид
AcOH	уксусная кислота	HCl	хлористоводородная кислота
H_2SO_4	серная кислота	NH_4Cl	хлорид аммония
KOH	гидроксид калия	NaOH	гидроксид натрия
K_2CO_3	карбонат калия	Na_2CO_3	карбонат натрия
TFA	трифторуксусная кислота	Na_2SO	сульфат натрия

		4	
$NaBH_4$	борогидрид натрия	$NaHCO_3$	бикарбонат натрия
LiHMDS	гексаметилдисилиламид лития	$NaBH_4$	борогидрид натрия
Et_3N или TEA	триэтиламин	Py или Pyr	пиридин
DMAP	4-(диметиламино)пиридин	DIPEA	N, N-диизопропилэтиламин
BINAP	2,2'бис(дифенилфосфанил) -1,1'-бинафтил	dppf	1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен
PEP	фосфо(енол)пировиноградная кислота	LDH	лактатдегидрогеназа
DTT	DL-дитиотреитол	BSA	бычий сывороточный альбумин
NADH	β-никотинамидадениндинуклеотид, восстановленный	SEM	2-(триметилсилил)этоксиметил
p-TsOH	p-Толуолсульфоновая кислота	DCE	1,2-дихлорэтан

Общая экспериментальная часть

В следующих примерах химические реагенты приобретали у коммерческих поставщиков (таких как Alfa, Acros, Sigma Aldrich, TCI и Shanghai Chemical Reagent Company) и применяли без дополнительной очистки. Флэш-хроматографию проводили на Ez Purifier III с помощью колонки с частицами силикагеля 200-300 меш. Планшеты для аналитической и препаративной тонкослойной хроматографии (TLC) представляли собой HSGF 254 (толщина 0,15-0,2 мм, Shanghai Anbang Company, Китай). Спектры ядерного магнитного резонанса (ЯМР) регистрировали с применением Brucker AMX-300 или AMX-400 ЯМР (Brucker, Швейцария). Химические сдвиги приведены в частях на миллион (ppm, 5) etero(ESI) и определены с использованием масс-спектрометра Waters LCT TOF (Waters, США). HPLC-хроматограммы регистрировали на установке для жидкостной хроматографии Agilent 1200 (Agilent, США, колонка: Ultimate 4,6 м × 50 мм, 5 М, подвижная фаза A: 0,1% муравьиная кислота в воде; подвижная фаза B: ацетонитрил). Реакции под воздействием микроволнового излучения проводили в микроволновом синтезаторе Initiator 2.5 (Biotage, Швеция).

Условия HPLC, используемые в экспериментах, описанных в данном документе, являются следующими.

Способ 1.

Прибор: Shimadzu LC-2010AHT.

Колонка: YMC-Triart C18, 50×4,6 мм, 5 мкм.

Подвижная фаза:

растворитель A: $H_2O/CH_3OH/TFA$=90/10/0,1,

растворитель B: $H_2O/CH_3OH/TFA$=90/10/0,1.

Скорость потока: 2,5 мл/мин; температура колонки: 35°C; длина волны: 220 нм/254 нм.

Способ 2.

Прибор: Shimadzu LC-2010AHT.

Колонка: YMC-Triart C18, 50×4,6 мм, 5 мкм.

Подвижная фаза:

растворитель A: $H_2O/CH_3OH/TFA$=90/10/0,1,

растворитель B: $H_2O/CH_3OH/TFA$=90/10/0,1.

Скорость потока: 2,5 мл/мин.; температура колонки: 35°C; длина волны: 220 нм/254 нм.

Условия препаративной HPLC, используемые в экспериментах, описанных в данном документе, являются следующими.

Прибор: Waters 2545B/2767.

Колонка: YMC-Triart C18, 50×4,6 мм, 5 мкм.

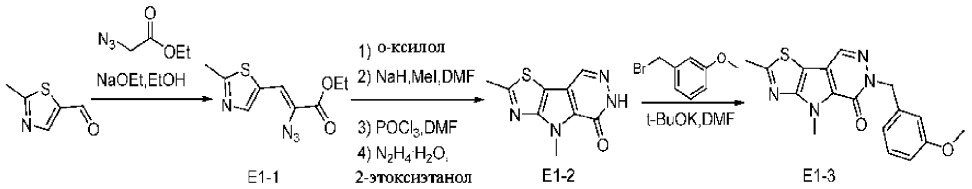
Подвижная фаза:

растворитель A: H_2O (0,1% FA),

растворитель B: CH_3OH или CH_3CN.

Скорость потока: 20 мл/мин; температура колонки: 35°C; длина волны: 220 нм/254 нм.

Пример 1. Синтез 6-(3-метоксибензил)-2,4-диметил-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-она.



Стадия A. Этил-(Z)-2-азидо-3-(2-метилтиазол-5-ил)акрилат.

К раствору NaOEt (803 мг, 11,79 ммоль) в EtOH (10 мл) при температуре от приблизительно -10°C до приблизительно -5°C добавляли по каплям раствор 2-метилтиазол-5-карбальдегида (500 мг, 3,93 ммоль) и этил-2-азидоацетата (1,53 г, 11,79 ммоль) в безводном EtOH (3 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение приблизительно 1 ч, при этом температуру поддерживали ниже 0°C, затем нагревали до к.т. и перемешивали в течение еще 2 ч. Полученную смесь выливали в насыщенный водный NH_4Cl (50 мл) при 0°C и экстрагировали с помощью EtOAc. Объединенные органические слои промывали солевым раствором, высушивали над безводным Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении с получением необходимого продукта (500 мг), который непосредственно применяли на следующей стадии без какой-либо очистки. LCMS: масса/заряд 239 $(M+H)^+$.

Стадия B. Этил-2-метил-4H-пирроло[2,3-d]тиазол-5-карбоксилат.

Смесь этил-(Z)-2-азидо-3-(2-метилтиазол-5-ил)акрилата (500 мг, 2,1 ммоль) в о-ксилоле (5 мл) перемешивали при 140°C в течение 2 ч, затем охлаждали до к.т., а затем непосредственно очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (элюент: пентан/EtOAc=6/1 с получением необходимого продукта (220 мг, выход 49,8%). LCMS: масса/заряд 211$(M+H)^+$.

Стадия C. Этил-2,4-диметил-4H-пирроло[2,3-d]тиазол-5-карбоксилат.

К раствору этил-2-метил-4H-пирроло[2,3-d]тиазол-5-карбоксилата (160 мг, 0,76 ммоль) в DMF (3 мл) при 0°C добавляли NaH (36,5 мг, 1,52 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при к.т. в течение 0,5 ч с последующим добавлением CH_3I (47 мкл, 0,76 ммоль). Полученную смесь перемешивали при к.т. в течение 0,5 ч, затем выливали в насыщенный водный NH_4Cl при 0°C и экстрагировали с помощью EtOAc. Объединенные органические слои промывали солевым раствором, высушивали над безводным Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (элюент: пентан/этилацетат=6/1) с получением необходимого продукта (124 мг, выход 72,6%). LCMS: масса/заряд 225 $(M+H)^+$.

Стадия D. Этил-6-формил-2,4-диметил-4H-пирроло[2,3-d]тиазол-5-карбоксилат.

К смеси этил-2,4-диметил-4H-пирроло[2,3-d]тиазол-5-карбоксилата (100 мг, 0,446 ммоль) в DMF (1 мл) при 0°C добавляли $POCl_3$ (122,5 мкл, 1,338 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 100°C в течение 2 ч, затем выливали в насыщенный водный $NaHCO_3$ при 0°C и экстрагировали с помощью EtOAc. Объединенные органические слои промывали солевым раствором, высушивали над безводным Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (элюент: пентан/этилацетат=5/1) с получением необходимого продукта (57 мг, выход 50,7%). LCMS: масса/заряд 253 $(M+H)^+$.

Стадия E. 2,4-Диметил-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-он.

К смеси этил-6-формил-2,4-диметил-4H-пирроло[2,3-d]тиазол-5-карбоксилата (57 мг, 0,226 ммоль) в 2-этоксиэтаноле (2 мл) добавляли $N_2H_4.H_2O$ (53,7 мкл, 1,130 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 100°C в течение 1 ч, затем выливали в H_2O и экстрагировали с помощью EtOAc. Объединенные органические слои промывали солевым раствором, высушивали над безводным Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (элюент: пентан/этилацетат=5/1) с получением необходимого продукта (49 мг, выход 98,4%). LCMS: масса/заряд 221 $(M+H)^+$.

Стадия F. 6-(3-Метоксибензил)-2,4-диметил-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-он.

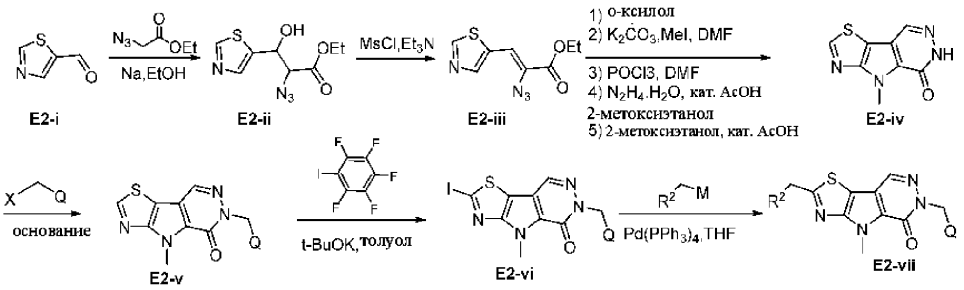
К смеси 2,4-диметил-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-она (49 мг, 0,223 ммоль) в DMF (1 мл) при 0°C добавляли t-BuOK (50,8 мг, 0,454 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при к.т. в течение 0,5 ч с последующим добавлением 1-(хлорметил)-3-метоксибензола (34,9 мг, 0,223 ммоль). Полученную смесь перемешивали при к.т. в течение 1 ч, затем выливали в насыщенный водный раствор NH_4Cl при 0°C и экстрагировали с помощью EtOAc. Объединенные органи-

ческие слои промывали солевым раствором, высушивали над безводным Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (элюент: пентан/этилацетат=3/1) с получением необходимого продукта. LCMS: масса/заряд 341 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 8,56 (s, 1H), 7,23 (t, 1H), 6,92-6,72 (m, 3H), 5,32 (s, 2H), 4,26 (s, 3H), 3,72 (s, 3H), 2,85 (s, 3H).

В примере 1 представлен иллюстративный синтез соединения E1-3. Понятно, что различные соединения можно синтезировать с помощью соответствующего гетероарил-CH_2-галогенида.

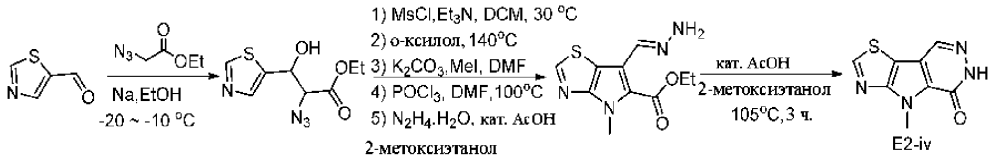
Примеры 2. Получение соединений формулы E2-vii по схеме E2.

Схема E2



При этом X представляет собой уходящую группу (например, Cl, Br или I, OMs или OTs); M представляет собой металлорганический комплекс (например, бороргановский комплекс, такой как комплекс с бороновой кислотой или пинаколато-борный комплекс, оловоорганический комплекс, такой как -$Sn(Bu^t)_3$; цинкорганический комплекс, такой как -Zn(галоген)); каждый из Q и R^2 независимо представляет собой необязательно замещенный 5-членный или 6-членный гетероарил. Аналогично синтезу соединений формулы E1-v в примере 1 соединение E2-iv можно синтезировать из тиазолальдегида E2-i с помощью нескольких модификаций (например, с помощью реакции соединения E2-ii с MsCl с последующим элиминированием с получением соединения E2-iii; при этом может быть образована трициклическая система с помощью кат. AcOH в 2-метоксиэтаноле). Замещение и йодирование соединения E2-iv обеспечивает получение соединения E2-vi. Сочетание соединения E2-vi с металлорганическим соединением в присутствии катализатора обеспечивают получение соединения E2-vii.

Пример 2A. Синтез 4-метил-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло-[2,3-d]пиридазин-5-она.



Стадия A. Этил-2-азидо-3-гидрокси-3-(тиазол-5-ил)пропаноат.

Натрий (12,2 г, 0,531 моль) медленно добавляли при к.т. к перемешиваемому раствору сухого EtOH (300 мл). Реакционную смесь затем охлаждали до -20°C с последующим добавлением по каплям раствора этил-2-азидоацетата (68,5 г, 0,531 моль) и тиазол-5-карбальдегида (20,0 г, 0,177 моль) в безводном EtOH (100 мл) с поддержанием температуры от -20°C до -15°C. После добавления реакционную смесь перемешивали при -20°C в течение дополнительного 1 ч и затем выливали в насыщенный водный NH_4Cl (1 л). Полученную смесь насыщали с помощью NaCl и экстрагировали с помощью EtOAc.

Объединенную органическую фазу промывали солевым раствором, высушивали над безводным Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле с применением (элюент: PE/EtOAc=6/1-5/1-1/1) с получением необходимого продукта (34 г) в виде бледного вещества. LCMS: масса/заряд= 243 $(M+H)^+$.

Стадия B. Этил-(Z)-2-азидо-3-(тиазол-5-ил)акрилат.

К перемешиваемой смеси этил-2-азидо-3-гидрокси-3-(тиазол-5-ил)пропаноата (103 г, 0,426 моль) в сухом DCM (1,5 л) при -35°C добавляли MsCl (146 г, 1,28 моль) с последующим добавлением по каплям TEA (301 г, 2,98 моль) с поддержанием температуры от -35°C до -30°C. После добавления реакционную смесь перемешивали при -30°C в течение еще 15 мин., затем выливали в насыщенный водный NH_4Cl (1,5 л). Полученную смесь насыщали с помощью NaCl и экстрагировали с помощью DCM дважды. Объединенные органические слои промывали последовательно водным HCl (1 M) и солевым раствором, высушивали над безводным Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле с применением (элюент: PE/EtOAc=5/1) с получением необходимого продукта (82,0 г, выход 86,3%). LCMS: масса/заряд= 225 $(M+H)^+$.

Стадии C-E для синтеза этил-4H-пирроло[2,3-d]тиазол-5-карбоксилата, этил-4-метил-4H-пирроло[2,3-d]тиазол-5-карбоксилата и этил-6-формил-4-метил-4H-пирроло[2,3-d]тиазол-5-карбоксилата были аналогичными процедурам в примере 1.

Стадия F. Этил-(E)-6-(гидразонометил)-4-метил-4H-пирроло[2,3-d]тиазол-5-карбоксилат.

К перемешиваемой смеси $N_2H_4.H_2O$ (2,0 г, 98%, 40 ммоль) в 2-метоксиэтаноле (50 мл) при к.т. до-

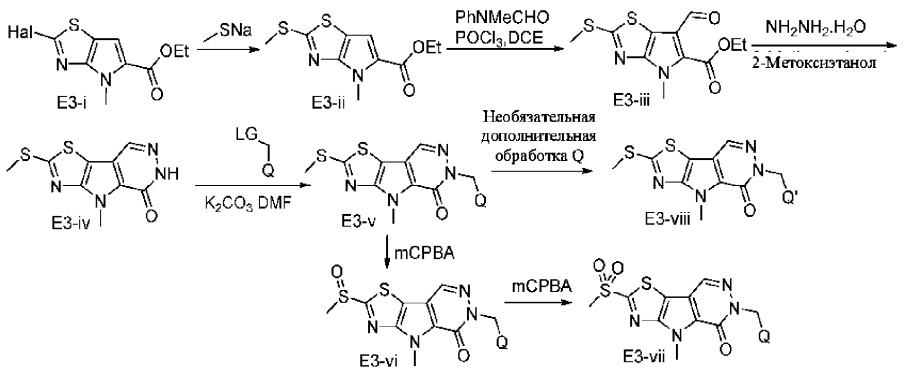
бавляли этил-6-формил-4-метил-4H-пирроло[2,3-d]тиазол-5-карбоксилат (4,8 г, 20 ммоль) с последующим добавлением 20 капель AcOH. Реакционную смесь перемешивали при к.т. в течение приблизительно 30 мин. до тех пор, пока смесь не становилась прозрачной. Полученную смесь выливали в воду (100 мл) с перемешиванием и экстрагировали с помощью DCM. Объединенные органические слои высушивали над безводным Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении с получением необходимого продукта, который применяли на следующей стадии без дополнительной очистки. LCMS: масса/заряд=253 $(M+H)^+$.

Стадия G. 4-Метил-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-он.

К перемешиваемой суспензии этил-(E)-6-(гидразонометил)-4-метил-4H-пирроло[2,3-d]тиазол-5-карбоксилата (4,8 г, 0,19 моль) в 2-метоксиэтаноле (50 мл) при к.т. добавляли AcOH (20 капель). Реакционную суспензию перемешивали при 105°C в течение 3 ч и затем фильтровали. Осадок на фильтре промывали водой и высушивали под высоким вакуумом с получением первой партии необходимого продукта. Фильтрат разбавляли водой и дважды экстрагировали с помощью DCM. Органические слои промывали солевым раствором, высушивали над безводным Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении с получением второй партии необходимого продукта. Две объединенные партии необходимого продукта (2,5 г) непосредственно применяли на следующей стадии без дополнительной очистки. LCMS: масса/заряд= 207 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 12,68 (s, 1H), 9,35 (s, 1H), 8,55 (s, 1H), 4,30 (s, 3H).

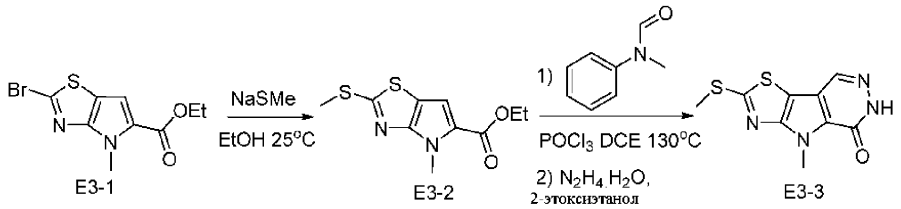
Пример 3. Синтез соединений E3-vii и E3-viii.

Схема E3



При этом Hal представляет собой галоген (например, Cl, Br или I); LG представляет собой уходящую группу (например, Cl, Br, I, OMs или OTs); Q представляет собой необязательно замещенный 5-членный или 6-членный гетероарил; и Q' представляет собой дополнительно функционализированный 5-членный или 6-членный гетероарил. Реакция ароматического замещения соединения E3-i метантиолатом натрия обеспечивает получение соединения E3-ii, которое можно превратить в соединение E3-v с применением синтеза соединения E1-iii в E1-vi. Окисление соединения E3-v с помощью mCPBA обеспечивает получение соединения E3-vi и E3-vii соответственно.

Пример 3A. Синтез 4-метил-2-(метилтио)-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-она.



Стадия A. Этил-4-метил-2-(метилтио)-4H-пирроло[2,3-d]тиазол-5-карбоксилат.

К смеси этил-2-бром-4-метил-4H-пирроло[2,3-d]тиазол-5-карбоксилата (500,0 мг, 1,73 ммоль) в EtOH (10,0 мл) добавляли NaSMe (240,0 мг, 3,5 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 3 ч, затем гасили с помощью ледяной воды и экстрагировали с помощью DCM. Объединенные органические слои промывали солевым раствором, высушивали над безводным Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении с получением необходимого продукта (460 мг), который непосредственно применяли на следующей стадии без какой-либо очистки. LC-MS: масса/заряд 257 $(M+H)^+$.

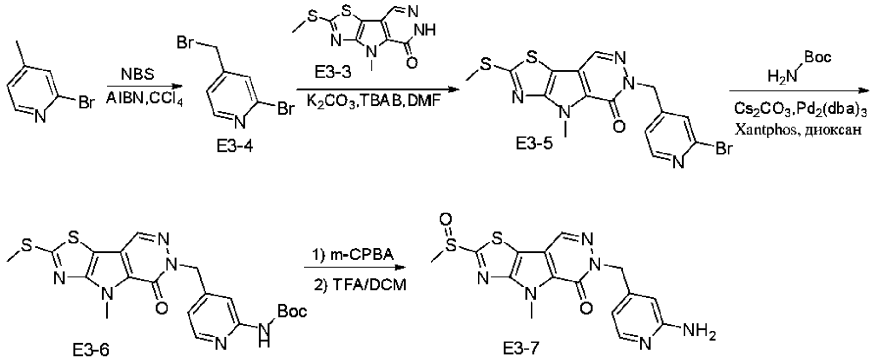
Стадия B. Этил-6-формил-4-метил-2-(метилтио)-4H-пирроло[2,3-d]тиазол-5-карбоксилат.

К раствору этил-4-метил-2-(метилтио)-4H-пирроло[2,3-d]тиазол-5-карбоксилата (460,0 мг, 1,8 ммоль) и N-метил-N-фенилформамида (490 мг, 3,6 ммоль) в DCE (10 мл) добавляли $POCl_3$ (550,0 мг, 3,6 ммоль). Полученную смесь перемешивали при 130°C в течение 3 ч, затем гасили с помощью ледяной воды и экстрагировали с помощью DCM. Объединенные органические слои промывали солевым раствором, высушивали над безводным Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (элюент: PE/EtOAc=8/1) с получением необходимого продукта (320,0 мг, выход 63%). LC-MS: масса/заряд 285 $(M+H)^+$.

Стадия C. 4-Метил-2-(метилтио)-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-он.

К раствору этил-6-формил-4-метил-2-(метилтио)-4H-пирроло[2,3-d]тиазол-5-карбоксилата (300,0 мг, 1,06 ммоль) в EtOH (5,0 мл) добавляли $N_2H_4.H_2O$ (2 мл, 98 вес. %). Реакционную смесь перемешивали при к.т. в течение 1 ч, затем нагревали до 60°C в течение ночи, затем охлаждали. Твердое вещество собирали путем фильтрации и высушивали под высоким вакуумом с получением необходимого продукта (180,0 мг, выход 67%). LC-MS: масса/заряд 253 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 12,61 (s, 1H), 8,48 (s, 1H), 4,22 (s, 3H), 2,81 (s, 3H).

Пример 3B. Синтез 6-((2-аминопиридин-4-ил)метил)-4-метил-2-(метилсульфинил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она.



Стадия A. 2-Бром-4-(бромметил)пиридин.

Смесь 2-бром-4-метилпиридина (1 г, 5,81 ммоль), NBS (1,1 г, 6,39 ммоль) и каталитического количества AIBN (100 мг) в CCl_4 (10 мл) перемешивали при 80°C в течение ночи. Полученную смесь концентрировали при пониженном давлении и остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (элюент: PE/EtOAc=200/1) с получением необходимого продукта E3-4 (500 мг, выход 34,28%).

Стадия B. 6-((2-Бромпиридин-4-ил)метил)-4-метил-2-(метилтио)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он.

Смесь 4-метил-2-(метилтио)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она (100 мг, 0,40 ммоль), и K_2CO_3 (164 мг, 1,19 ммоль) в DMF (8 мл) перемешивали при 60°C в течение 2 ч с последующим добавлением раствора 2-бром-4-(бромметил)пиридина (199 мг, 0,80 ммоль) в DMF (2 мл) и каталитического количества TBAB (13 мг). Смесь перемешивали при 60°C в течение ночи, затем гасили с помощью воды (20 мл) и экстрагировали с помощью EtOAc. Объединенные органические слои промывали насыщенным водным NH_4Cl, высушивали над безводным Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (элюент: PE/EtOAc=10/1) с получением необходимого продукта (150 мг, выход 89,62%). LCMS: масса/заряд 423 $(M+H)^+$.

Стадия C. трет-Бутил-(4-((4-метил-2-(метилтио)-5-оксо-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6(5H)-ил)метил)пиридин-2-ил)карбамат.

Смесь 6-((2-бромпиридин-4-ил)метил)-4-метил-2-(метилтио)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она (100 мг, 0,24 ммоль), трет-бутилкарбамата (83 мг, 0,71 ммоль), K_3PO_4 (201 мг, 0,95 ммоль), $Pd_2(dba)_3$ (18 мг, 0,02 ммоль) и Xantphos (11 мг, 0,02 ммоль) в диоксане (10 мл) перемешивали при 100°C в атмосфере азота в течение ночи. Полученную смесь гасили с помощью воды и экстрагировали с помощью EtOAc. Объединенные органические слои промывали солевым раствором, высушивали над безводным Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (элюент: PE/EtOAc=3/1) с получением необходимого продукта (100 мг, выход 92,10%). LCMS: масса/заряд 459 $(M+H)^+$.

Стадия D. трет-Бутил-(4-((4-метил-2-(метилсульфинил)-5-оксо-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6(5H)-ил)метил)пиридин-2-ил)карбамат.

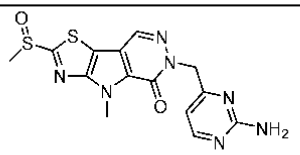
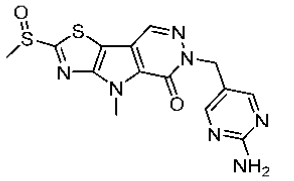
К смеси трет-бутил-(4-((4-метил-2-(метилтио)-5-оксо-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6(5H)-ил)метил)пиридин-2-ил)карбамата (100 мг, 0,22 ммоль) в DCM (5 мл) при 0°C добавляли 3-хлорпероксибензойную кислоту (38 мг, 0,22 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 1 ч, затем гасили с помощью воды и экстрагировали с помощью DCM. Объединенные органические слои промывали насыщенным водным $NaHCO_3$, высушивали над безводным Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении с получением необходимого продукта (100 мг, выход 96,63%), который непосредственно применяли на следующей стадии без какой-либо очистки. LCMS: масса/заряд 475 $(M+H)^+$.

Стадия E. 6-((2-Аминопиридин-4-ил)метил)-4-метил-2-(метилсульфинил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он.

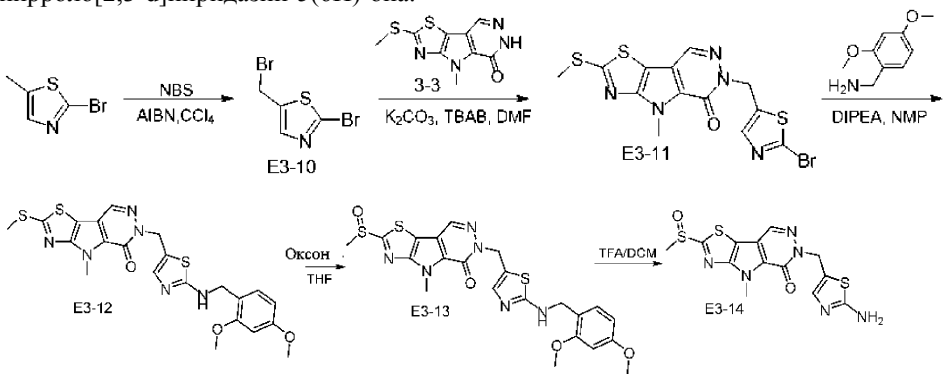
Смесь трет-бутил-(4-((4-метил-2-(метилсульфинил)-5-оксо-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6(5H)-ил)метил)пиридин-2-ил)карбамата (100 мг, 0,21 ммоль) в TFA (1 мл) и DCM (3 мл) перемешивали при к.т. в течение 1 ч, затем концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью препаративной HPLC с получением необходимого продукта (20 мг, выход 25,35%). LCMS:

масса/заряд 375 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 8,67 (s, 1H), 7,73 (d, 1H), 6,30 (d, 1H), 6,12 (s, 1H), 5,89 (s, 2H), 5,24-5,03 (m, 2H), 4,29 (s, 3H), 3,03 (s, 3H).

Процедуру, изложенную выше, применяли для получения следующих соединений с использованием соответствующих исходных материалов. При необходимости можно использовать стандартное введение и удаление защитной группы.

№ соед.	Структура и химическое название	Характеристика
E3-8	 6-((2-Аминопиримидин-4-ил)метил)-4-метил-2-(метилсульфинил)-4H-тиазоло [5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LC-MS: масса/заряд 376 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 8,76 (s, 1H), 8,12 (d, 1H), 6,60 (s, 2H), 6,22 (d, 1H), 5,20 (t, 2H), 4,28 (s, 3H), 3,12 (s, 3H).
E3-9	 6-((2-Аминопиримидин-5-ил)метил)-4-метил-2-(метилсульфинил)-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d] пиридазин-5-он	LC-MS: 376$(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 8,70 (s, 1H), 8,29 (s, 2H), 6,66 (s, 2H), 5,16 (s, 2H), 4,28 (s, 3H), 3,10 (s, 3H).

Пример 3C. Синтез 6-((2-аминотиазол-5-ил)метил)-4-метил-2-(метилсульфинил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она.



Стадия A-B. 2-Бром-5-(бромметил)тиазол и 6-((2-бромтиазол-5-ил)метил)-4-метил-2-(метилтио)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он синтезировали аналогично примеру 3B.

Стадия C. 6-((2-((2,4-Диметоксибензил)амино)тиазол-5-ил)метил)-4-метил-2-(метилтио)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он.

Смесь 6-((2-бромтиазол-5-ил)метил)-4-метил-2-(метилтио)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она (130 мг, 0,30 ммоль) и DIPEA (0,1 мл) в NMP (0,1 мл) и (2,4-диметоксифенил)метанамина (0,1 мл) перемешивали при 150°C в течение 4 ч. Затем реакционную смесь гасили водой (10 мл), экстрагировали с помощью EtOAc. Объединенные органические слои промывали солевым раствором, высушивали над безводным Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (элюировали с помощью PE/EtOAc=5/1) с получением необходимого продукта (60 мг, выход 38,4%). LC-MS: масса/заряд 515 $(M+H)^+$.

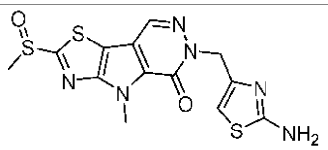
Стадия D. 6-((2-((2,4-Диметоксибензил)амино)тиазол-5-ил)метил)-4-метил-2-(метилсульфинил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он.

К смеси 6-((2-((2,4-диметоксибензил)амино)тиазол-5-ил)метил)-4-метил-2-(метилтио)-4H-тиазо-

ло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она (50 мг, 0,10 ммоль) в THF (3 мл) при 0°C добавляли оксон (61 мг, 0,10 ммоль). Смесь перемешивали при 0°C в течение 1 ч, затем гасили с помощью насыщенного водного раствора $Na_2S_2O_3$ (5 мл) и экстрагировали с помощью DCM. Объединенные органические слои промывали солевым раствором, высушивали над безводным Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении с получением необходимого продукта (30 мг, выход 50,1%), который применяли непосредственно на следующей стадии без дополнительной очистки. LC-MS: масса/заряд 531 $(M+H)^+$.

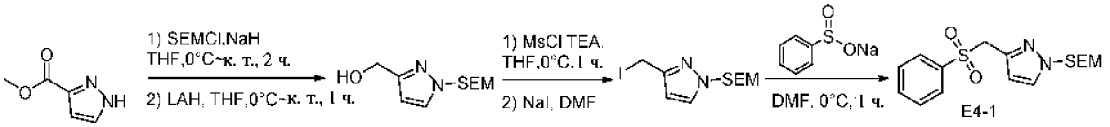
Стадия E. 6-((2-Аминотиазол-5-ил)метил)-4-метил-2-(метилсульфинил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он синтезировали аналогично примеру 3B. LC-MS: масса/заряд 381 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 8,70 (s, 1H), 6,97 (s, 1H), 6,87 (s, 2H), 5,28 (s, 2H), 4,29 (s, 3H), 3,11 (s, 3H).

Процедуру, изложенную выше, применяли для получения следующих соединений с использованием соответствующих исходных материалов. При необходимости можно использовать стандартное введение и удаление защитной группы.

№ соед.	Структура и химическое название	Характеристика
E3-15	 6-((2-Аминотиазол-4-ил)метил)-4-метил-2-(метилсульфинил)-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-он	LCMS: масса/заряд 381 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 8,69 (s, 1H), 6,92 (s, 2H), 6,21 (s, 1H), 5,26–5,05 (m, 2H), 4,30 (s, 3H), 3,11 (s, 3H).

Примеры 4. Синтез 6-((1H-пиразол-3-ил)метил)-2-((1H-пиразол-5-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она.

Пример 4A. Синтез 3-((фенилсульфонил)метил)-1-((2-(триметилсилил) этокси)метил)-1H-пиразола.



Стадия A. Метил-1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-карбоксилат.

При 0°C в атмосфере N_2 к перемешиваемому раствору метил-1H-пиразол-3-карбоксилата (90 г, 0,72 моль) в THF (1 л) добавляли NaH (20,7 г, 0,864 моль, 60%). Полученную смесь медленно нагревали до к.т. и перемешивали в течение 1 ч. Реакционную смесь затем снова охлаждали до 0°C и добавляли по каплям SEMCl (151,5 мл, 0,842 моль). Перемешивание продолжали в течение еще 2 ч перед гашением с помощью насыщ. NH_4Cl и экстрагировали с помощью этилацетата (3 x). Объединенные органические слои промывали солевым раствором и высушивали над Na_2SO_4. Растворители удаляли под вакуумом с получением 210 г неочищенного продукта, который применяли на следующей стадии без очистки.

Стадия B. (1-((2-(Триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метанол При 0°C в атмосфере N_2 к суспензии LAH (16,9 г, 0,44 моль) в THF (760 мл) добавляли неочищенный метил-1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-карбоксилат (76 г). Полученную смесь медленно нагревали до к.т. и перемешивали в течение 1 ч Реакционную смесь снова охлаждали до 0°C и последовательно добавляли H_2O (15,6 мл), 10% NaOH (15,6 мл), H_2O (15,6 мл). Полученную смесь фильтровали через подушку из целита и промывали с помощью MTBE (4 x). Объединенные органические фракции высушивали над Na_2SO_4. Растворители удаляли при пониженном давлении с получением 69,4 г неочищенного продукта, который применяли на следующей стадии без очистки. LC-MS: масса/заряд 229 $(M+H)^+$.

Стадия C. 3-(Йодметил)-1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол.

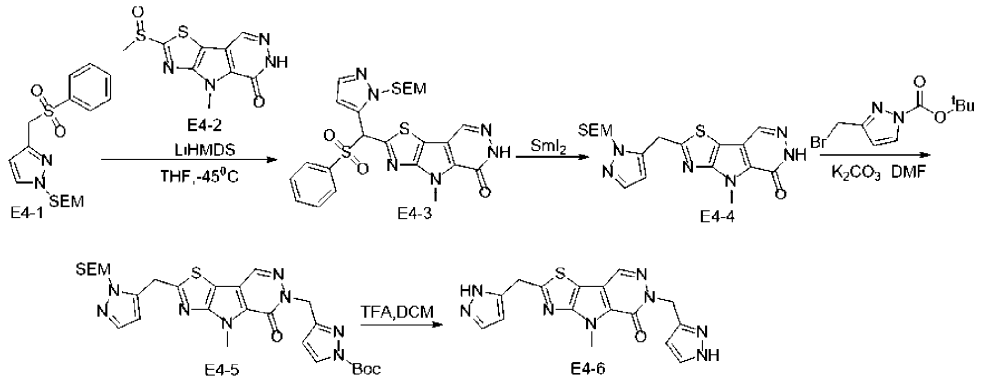
При 0°C в атмосфере N_2 к перемешиваемому раствору (1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метанола (61,5 г, теоретически 0,262 моль) в THF (310 мл) добавляли TEA (55,42 мл, 0,393 моль) с последующим добавлением MsCl (24 мл, 0,314 моль). Реакционную смесь нагревали до к.т. и перемешивали в течение 1 ч перед введением NaI (196,5 г, 1,31 моль в 310 мл DMF). Полученную смесь перемешивали в течение еще 1 ч и гасили с помощью ледяной воды, экстрагировали с помощью MTBE (3 x). Объединенные органические слои промывали с помощью насыщ. $Na_2S_2O_3$ и солевого раствора, высушивали над Na_2SO_4 и концентрировали с получением 77,5 г неочищенного продукта, применяемого на следующей стадии без очистки. LC-MS: масса/заряд 339 $(M+H)^+$.

Стадия D. 3-((Фенилсульфонил)метил)-1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол.

При 0°C в атмосфере N_2 к перемешиваемому раствору (1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метанола (77,5 г, теоретически 0,229 моль) в DMF (600 мл) добавляли бензолсульфинат натрия (53,5 г, 0,32 моль) и перемешивали в течение 1 ч при 0°C. После нагревания до к.т. реакционную смесь гасили ледяной водой и насыщ. $Na_2S_2O_3$, экстрагировали с помощью этилацетата (3 x). Объеди-

ненные органические слои промывали последовательно с помощью насыщ. $NaHCO_3$ и солевого раствора, высушивали над Na_2SO_4. Растворители удаляли под вакуумом и остаток очищали с помощью флэш-хроматографии (силикагель, 20-70% этилацетат в петролейном эфире) с получением 56,7 г в виде светло-желтого масла. LCMS: $[M+H]^+$ 353. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 7,85-7,77 (m, 4H), 7,62 (dd, 2H), 6,19 (d, 1H), 5,35 (d, 2H), 4,70 (d, 2H), 3,44-3,38 (m, 2H), 0,88-0,77 (m, 2H), -0,01 (s, 9H).

Пример 4B. Синтез 6-((1H-пиразол-3-ил)метил)-2-((1H-пиразол-5-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она.



Стадия A. 4-Метил-2-((фенилсульфонил)(1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-5-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он.

К раствору 3-((фенилсульфонил)метил)-1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразола (1,8 г, 5,1 ммоль) в сухом THF (30 мл) при -40°C по каплям добавляли LiHMDS (7,5 мл, 7,5 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. с последующим добавлением суспензии 4-метил-2-(метилсульфинил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она (580 мг, 2,7 ммоль) в сухом THF (30 мл) при комнатной температуре. Смесь перемешивали при к.т. в течение еще 1 ч, и выливали в ледяной насыщенный водный NH_4Cl (20 мл), и экстрагировали с помощью EtOAc (3×100 мл). Объединенные органические слои промывали водой (60 мл), высушивали над безводным Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью флэш-хроматографии (силикагель, 0-2,5% метанол в дихлорметане) с получением необходимого продукта (800 мг, 66%). С помощью LC-MS(ESI)обнаружили: 557 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 12,78 (s, 1H), 8,65 (s, 1H), 8,03 (d, 1H), 7,84-7,78 (m, 3H), 7,67-7,59 (m, 2H), 6,94 (s, 1H), 6,72 (d, 1H), 5,48 (d, 2H), 4,29 (s, 3H), 3,56 (dd, 2H), 0,88 (dd, 2H), 0,00 (s, 9H).

Стадия B. 4-Метил-2-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-5-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он.

К смеси 4-метил-2-((фенилсульфонил)(1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-5-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она (0,8 г, 1,41 ммоль) в THF (5 мл) и MeOH (10 мл) при N_2 добавляли по каплям SmI_2 (0,1M/THF, 45 мл) на ледяной бане. После перемешивания в течение 10 мин. реакционную смесь гасили насыщенным водным NH_4Cl (50 мл) и экстрагировали с помощью EAOAc (50 мл ×3). Объединенные органические слои промывали водой (60 мл), высушивали над безводным Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью флэш-хроматографии (силикагель, 0-3% метанол в дихлорметане) с получением необходимого продукта (310 мг, 51,0%). С помощью LC-MS обнаружили: 417 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ 8,31 (s, 1H), 7,60 (d, 1H), 6,39 (d, 1H), 5,49 (s, 2H), 4,58 (s, 2H), 4,43 (s, 3H), 3,62 (t, 2H), 0,95 (t, 2H), 0,0 (s, 9H).

Стадия C. трет-Бутил-3-((4-метил-5-оксо-2-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-5-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6(5H)-ил)метил)-1H-пиразол-1-карбоксилат.

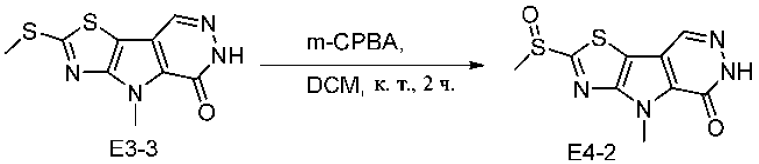
Смесь 4-метил-2-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-5-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она (30 мг, 0,07 ммоль) и K_2CO_3 (25 мг, 0,18 ммоль) в DMF (5,0 мл) барботировали аргоном и перемешивали при 50°C в течение 1 ч. Затем добавляли трет-бутил-3-(бромметил)-1H-пиразол-1-карбоксилат (37 мг, 0,14 ммоль). После перемешивания при 50°C в течение ночи в атмосфере аргона реакционную смесь охлаждали до к.т. и гасили с помощью насыщенного водного NH_4Cl (20 мл) и экстрагировали с помощью EAOAc (30 мл ×3). Объединенные органические слои промывали водой (40 мл), высушивали над безводным Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью препаративной TLC (DCM:MeOH=15:1) с получением необходимого продукта (15 мг, 35,0%). С помощью LC-MS(ESI)обнаружили:597 $(M+H)^+$.

Стадия D. 6-((1H-Пиразол-3-ил)метил)-2-((1H-пиразол-5-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он.

К раствору трет-бутил-3-((4-метил-5-оксо-2-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-5-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6(5H)-ил)метил)-1H-пиразол-1-карбоксилата (15 мг, 0,025 ммоль) в DCM (5 мл) добавляли TFA (1 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи перед концентрированием и очищением с помощью препаративной

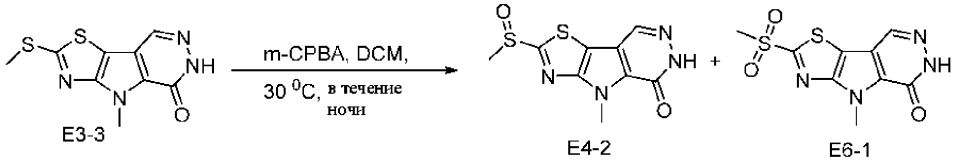
TLC (DCM:MeOH=15:1) с получением необходимого продукта (5 мг, 50%). С помощью LC-MS обнаружили: 367$(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 12,80 (s, 1H), 12,65 (s, 1H), 8,50 (s, 1H), 7,71 (brs, 1H), 7,60 (brs, 1H), 6,26 (d, 1H), 6,11 (d, 1H), 5,32 (s, 2H), 4,49 (s, 2H), 4,27 (s, 3H).

Пример 5. Синтез 4-метил-2-(метилсульфинил)-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-она.



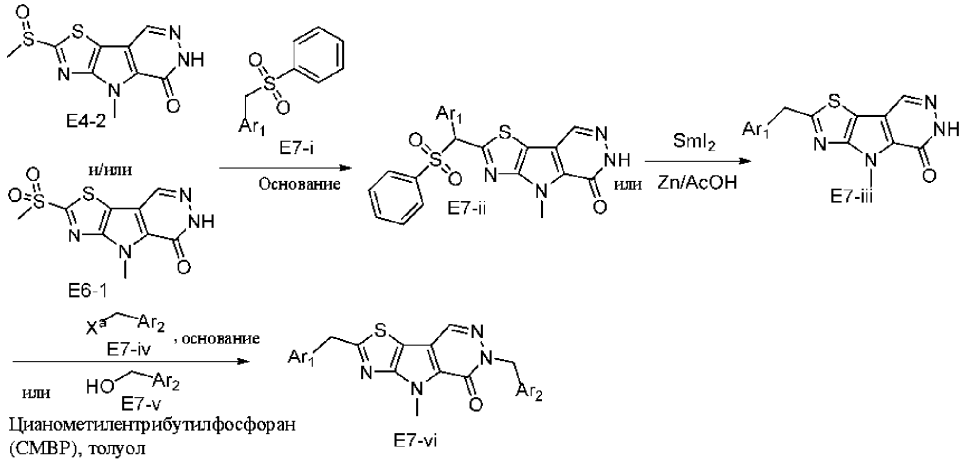
К перемешиваемой суспензии 4-метил-2-(метилтио)-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-она (1,01 г, 4,0 ммоль) в DCM (20 мл) добавляли 3-хлорпероксибензойную кислоту (0,77 г, 3,8 ммоль) при к.т. Смесь перемешивали при к.т. в течение 2 ч. Затем смесь фильтровали, промывали с помощью EtOAc и растирали с помощью MeOH. Твердое вещество высушивали в вакууме с получением 4-метил-2-(метилсульфинил)-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-она (600 мг). LCMS: масса/заряд 269 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 12,78 (s, 1H), 8,64 (s, 1H), 4,28 (s, 3H), 3,11 (s, 3H).

Пример 6. Синтез 4-метил-2-(метилсульфонил)-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-она.



В трехгорлую колбу, загруженную 4-метил-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-оном (30 г, 0,119 моль, 1,0 экв.) в DCM (600 мл), добавляли m-CPBA (61,5 г, 3 экв.) при 20°C тремя порциями. Смесь перемешивали при 30°C в течение ночи, с помощью LC-MS определяли 100% расход исходного материала, при этом образовывалось 20% E4-2 и 80% E6-1. Смесь охлаждали до к.т., добавляли еще одну порцию m-CPBA (1,0 экв.). Реакционную смесь перемешивали при 30°C в течение 2 ч, с помощью LC-MS определяли E4-2 (LCMS: масса/заряд 269 $(M+H)^+$.) < 8%. Смесь охлаждали до к.т. и фильтровали. Осадок на фильтре суспендировали в MeOH (500 мл) и перемешивали при к.т. в течение 1 ч. Твердое вещество собирали путем фильтрации, промывали этилацетатом, высушивали в вакууме с получением 28 г смеси из 5% E4-2 и 95% E6-1. Смесь (28 г) суспендировали в DMSO (600 мл), нагревали до 120°C - 130°C с образованием прозрачного раствора. Затем охлаждали до к.т., твердое вещество осаждали. Смесь фильтровали и высушивали с получением 23 г чистого E6-1, LCMS: масса/заряд 285 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 12,87 (s, 1H), 8,69 (s, 1H), 4,32 (s, 3H), 3,56 (s, 3H).

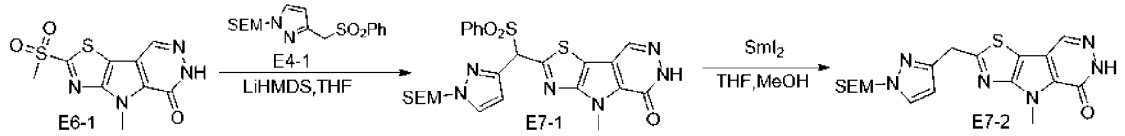
Пример 7. Синтез соединений E7-v и E7-viii.



Нуклеофильное ароматический замещение между соединением E7-i и соединением E4-2 и/или соединением E6-1 обеспечивает получение промежуточного соединения E7-ii. Восстановление фенилсульфонильной группы соединения E7-ii обеспечивает получение промежуточного соединения E7-iii. С применением стандартной реакции алкилирования E7-iv и соединения E7-iii в присутствии основания (например, K_2CO_3, K_3PO_4, t-BuOK или Cs_2CO_3) обеспечивают получение E7-vi, где X^a представляет собой уходящую группу, такую как Cl, Br, I, OMs, OTs; каждый из Ar_1 и Ar_2 независимо представляет собой необязательно замещенный 5-членный или 6-членный моноциклический гетероарил. Соединение E7-vi также можно синтезировать посредством реакции Мицунобу соединения E7-iii с E7-v с применением

цианометилентрибутилфосфорана (CMBP) в толуоле.

Пример 7A. Синтез 4-метил-2-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-она.



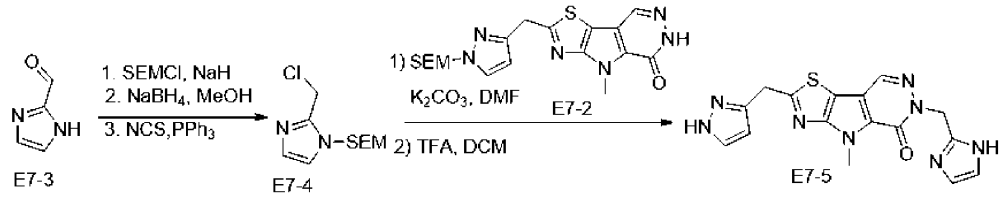
Стадия A. 4-Метил-2-((фенилсульфонил)(1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-он.

К раствору 3-((фенилсульфонил)метил)-1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразола (26 г, 78,86 ммоль, 2,1 экв.) в безводном THF (700 мл) добавляли LiHMDS (81,2 мл, 81,2 ммоль, 1M в THF, 2,31 экв.) при -40°C. Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 1 ч. Затем 4-метил-2-(метилсульфонил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он (10 г, 35,17 ммоль, 1 экв.) добавляли к смеси при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали в течение еще 0,5 ч при комнатной температуре. Реакционную смесь выливали в насыщенный раствор хлорида аммония (500 мл) при 0°C и экстрагировали дважды с помощью этилацетата. Объединенные органические слои промывали водой и солевым раствором, высушивали и концентрировали с получением желтого остатка. Остаток очищали с помощью хроматографии на силикагеле (дихлорметан:метанол=от 100:1 до 30:1) с получением 4-метил-2-((фенилсульфонил)(1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она (13 г). LC-MS ESI масса/заряд=557 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 12,81 (s, 1H), 8,65 (s, 1H), 8,03 (d, 1H), 7,84-7,78 (m, 3H), 7,66 (t, 2H), 6,94 (s, 1H), 6,72 (d, 1H), 5,50 (d, 2H), 4,29 (s, 3H), 3,56 (dd, 2H), 0,91 (dd, 2H), 0,02 (s, 9H).

Стадия B. 4-Метил-2-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-он.

К раствору 4-метил-2-((фенилсульфонил)(1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она (8 г, 14,37 ммоль, 1 экв.) в THF (500 мл) и MeOH (500 мл) добавляли SmI_2 (503 мл, 50,29 ммоль, 0,1 M в THF, 3,5 экв.) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали в течение 0,5 ч и концентрировали. Остаток очищали с помощью хроматографии на силикагеле (петролейный эфир:этилацетат:метанол=от 75:25:0 до 20:20:1) с получением 4-метил-2-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она (4,3 г). LC-MS ESI масса/заряд=417 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ 8,31 (s, 1H), 7,60 (d, 1H), 7,28 (s, 1H), 6,39 (d, 1H), 5,49 (s, 2H), 4,58 (s, 2H), 4,43 (s, 3H), 3,62 (t, 2H), 0,95 (t, 2H), 0,0 (s, 9H).

Пример 7B. Синтез 6-((1H-имидазол-2-ил)метил)-2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она.



Стадия A. 1-((2-(Триметилсилил)этокси)метил)-1H-имидазол-2-карбальдегид.

Образец NaH промывали гексаном (2×10 мл) в атмосфере N_2. В колбу загружали сухой DMF (20 мл) и добавляли небольшими порциями 1H-имидазол-2-карбальдегид (500 мг, 5,2 ммоль). После перемешивания при комнатной температуре в течение 1,5 ч добавляли по каплям SEMCl (864 мг, 5,2 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при к.т. в течение 30 мин. Реакционную смесь выливали в воду, экстрагировали с помощью EtOAc. Органический слой промывали солевым раствором, высушивали над Na_2SO_4, концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного 1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-имидазол-2-карбальдегида (800 мг). LCMS: 227 $(M+H)^+$.

Стадия B. (1-((2-(Триметилсилил)этокси)метил)-1H-имидазол-2-ил)метанол.

К перемешиваемой смеси 1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-имидазол-2-карбальдегида (1,6 г, 7 ммоль) в THF (20 мл) добавляли $NaBH_4$ (1,34 г, 35 ммоль) при 0°C. Реакционную смесь перемешивали при к.т. в течение 30 мин. Реакционную смесь выливали в водн. NH_4Cl и экстрагировали с помощью EtOAc. Органический слой промывали солевым раствором, высушивали над Na_2SO_4, концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного (1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-имидазол-2-ил)метанола (1,3 г).

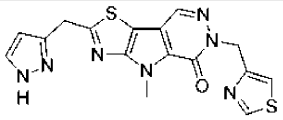
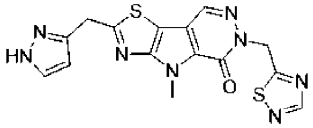
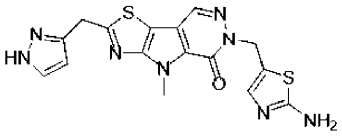
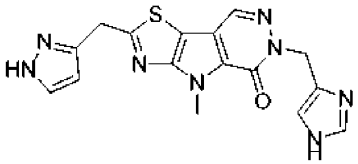
Стадия C. 2-(Хлорметил)-1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-имидазол.

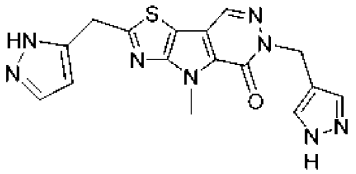
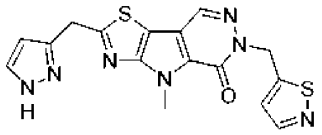
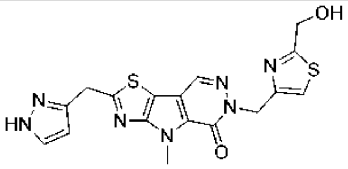
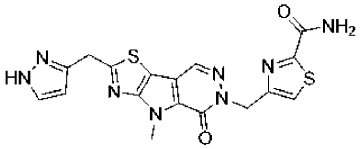
К перемешиваемой смеси (1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-имидазол-2-ил)метанола (400 мг, 1,75 ммоль) в DCM (20 мл) добавляли NCS (466 мг, 3,5 ммоль) и PPh_3 (920 мг, 3,5 ммоль) при к.т. Смесь перемешивали при к.т. в течение 2 ч. Реакционную смесь выливали в воду и экстрагировали с помощью

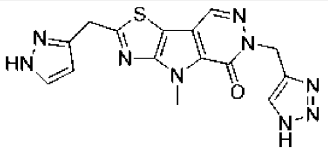
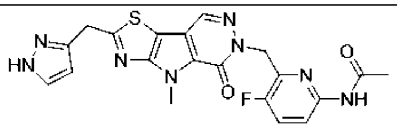
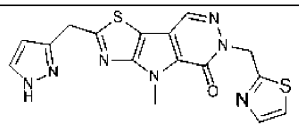
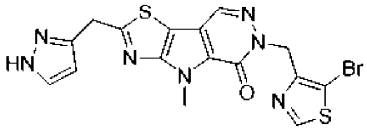
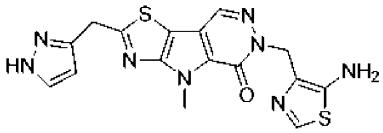
DCM. Смесь промывали водой и органический слой концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью препаративной TLC (PE: EtOAc=1: 1) с получением 2-(хлорметил)-1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-имидазола. LCMS: 247 $(M+H)^+$.

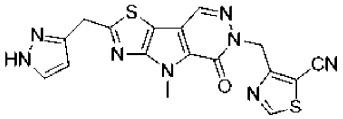
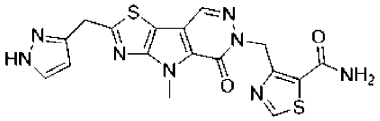
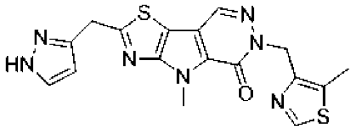
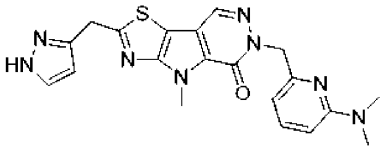
К перемешиваемой смеси 4-метил-2-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она (50 мг, 0,12 ммоль) в сухом DMF (5 мл) добавляли K_2CO_3 (66 мг, 0,48 ммоль) при 60°C в атмосфере N_2. Через 20 мин. соединение E7-2 (60 мг, 0,24 ммоль) в сухом DMF (2 мл) добавляли при 60°C в атмосфере N_2. Смесь перемешивали при 60°C в течение 1,5 ч в атмосфере N_2. Реакционную смесь охлаждали до к.т. и регулировали до pH=5~6 с помощью 0,5 н. водн. HCl. Затем смесь экстрагировали с помощью EtOAc, промывали с помощью воды и солевого раствора. Органический слой высушивали над Na_2SO_4, концентрировали при пониженном давлении и очищали с помощью препаративной TLC (PE:EtOAc=1:1,5) с получением 4-метил-6-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-имидазол-2-ил)метил)-2-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она (25 мг). LCMS: 627 $(M+H)^+$. Смесь 4-метил-6-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-имидазол-2-ил)метил)-2-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она (25 мг, 0,04 ммоль) в DCM/TFA (2 мл/2 мл) перемешивали при к.т. в течение 1 ч. Реакционную смесь концентрировали. Остаток очищали с помощью препаративной HPLC с получением необходимого продукта (1,3 мг). LCMS: 367 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 8,51 (s, 1H), 7,66 (d, 1H), 6,9 (s, 2H), 6,27 (d, 1H), 5,34 (s, 2H), 4,51 (s, 2H), 4,27 (s, 3H).

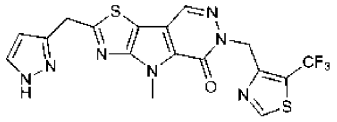
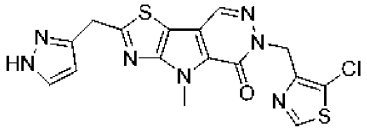
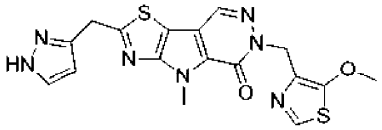
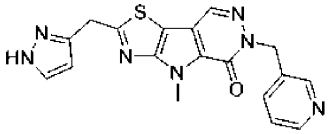
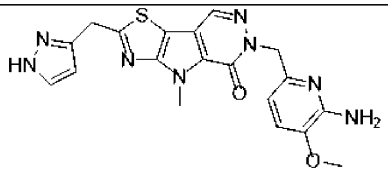
Следующие соединения синтезировали в соответствии со схемой E7 и процедурой из примера 7A-7B с применением подходящего исходного материала. При необходимости применяют стандартные способы введения и удаления защитной группы.

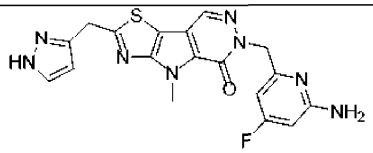
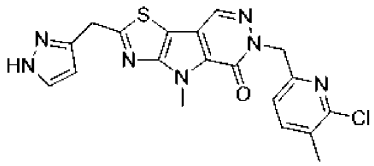
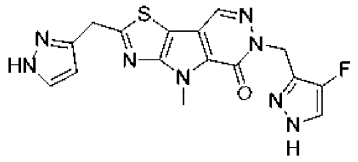
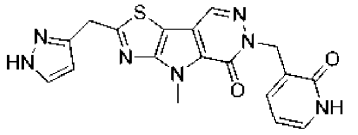
№ соед.	Структура и химическое название	Характеристика
E7-6	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-6-(тиазол-4-илметил)-4H-тиазоло[5',4':4,5] пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: 384 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 12,78 (s, 1H), 9,03 (d, 1H), 8,52 (s, 1H), 7,71 (s, 1H), 7,42 (d, 1H), 6,27 (d, 1H), 5,48 (s, 2H), 4,48 (s, 2H), 4,27 (s, 3H).
E7-7	 6-((1,2,4-тиадиазол-5-ил)метил)-2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: 385 (M+H)+. 1H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 12,79 (s, 1H), 8,84 (s, 1H), 8,64 (s, 1H), 7,72 (s, 1H), 6,27 (d, 1H), 5,84 (s, 2H), 4,51 (s, 2H), 4,28 (s, 3H).
E7-8	 2-((1H-Пиразол-3-ил)метил)-6-((2-аминотиазол-5-ил)метил)-4-метил -4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 399 (M+H)+. 1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ 12,78 (s, 1H), 8,52 (s, 1H), 7,70 (s, 1H), 6,91 (s, 1H), 6,87 (br s, 2H), 6,27 (d, 1H), 5,26 (s, 2H), 4,49 (s, 2H), 4,27 (s, 3H).
E7-9	 6-((1H-Имидазол-4-ил)метил)-2-((1H-	LCMS: масса/заряд 367 (M+H)+. 1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ 8,48 (s, 1H), 7,68 (s, 1H), 7,52 (s, 1H), 6,91 (s, 1H), 6,27 (d, 1H), 5,25 (s, 2H), 4,50 (s, 2H), 4,28 (s, 3H).

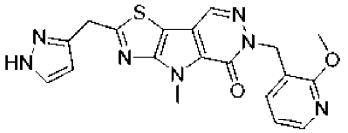
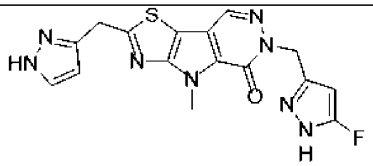
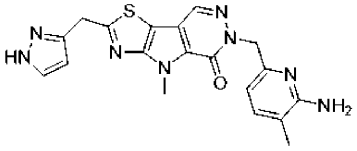
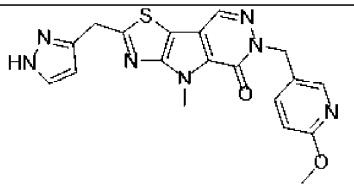
	пиразол-3-ил)метил)-4-метил-4Н-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d] пиридазин-5(6Н)-он	
E7-10	 6-((1Н-пиразол-4-ил)метил)-2-((1Н-пиразол-5-ил)метил)-4-метил-4Н-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6Н)-он	LC-MS: масса/заряд 367 $(M+H)^+$. 1Н ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 12,77 (brs, 2Н), 8,49 (s, 1Н), 7,72-7,35 (m, 3Н), 6,25 (s,1Н), 5,20 (s, 2Н), 4,48 (s, 2Н), 4,27 (s, 3Н).
E7-11	 2-((1Н-пиразол-3-ил)метил)-6-(изотиазол-5-илметил)-4-метил-4Н-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6Н)-он	LC-MS: масса/заряд 384 $(M+1)^+$. 1Н ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 12,77 (s, 1Н), 8,59 (s, 1Н), 8,46 (d, 1Н), 7,71 (s, 1Н), 7,42 (d, 1Н), 6,26 (d, 1Н), 5,66 (s, 2Н), 4,48 (s, 2Н), 4,28 (s, 3Н).
E7-12	 2-((1Н-пиразол-3-ил)метил)-6-((2-(гидроксиметил)тиазол-4-ил)метил)-4-метил-4Н-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6Н)-он	LCMS: масса/заряд 414 $(M+H)^+$. 1Н ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 12,78 (s, 1Н), 8,48 (s, 1Н), 7,70 (s, 1Н), 7,28 (s, 1Н), 6,26 (d, 1Н), 6,15 (t, 1Н), 5,39 (s, 2Н), 4,66 (d, 2Н), 4,49 (s, 2Н), 4,25 (s, 3Н).
E7-13	 4-((2-((1Н-Пиразол-3-ил)метил)-4-метил-5-оксо-4Н-тиазоло[5',4':4,5] пирроло[2,3-d]пиридазин-6(5Н)-ил)метил)тиазол-2-карбоксамид	LCMS: масса/заряд 427 (M+H)+. 1Н ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 12,78 (s, 1Н), 8,51 (s, 1Н), 8,11 (s, 1Н), 7,78 (s, 1Н), 7,70-7,60 (m, 2Н), 6,27 (d, 1Н), 5,50 (s, 2Н), 4,48 (s, 2Н), 4,26 (s, 3Н).

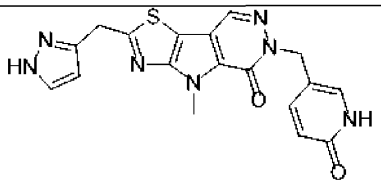
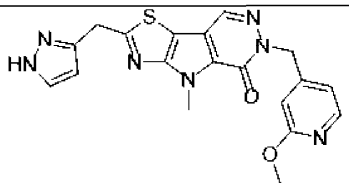
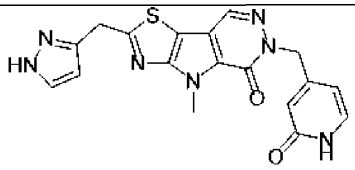
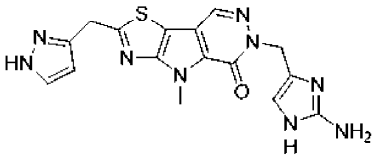
E7-14	 6-((1H-1,2,3-триазол-4-ил)метил)-2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 368 $(M+H)^+$. 1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ 14,89 (s, 1H), 12,78 (s, 1H), 8,51 (s, 1H), 7,95-7,54 (m, 2H), 6,26 (d, 1H), 5,42 (s, 2H), 4,49 (s, 2H), 4,27 (s, 3H).
E7-15	 N-(6-((2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-5-оксо-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6(5H)-ил)метил)-5-фторпиридин-2-ил)ацетамид	LCMS: (ESI) масса/заряд 453 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 12,84 (s, 1H), 10,41 (s, 1H), 8,57 (s, 1H), 8,06 (s, 1H), 7,71 (s, 2H), 6,34 (s, 1H), 5,52 (s, 2H), 4,58 (s, 2H), 4,33 (s, 3H), 2,08 (s, 3H).
E7-16	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-6-(тиазол-2-илметил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LC-MS: 384 [M+H]+. 1H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 12,78 (s, 1H), 8,58 (s, 1H), 7,75 (d, 1H), 7,70 (s, 1H), 7,64 (d, 1H), 6,27 (s, 1H), 5,65 (s, 2H), 4,48 (s, 2H), 4,27 (s, 3H).
E7-17	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((5-бромтиазол-4-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 462, 464 (M, $M+2H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 12,77 (s, 1H), 9,04 (s, 1H), 8,49 (s, 1H), 7,71 (s, 1H), 6,26 (d, 1H), 5,41 (s, 2H), 4,48 (s, 2H), 4,25 (s, 3H).
E7-18	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((5-	LCMS: масса/заряд 399 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 12,78 (s, 1H), 8,51 (s, 1H), 7,99 (s, 1H), 7,71 (s, 1H), 6,27 (d, 1H), 5,83(s, 2H), 5,27

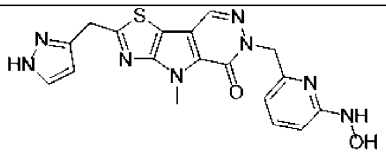
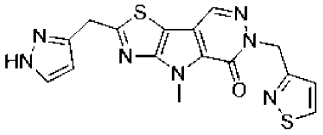
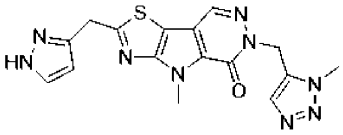
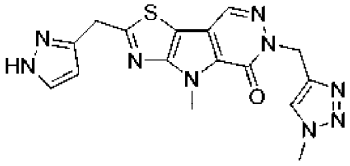
	аминотиазол-4-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	(s, 2H), 4,49 (s, 2H), 4,27 (s, 3H).
E7-19	 4-((2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-5-оксо-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6(5H)-ил)метил)тиазол-5-карбонитрил	LCMS: масса/заряд 409 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 12,77 (s, 1H), 9,36 (s, 1H), 8,56 (s, 1H), 7,71 (s, 1H), 6,26 (d, 1H), 5,61 (s, 2H), 4,49 (s, 2H), 4,25 (s, 3H).
E7-20	 4-((2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-5-оксо-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6(5H)-ил)метил)тиазол-5-карбоксамид	LCMS: масса/заряд 427 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 12,78 (s, 1H), 8,97 (s, 1H), 8,51 (s, 1H), 7,70 (s, 1H), 7,75 (d, 2H), 6,26 (d, 1H), 5,67 (s, 2H), 4,49 (s, 2H), 4,25 (s, 3H).
E7-21	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-6-((5-метилтиазол-4-ил)метил)-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-он	LCMS: масса/заряд 398 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 12,77 (s, 1H), 8,74 (s, 1H), 8,47 (s, 1H), 7,70 (s, 1H), 6,26 (d, 1H), 5,39 (s, 2H), 4,49 (s, 2H), 4,26 (s, 3H), 2,49 (s, 3H).
E7-22	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((6-(диметиламино)пиридин-2-ил)метил)-4-метил-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-он	LCMS: 421 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 12,78 (s, 1H), 8,53 (s, 1H), 7,68 (s, 1H), 7,39 (dd, 1H), 6,47 (d, 1H), 6,27 (d, 1H), 6,17 (d, 1H), 5,27 (s, 2H), 4,47 (m, 2H), 4,26 (s, 3H), 2,94 (s, 6H).

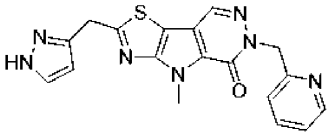
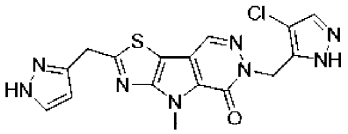
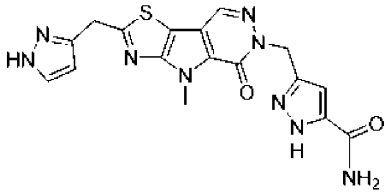
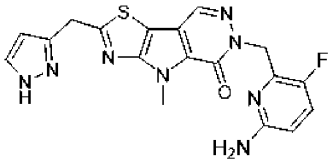
E7-23	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-6-((5-(трифторметил) тиазол-4-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d] пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 452 (M+H)+. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 12,85 (s, 1H), 9,24 (s, 1H), 8,50 (s, 1H), 7,67 (s, 1H), 6,27 (d, 1H), 5,57 (s, 2H), 4,50 (s, 2H), 4,25 (s, 3H).
E7-24	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((5-хлортиазол-4-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 418 (M+H)+. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 12,79 (s, 1H), 8,94 (s, 1H), 8,49 (s, 1H), 7,70 (s, 1H), 6,26 (d, 1H), 5,42 (s, 2H), 4,49 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).
E7-25	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((5-метокситиазол-4-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5] пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS (ESI): масса/заряд 414 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР DMSO-d6, 400 МГц, δ 8,45 (s, 1H), 8,41 (s, 1H), 8,29 (s, 1H), 7,66 (s, 1H), 6,26 (d, 1H), 5,30 (s, 2H), 4,49 (s, 2H), 4,26 (s, 3H), 3,93 (s, 3H).
E7-26	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-6-(пиридин-3-илметил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS (ESI): масса/заряд 378 (M+H). ^{1}H ЯМР (DMSO-d6, 400 МГц) δ 12,79 (s, 1H), 8,57 (d, 1H), 8,54 (s, 1H), 8,48 (dd, 1H), 7,71 (ddd, 2H), 7,35 (ddd, 1H), 6,26 (d, 1H), 5,38 (s, 2H), 4,49 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).
E7-27		LCMS: масса/заряд 423 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 12,78 (s, 1H), 8,51 (s, 1H), 7,71 (s, 1H), 6,91 (d, 1H), 6,26 (d, 1H), 6,17 (d, 1H), 5,68

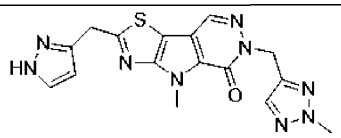
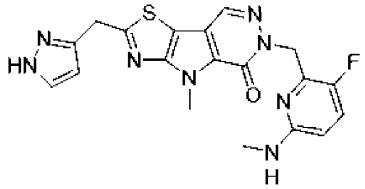
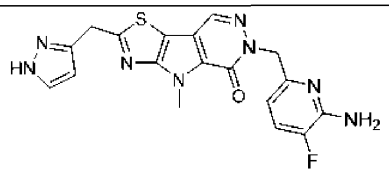
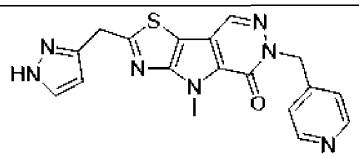
	2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((6-амино-5-метоксипиридин-2-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d] пиридазин-5(6H)-он	(s, 2H), 5,16 (s, 2H), 4,49 (s, 2H), 4,27 (s, 3H), 3,72 (s, 3H).
E7-28	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((6-амино-4-фторпиридин-2-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5] пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 411 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 8,56 (s, 1H), 7,67 (s, 1H), 6,3-6,2 (m, 2H), 6,18 (d, 1H), 5,27 (s, 2H), 4,51 (s, 2H), 4,27 (s, 3H).
E7-29	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((6-хлор-5-метилпиридин-2-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d] пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 426 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 8,56 (s, 1H), 7,73 (d, 1H), 7,67 (s, 1H), 7,08 (d, 1H), 6,26 (d, 1H), 5,39 (s, 2H), 4,50 (s, 2H), 4,26 (s, 3H), 2,30 (s, 3H).
E7-30	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((4-фтор-1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло [2,3-d]пиридазин-5-он	LCMS: масса/заряд 385 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 12,83 (s, 1H), 12,68 (s, 1H), 8,46 (s, 1H), 7,64 (s, 2H), 6,26 (s, 1H), 5,33 (s, 2H), 4,48 (s, 2H), 4,24 (s, 3H).
E7-31	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-6-((2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-	LCMS: масса/заряд 394 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 12,79 (s, 1H), 11,74 (s, 1H), 8,55 (s, 1H), 7,72 (s, 1H), 7,30 (d, 1H), 6,83 (d, 1H), 6,27 (d, 1H), 6,09 (t, 1H), 5,10 (s, 2H), 4,51 (s,

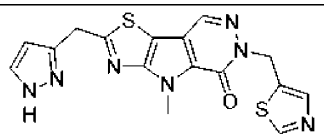
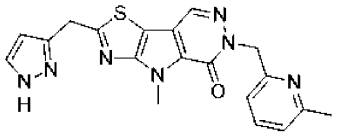
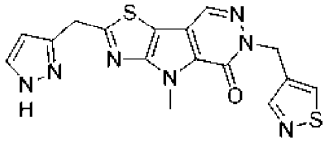
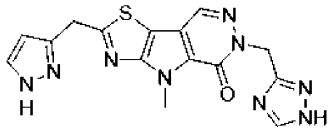
	ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d] пиридазин-5(6H)-он	2H), 4,27 (s, 3H).
E7-32	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((2-метоксипиридин-3-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло [5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 408 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 12,78 (s, 1H), 8,56 (s, 1H), 8,08 (dd, 1H), 7,70 (s, 1H), 7,16 (d, 1H), 6,90 (dd, 1H), 6,27 (d, 1H), 5,29 (s, 2H), 4,51 (s, 2H), 4,27 (s, 3H), 3,93 (s, 3H).
E7-33	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((5-фтор-1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d] пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 385 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 12,88 (s, 1H), 12,61 (s, 1H), 8,61 (d, 1H), 7,78 (s, 1H), 6,33 (d, 1H), 5,89 (d, 1H), 5,36 (s, 2H), 4,54 (d, 2H), 4,34 (s, 3H).
E7-34	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((6-амино-5-метилпиридин-2-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 407 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 12,84 (s, 1H), 8,58 (s, 1H), 7,79 (s, 1H), 7,18 (d, 1H), 6,33 (s, 1H), 6,15 (d, 1H), 5,75 (s, 2H), 5,25 (s, 2H), 4,55 (s, 2H), 4,33 (s, 3H), 2,05 (s, 3H).
E7-35	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((6-метоксипиридин-3-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-	LC-MS: масса/заряд 408 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 12,87 (s, 1H), 8,60 (s, 1H), 8,27 (d, 1H), 7,84-7,72 (m, 2H), 6,86 (d, 1H), 6,34 (d, 1H), 5,37 (s, 2H), 4,55 (s, 2H), 4,34 (s, 3H), 3,89 (s, 3H).

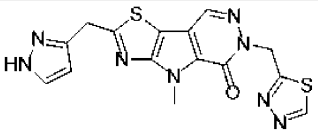
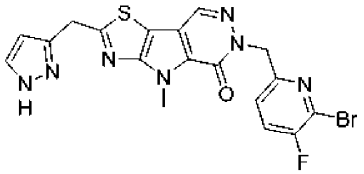
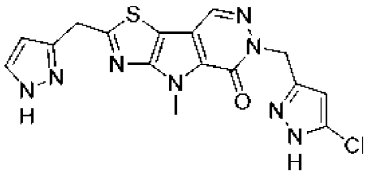
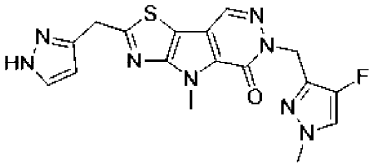
	d]пиридазин-5(6H)-он	
E7-36	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-6-((6-оксо-1,6-дигидропиридин-3-ил)метил)-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5] пирроло[2,3-d]пиридазин-5-он	LC-MS: масса/заряд 394 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 12,77 (s, 1H), 11,53 (s, 1H), 8,52 (s, 1H), 7,69 (s, 1H), 7,47 (dd, 1H), 7,40 (d, 1H), 6,27 (dd, 2H), 5,07 (s, 2H), 4,49 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).
E7-37	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((2-метоксипиридин-4-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d] пиридазин-5(6H)-он	LC-MS: масса/заряд 408 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 12,86 (s, 1H), 8,65 (d, 1H), 8,17 (d, 1H), 7,80 (s, 1H), 6,94-6,89 (m, 1H), 6,66 (s, 1H), 6,34 (d, 1H), 5,41 (s, 2H), 4,56 (s, 2H), 4,34 (s, 3H), 3,89 (s, 3H).
E7-38	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-6-((2-оксо-1,2-дигидропиридин-4-ил)метил)-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5] пирроло[2,3-d]пиридазин-5-он	LC-MS: масса/заряд 394 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 8,57 (s, 1H), 7,68 (s, 1H), 7,31 (d, 1H), 7,23 (t, 1H), 6,27 (d, 1H), 6,07 (dd, 1H), 5,97 (s, 1H), 5,17 (s, 2H), 4,51 (s, 2H), 4,27 (s, 3H).
E7-39	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((2-амино-1H-имидазол-4-ил)метил)-4-	LCMS: масса/заряд 382 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 12,80 (s, 1H), 8,46 (s, 1H), 8,39 (s, 1H), 7,66 (s, 1H), 6,34 (s, 1H), 6,26 (d, 1H), 5,18 (s, 2H), 5,06 (s, 2H), 4,49 (s, 2H), 4,27 (s, 3H).

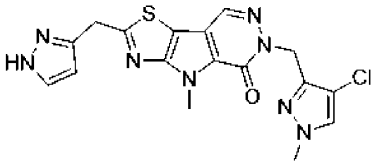
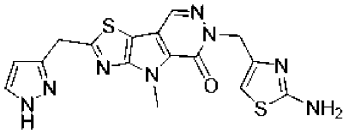
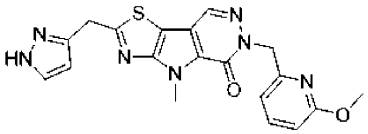
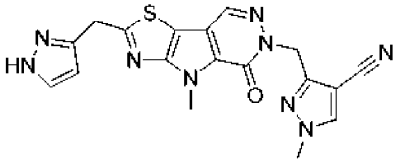
	метил-4Н-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d] пиридазин-5(6Н)-он	
Е7-40	 2-((1Н-Пиразол-3-ил)метил)-6-((6-(гидроксиамино)пиридин-2-ил)метил)-4-метил-4Н-тиазоло[5',4':4,5] пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6Н)-он	LCMS: масса/заряд 409 $(M+H)^+$. ^{1}Н ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 12,83 (s, 1Н), 8,74 (s, 1Н), 8,55-8,65 (m, 2Н), 7,79 (s, 1Н), 7,56 (t, 1Н), 6,77 (d, 1Н), 6,40 (d, 1Н), 6,32 (d, 1Н), 5,32 (s, 2Н), 4,52 (s, 2Н), 4,31 (s, 3Н).
Е7-41	 2-((1Н-пиразол-3-ил)метил)-6-(изотиазол-3-илметил)-4-метил-4Н-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6Н)-он	LCMS: ESI масса/заряд 384 $(M+H)^+$. ^{1}Н ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 9,01 (d, 1Н), 8,54 (s, 1Н), 7,67 (d, 1Н), 7,21 (d, 1Н), 6,27 (d, 1Н), 5,50 (s, 2Н), 4,51 (s, 2Н), 4,26 (s, 3Н).
Е7-42	 2-((1Н-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-6-((1-метил-1Н-1,2,3-триазол-5-ил)метил)-4Н-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d] пиридазин-5(6Н)-он	LCMS: ESI масса/заряд 382 $(M+H)^+$. ^{1}Н ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 12,78 (s, 1Н), 8,55 (s, 1Н), 7,71 (s, 1Н), 7,62 (s, 1Н), 6,26 (d, 1Н), 5,49 (s, 2Н), 4,48 (s, 2Н), 4,26 (s, 3Н), 4,10 (s, 3Н).
Е7-43	 2-((1Н-Пиразол-3-ил)метил)-4-метил-6-((1-метил-1Н-1,2,3-триазол-4-ил)метил)-4Н-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]	LCMS: ESI масса/заряд 382 $(M+H)^+$. ^{1}Н ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 12,78 (s, 1Н), 8,51 (s, 1Н), 7,96 (s, 1Н), 7,71 (s, 1Н), 6,27 (d, 1Н), 5,38 (s, 2Н), 4,49 (s, 2Н), 4,27 (s, 3Н), 3,99 (s, 3Н).

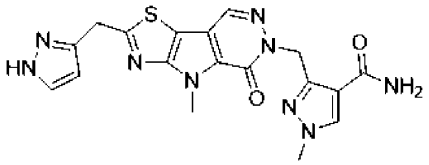
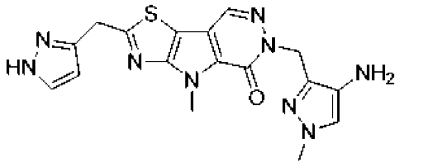
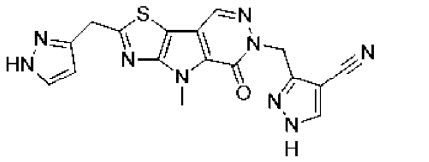
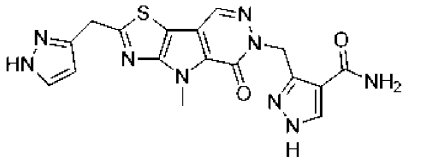
	пиридазин-5(6H)-он	
E7-44	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-6-(пиридин-2-илметил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: ESI масса/заряд 378 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 12,94 (s, 1H), 8,64 (s, 1H), 8,57 (d, 1H), 7,82 (m, 2H), 7,36 (m, 1H), 7,23 (d, 1H), 6,36 (d, 1H), 5,55 (s, 2H), 4,58 (s, 2H), 4,36 (s, 3H).
E7-45	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((4-хлор-1H-пиразол-5-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 401 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ 12,96 (s, 1H), 12,77 (s, 1H), 8,48 (s, 1H), 7,91 (s, 1H), 7,71 (s, 1H), 6,26 (d, 1H), 5,33 (s, 2H), 4,49 (s, 2H), 4,27 (s, 3H).
E7-46	 3-((2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-5-оксо-4,5-дигидро-6H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6-ил)метил)-1H-пиразол-5-карбоксамид	LCMS: масса/заряд 410 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ 13,34 (s, 1H), 12,81 (s, 1H), 8,54 (s, 1H), 7,70 (s, 2H), 7,26 (m, 1H), 6,64 (s, 1H), 6,27 (s, 1H), 5,35 (s, 2H), 4,50 (s, 2H), 4,28 (s, 3H).
E7-47	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((6-амино-3-фторпиридин-2-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LC-MS масса/заряд 411,0 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 12,79 (s, 1H), 8,46 (s, 1H), 7,73 (s, 1H), 7,29 (dd, 1H), 6,34 (dd, 1H), 6,27 (d, 1H), 5,74 (s, 2H), 5,30 (s, 2H), 4,46 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).

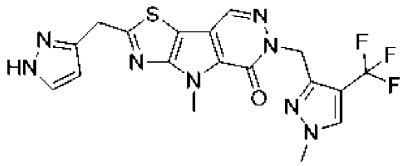
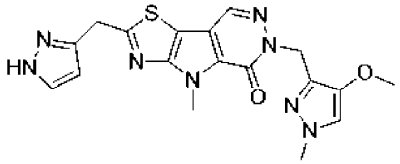
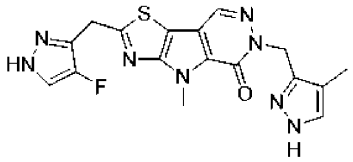
E7-48	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-6-((2-метил-2H-1,2,3-триазол-4-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LC-MS масса/заряд 382,0 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 12,79 (s, 1H), 8,51 (s, 1H), 7,68 (s, 1H), 7,68 (s, 1H), 6,26 (d, 1H), 5,38 (s, 2H), 4,50 (s, 2H), 4,26 (s, 3H), 4,08 (s, 3H).
E7-49	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((3-фтор-6-(метиламино)пиридин-2-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло [2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LC-MS масса/заряд 425 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 12,77 (s, 1H), 8,47 (s, 1H), 7,71 (s, 1H), 7,31 (t, 1H), 6,33-6,26 (m, 3H), 5,34 (s, 2H), 4,49 (s, 2H), 4,26 (s, 3H), 2,48 (s, 3H).
E7-50	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((6-амино-5-фторпиридин-2-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d] пиридазин-5(6H)-он	LCMS: (ESI) масса/заряд 411 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 8,59 (s, 1H), 7,73 (s, 1H), 7,29 (dd, 1H), 6,47-6,06 (m, 4H), 5,26 (s, 2H), 4,56 (s, 2H), 4,32 (s, 3H).
E7-51	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-6-(пиридин-4-илметил)-4H-тиазоло [5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: (ESI) масса/заряд 378 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 12,84 (s, 1H), 8,64 (s, 1H), 8,57 (d, 1H), 8,55 (d, 1H), 7,77 (s, 1H), 7,28 (d, 2H), 6,33 (d, 1H), 5,45 (s, 2H), 4,56 (s, 2H), 4,32 (s, 3H).

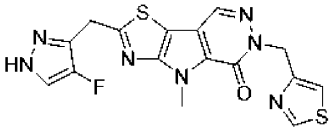
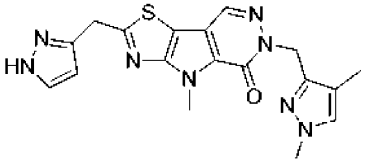
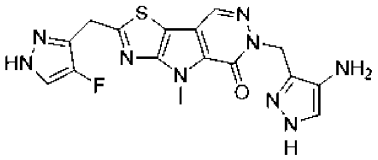
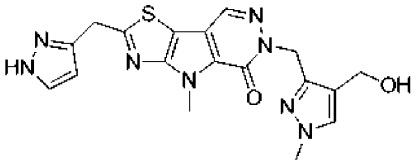
E7-52	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-6-(тиазол-5-илметил)-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-он	LCMS: (ESI) масса/заряд 384 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 12,85 (s, 1H), 9,01 (s, 1H), 8,54 (d, 1H), 7,95 (d, 1H), 7,74 (s, 1H), 6,24 (s, 1H), 5,55 (s, 2H), 4,46 (s, 2H), 4,30 (s, 3H).
E7-53	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-6-((6-метилпиридин-2-ил)метил)-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-он	LCMS: (ESI) масса/заряд 392 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 12,78 (s, 1H), 8,55 (s, 1H), 7,74 (s, 1H), 7,61 (dd, 1H), 7,14 (d, 1H), 6,81 (d, 1H), 6,26 (s, 1H), 5,39 (s, 2H), 4,50 (s, 2H), 4,26 (s, 3H), 2,43 (s, 3H).
E7-54	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-(изотиазол-4-илметил)-4-метил-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-он	LCMS: (ESI) масса/заряд 384 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 12,78 (s, 1H), 8,91 (s, 1H), 8,56 (s, 1H), 8,53 (s, 1H), 7,71 (s, 1H), 6,26 (s, 1H), 5,48 (s, 2H), 4,49 (s, 2H), 4,31 (s, 3H).
E7-55	 6-((1H-1,2,4-триазол-3-ил)метил)-2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-он	LCMS: (ESI) масса/заряд 368 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 13,85 (s, 1H), 12,78 (s, 1H), 8,51 (s, 1H), 8,49-8,21 (m, 1H), 7,71 (s, 1H), 6,27 (d, 1H), 5,41 (s, 2H), 4,49 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).

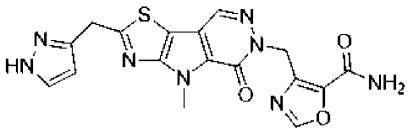
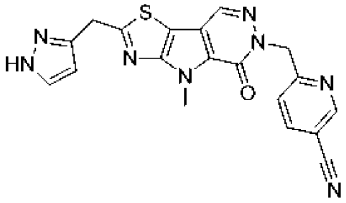
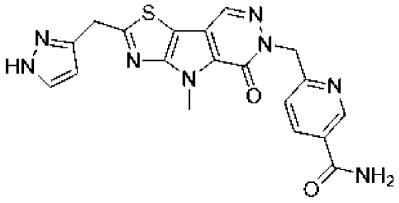
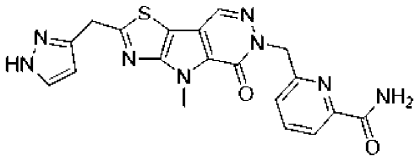
E7-56	 6-((1,3,4-тиадиазол-2-ил)метил)-2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-он	LCMS: (ESI) масса/заряд 385 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 12,79 (s, 1H), 9,57 (s, 1H), 8,61 (s, 1H), 7,71 (s, 1H), 6,26 (d, 1H), 5,80 (s, 2H), 4,49 (s, 2H), 4,27 (s, 3H).
E7-57	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((6-бром-5-фторпиридин-2-ил)метил)-4-метил-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-он	LCMS: (ESI) масса/заряд 476 $(M+2H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 12,78 (s, 1H), 8,57 (s, 1H), 7,81 (dd, 1H), 7,71 (s, 1H), 7,30 (dd, 1H), 6,26 (d, 1H), 5,43 (s, 2H), 4,49 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).
E7-58	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((5-хлор-1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-он	LCMS: (ESI) масса/заряд 401 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 13,01 (s, 1H), 12,95 (s, 1H), 8,53 (s, 1H), 7,68 (dd, 1H), 6,26 (d, 1H), 6,17 (s, 1H), 5,32 (s, 2H), 4,50 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).
E7-59	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((4-фтор-1-метил-1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-4,6-дигидро-5H-	LCMS: (ESI) масса/заряд 399 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 12,77 (s, 1H), 8,47 (s, 1H), 7,75 (d, 1H), 7,71 (s, 1H), 6,26 (s, 1H), 5,29 (s, 2H), 4,47 (s, 2H), 4,26 (s, 3H), 3,70 (s, 3H).

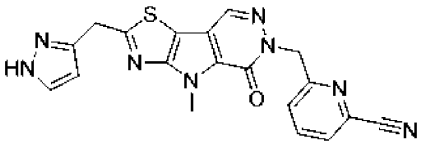
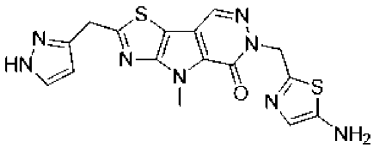
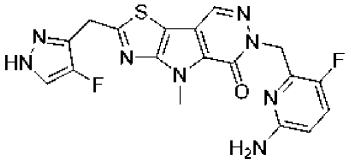
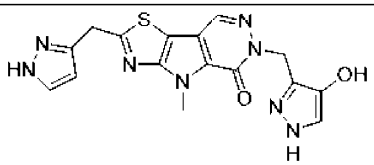
	тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-он	
E7-60	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((4-хлор-1-метил-1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-он	LCMS: (ESI) масса/заряд 415 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 12,82 (s, 1H), 8,52 (s, 1H), 7,92 (s, 1H), 7,76 (s, 1H), 6,31 (s, 1H), 5,34 (s, 2H), 4,53 (s, 2H), 4,31 (s, 3H), 3,79 (s, 3H).
E7-61	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((2-аминотиазол-4-ил)метил)-4-метил-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-он	LCMS: (ESI) масса/заряд 399 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 12,79 (s, 1H), 8,49 (s, 1H), 7,71 (s, 1H), 6,91 (s, 2H), 6,27 (s, 1H), 6,18 (s, 1H), 5,12 (s, 2H), 4,49 (s, 2H), 4,27 (s, 3H).
E7-62	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((6-метоксипиридин-2-ил)метил)-4-метил-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-он	LCMS: (ESI) масса/заряд 408 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 12,79 (s, 1H), 8,56 (s, 1H), 7,71 (s, 1H), 7,63 (dd, 1H), 6,68 (d, 1H), 6,60 (d, 1H), 6,27 (d, 1H), 5,36 (s, 2H), 4,51 (s, 2H), 4,26 (s, 3H), 3,76 (s, 3H).
E7-63	 3-((2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-5-оксо-4H-	LC-MS: масса/заряд 406 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,79 (s, 1H), 8,53 (s, 1H), 8,44 (s, 1H), 7,72 (s, 1H), 6,27 (s, 1H), 5,40 (s, 2H), 4,48 (s, 2H), 4,26 (s, 3H), 3,83 (s, 3H).

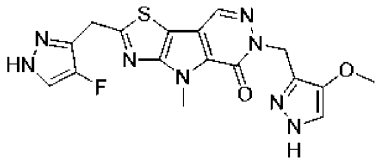
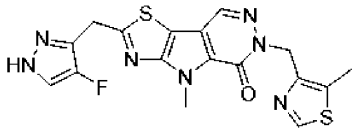
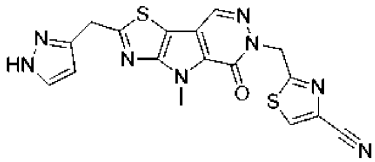
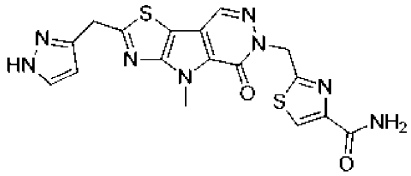
	тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6(5H)-ил)метил)-1-метил-1H-пиразол-4-карбонитрил	
E7-64	 3-((2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-5-оксо-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6(5H)-ил)метил)-1-метил-1H-пиразол-4-карбоксамид	LC-MS: масса/заряд 424 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,79 (s, 1H), 8,46 (s, 1H), 8,10 (s, 1H), 7,72 (s, 1H), 7,57 (s, 1H), 7,02 (s, 1H), 6,27 (s, 1H), 5,53 (s, 2H), 4,48 (s, 2H), 4,26 (s, 3H), 3,69 (s, 3H).
E7-65	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((4-амино-1-метил-1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LC-MS: масса/заряд 396 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 8,51 (s, 1H), 7,67 (s, 1H), 6,95 (s, 1H), 6,27 (d, 1H), 5,17 (s, 2H), 4,50 (s, 2H), 4,27 (s, 3H), 3,61 (s, 3H).
E7-66	 3-((2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-5-оксо-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6(5H)-ил)метил)-1H-пиразол-4-карбонитрил	LC-MS: масса/заряд 392 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 13,62 (s, 1H), 12,79 (s, 1H), 8,54 (m, 2H), 7,71 (s, 1H), 6,27 (d, 1H), 5,45 (s, 2H), 4,49 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).
E7-67		LC-MS: масса/заряд 410 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,75 (s, 2H), 8,48 (s, 1H), 8,17 (s, 1H), 7,68 (s, 1H), 7,56 (s, 1H), 7,01 (s, 1H), 6,27 (d,

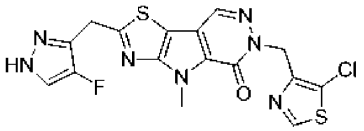
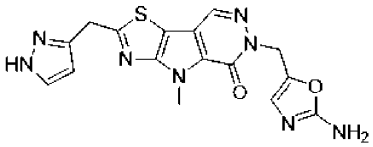
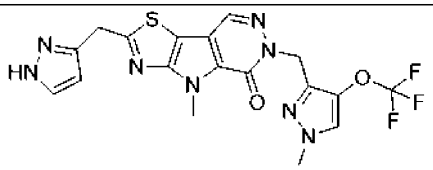
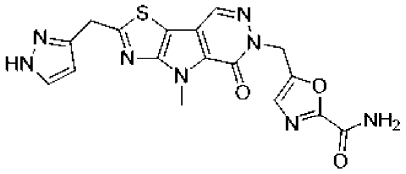
	3-((2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-5-оксо-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6(5H)-ил)метил)-1H-пиразол-4-карбоксамид	1H), 5,57 (s, 2H), 4,50 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).
E7-68	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-6-((1-метил-4-(трифторметил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LC-MS: масса/заряд 449 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,85 (s, 1H), 8,54 (s, 1H), 8,34 (d, 1H), 7,77 (s, 1H), 6,32 (s, 1H), 5,44 (d, 2H), 4,54 (s, 2H), 4,32 (s, 3H), 3,83 (s, 3H).
E7-69	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((4-метокси-1-метил-1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LC-MS: масса/заряд 411 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,77 (s, 1H), 8,43 (s, 1H), 7,71 (s, 1H), 7,41 (s, 1H), 6,26 (d, 1H), 5,20 (s, 2H), 4,48 (s, 2H), 4,26 (s, 3H), 3,65 (s, 3H), 3,61 (s, 3H).
E7-70	 2-((4-фтор-1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-6-((4-метил-1H-пиразол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LC-MS: масса/заряд 399 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,90-12,30 (m, 2H), 8,49 (s, 1H), 7,81 (s, 1H), 7,34 (s, 1H), 5,30 (s, 2H), 4,50 (s, 2H), 4,26 (s, 3H), 1,96 (s, 3H).

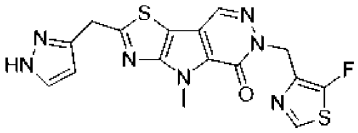
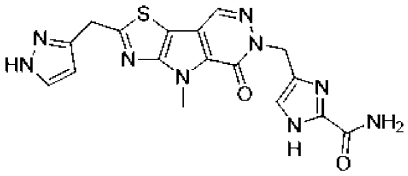
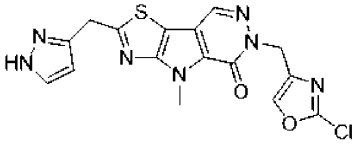
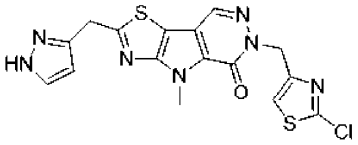
E7-71	 2-((4-фтор-1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-6-(тиазол-4-илметил)-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-он	LC-MS: масса/заряд 402 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,80 (s, 1H), 9,04 (d, 1H), 8,54 (s, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,49-7,39 (m, 1H), 5,48 (s, 2H), 4,50 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).
E7-72	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((1,4-диметил-1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LC-MS: масса/заряд 395 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,86 (s, 1H), 8,51 (s, 1H), 7,72 (s, 1H), 7,41 (s, 1H), 6,32 (s, 1H), 5,29 (s, 2H), 4,55 (s, 2H), 4,32 (s, 3H), 3,74 (s, 3H), 1,99 (s, 3H).
E7-73	 6-((4-амино-1H-пиразол-3-ил)метил)-2-((4-фтор-1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LC-MS: масса/заряд 400 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 8,53 (s, 1H), 7,80 (s, 1H), 6,96 (s, 1H), 5,23 (s, 2H), 4,50 (s, 2H), 4,27 (s, 3H).
E7-74	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((4-(гидроксиметил)-1-метил-1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LC-MS: масса/заряд 411 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,82 (s, 1H), 8,48 (s, 1H), 7,67 (s, 1H), 7,50 (s, 1H), 6,27 (d, 1H), 5,28 (s, 2H), 4,50 (s, 2H), 4,38 (s, 2H), 4,27 (s, 3H), 3,71 (s, 3H).

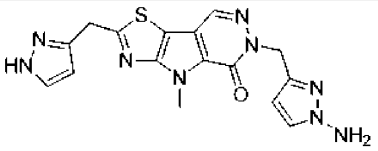
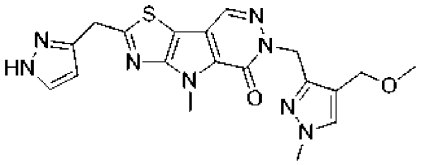
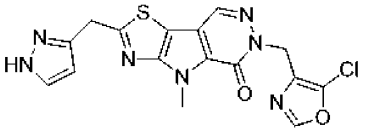
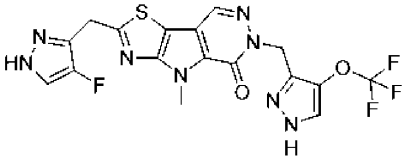
E7-75	 4-((2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-5-оксо-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6(5H)-ил)метил)оксазол-5-карбоксамид	LC-MS: масса/заряд 411 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,80 (s, 1H), 8,49 (s, 1H), 8,38 (s, 1H), 8,09 (s, 1H), 7,80 (s, 1H), 7,72 (s, 1H), 6,27 (d, 1H), 5,56 (s, 2H), 4,49 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).
E7-76	 6-((2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-5-оксо-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6(5H)-ил)метил)никотинонитрил	LC-MS: масса/заряд 403 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,82 (s, 1H), 8,94 (d, 1H), 8,57 (s, 1H), 8,26 (dd, 1H), 7,69 (s, 1H), 7,42 (d, 1H), 6,27 (d, 1H), 5,55 (s, 2H), 4,51 (s, 2H), 4,25 (s, 3H).
E7-77	 6-((2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-5-оксо-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6(5H)-ил)метил)никотинамид	LC-MS: масса/заряд 421 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,82 (s, 1H), 8,92 (d, 1H), 8,56 (s, 1H), 8,14 (dd, 2H), 7,69 (s, 1H), 7,57 (s, 1H), 7,23 (d, 1H), 6,27 (d, 1H), 5,50 (s, 2H), 4,51 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).
E7-78	 6-((2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-5-оксо-4H-	LC-MS: масса/заряд 421 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,79 (s, 1H), 8,59 (s, 1H), 7,97-7,82 (m, 3H), 7,75-7,60 (m, 2H), 7,26 (dd, 1H), 6,27 (d, 1H), 5,53 (s, 2H), 4,51 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).

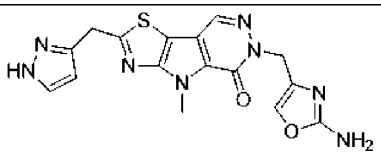
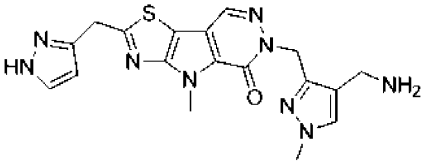
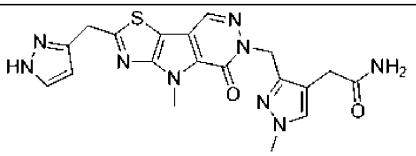
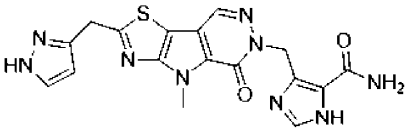
	тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6(5H)-ил)метил)пиколинамид	
E7-79	 6-((2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-5-оксо-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6(5H)-ил)метил)пиколинонитрил	LC-MS: масса/заряд 403 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 8,64 (s, 1H), 8,12-7,98 (m, 2H), 7,74 (s, 1H), 7,60 (d, 1H), 6,33 (d, 1H), 5,57 (s, 2H), 4,57 (s, 2H), 4,32 (s, 3H).
E7-80	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((5-аминотиазол-2-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LC-MS: масса/заряд 399 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,79 (s, 1H), 8,55 (s, 1H), 7,68 (s, 1H), 6,89 (s, 1H), 6,27 (s, 1H), 5,58 (s, 2H), 5,36 (s, 2H), 4,50 (s, 2H), 4,27 (s, 3H).
E7-81	 6-((6-амино-3-фторпиридин-2-ил)метил)-2-((4-фтор-1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LC-MS: масса/заряд 429 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,84 (s, 1H), 8,48 (s, 1H), 7,88 (d, 1H), 7,29 (t, 1H), 6,34 (dd, 1H), 5,76 (s, 2H), 5,31 (s, 2H), 4,51 (s, 2H), 4,23 (s, 3H).
E7-82	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((4-гидрокси-1H-пиразол-3-ил)метил)-4-	LC-MS: масса/заряд 383 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,85 (s, 1H), 12,10 (s, 1H), 8,57 (s, 1H), 8,32 (s, 1H), 7,77 (s, 1H), 7,21 (s, 1H), 6,33 (d, 1H), 5,32 (s, 2H), 4,55 (s, 2H), 4,34 (s, 3H).

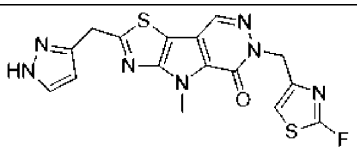
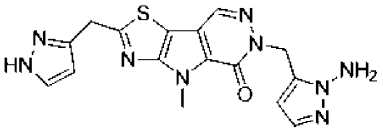
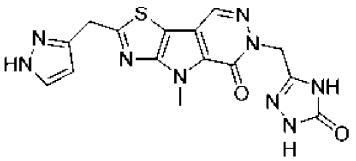
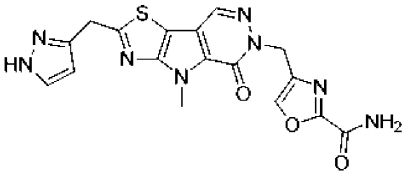
	метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	
E7-83	 2-((4-фтор-1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((4-метокси-1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LC-MS: масса/заряд 415 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,76 (s, 1H), 12,13 (s, 1H), 8,45 (s, 1H), 7,87 (s, 1H), 7,39 (s, 1H), 5,25 (s, 2H), 4,49 (s, 2H), 4,26 (s, 3H), 3,63 (s, 3H).
E7-84	 2-((4-фтор-1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-6-((5-метилтиазол-4-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LC-MS: масса/заряд 416 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,78 (s, 1H), 8,75 (s, 1H), 8,49 (s, 1H), 7,85 (s, 1H), 5,39 (s, 2H), 4,50 (s, 2H), 4,26 (s, 3H), 2,51 (s, 3H).
E7-85	 2-((2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-5-оксо-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6(5H)-ил)метил)тиазол-4-карбонитрил	LC-MS: масса/заряд 409 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,80 (s, 1H), 8,82 (s, 1H), 8,63 (s, 1H), 7,69 (s, 1H), 6,27 (d, 1H), 5,69 (s, 2H), 4,51 (s, 2H), 4,27 (s, 3H).
E7-86	 2-((2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-5-оксо-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-	LC-MS: масса/заряд 427 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 8,63 (s, 1H), 8,19 (s, 1H), 7,76-7,63 (m, 2H), 7,57 (s, 1H), 6,27 (s, 1H), 5,67 (s, 2H), 4,51 (s, 2H), 4,28 (s, 3H).

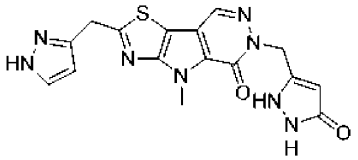
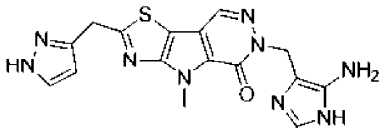
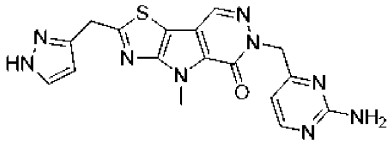
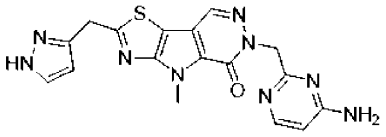
	d]пиридазин-6(5H)-ил)метил)тиазол-4-карбоксамид	
E7-87	 6-((5-хлортиазол-4-ил)метил)-2-((4-фтор-1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LC-MS: масса/заряд 436 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,83 (s, 1H), 8,94 (s, 1H), 8,51 (s, 1H), 7,83 (s, 1H), 5,43 (s, 2H), 4,51 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).
E7-88	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((2-аминооксазол-5-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LC-MS: масса/заряд 383 $(M+H)^{+.}$ ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,79 (s, 1H), 8,50 (s, 1H), 7,70 (s, 1H), 6,65 (s, 1H), 6,57 (s, 2H), 6,23 (d, 1H), 5,21 (s, 2H), 4,49 (s, 2H), 4,27 (s, 3H).
E7-89	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-6-((1-метил-4-(трифторметокси)-1H-пиразол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LC-MS: масса/заряд 465 (M+H). ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,78 (s, 1H), 8,48 (s, 1H), 7,99 (s, 1H), 7,72 (s, 1H), 6,27 (d, 1H), 5,31 (s, 2H), 4,49 (s, 2H), 4,27 (s, 3H), 3,76 (s, 3H).
E7-90	 5-((2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-5-оксо-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6(5H)-ил)метил)оксазол-2-	LC-MS: масса/заряд 411 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,78 (s, 1H), 8,56 (s, 1H), 8,17 (s, 1H), 7,84 (s, 1H), 7,72 (s, 1H), 7,34 (s, 1H), 6,27 (s, 1H), 5,48 (s, 2H), 4,49 (s, 2H), 4,27 (s, 3H).

	карбоксамид	
E7-91	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((5-фтортиазол-4-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LC-MS: масса/заряд 402 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,78 (s, 1H), 8,57 (d, 1H), 8,50 (s, 1H), 7,71 (s, 1H), 6,26 (d, 1H), 5,38 (d, 2H), 4,49 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).
E7-92	 4-((2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-5-оксо-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6(5H)-ил)метил)-1H-имидазол-2-карбоксамид	LC-MS: масса/заряд 410 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,83 (s, 1H), 8,49 (s, 1H), 7,67 (s, 2H), 7,38 (s, 1H), 7,06 (s, 1H), 6,26 (d, 1H), 5,30 (s, 2H), 4,49 (s, 2H), 4,27 (s, 3H).
E7-93	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((2-хлороксазол-4-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LC-MS: масса/заряд 402 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,79 (s, 1H), 8,52 (s, 1H), 8,17 (s, 1H), 7,71 (s, 1H), 6,26 (d, 1H), 5,23 (s, 2H), 4,49 (s, 2H), 4,27 (s, 3H).
E7-94	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((2-хлортиазол-4-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LC-MS: масса/заряд 418 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,82 (s, 1H), 8,58 (s, 1H), 7,75 (s, 1H), 7,49 (s, 1H), 6,31 (d, 1H), 5,42 (s, 2H), 4,54 (s, 2H), 4,31 (s, 3H).

E7-95	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((1-амино-1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LC-MS: масса/заряд 382 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 8,48 (s, 1H), 7,67 (s, 1H), 7,37 (d, 1H), 6,34 (d, 2H), 6,27 (d, 1H), 6,00 (d, 1H), 5,24 (s, 2H), 4,50 (s, 2H), 4,27 (s, 3H).
E7-96	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((4-(метоксиметил)-1-метил-1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LC-MS: масса/заряд 425 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,79 (s, 1H), 8,46 (s, 1H), 7,72 (s, 1H), 7,59 (s, 1H), 6,27 (s, 1H), 5,28 (s, 2H), 4,48 (s, 2H), 4,29-4,25 (m, 5H), 3,73 (s, 3H), 3,11 (s, 3H).
E7-97	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((5-хлороксазол-4-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LC-MS: масса/заряд 402 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,78 (s, 1H), 8,52 (s, 1H), 8,39 (s, 1H), 7,68 (s, 1H), 6,27 (d, 1H), 5,24 (s, 2H), 4,50 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).
E7-98	 2-((4-фтор-1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-6-((4-(трифторметокси)-1H-пиразол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LC-MS: масса/заряд 469 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 13,37-12,75 (m, 2H), 8,65-8,50 (m, 1H), 8,15-7,58 (m, 2H), 5,49-5,36 (m, 2H), 4,67-4,50 (m, 2H), 4,32 (s, 3H).

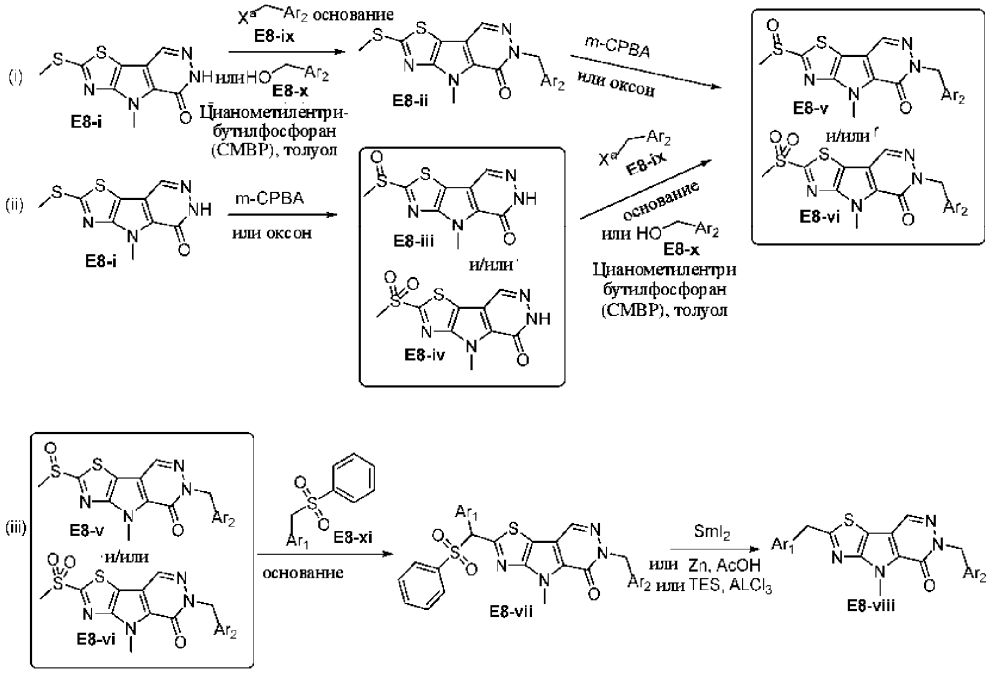
E7-99	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((2-аминооксазол-4-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LC-MS: масса/заряд 383 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,84 (s, 1H), 8,53 (s, 1H), 7,77 (s, 1H), 7,25 (s, 1H), 6,58 (s, 2H), 6,32 (d, 1H), 5,10 (s, 2H), 4,54 (s, 2H), 4,32 (s, 3H).
E7-100	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((4-(аминометил)-1-метил-1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LC-MS: масса/заряд 410 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,89 (s, 1H), 8,58 (s, 1H), 8,45 (s, 1H), 7,77-7,64 (m, 2H), 6,33 (d, 1H), 5,39 (s, 2H), 4,57 (s, 2H), 4,33 (s, 3H), 3,96 (s, 2H), 3,82 (s, 3H).
E7-101	 2-(3-((2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-5-оксо-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6(5H)-ил)метил)-1-метил-1H-пиразол-4-ил)ацетамид	LC-MS: масса/заряд 438 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,78 (s, 1H), 8,46 (s, 1H), 7,72 (s, 1H), 7,44 (s, 1H), 7,25 (s, 1H), 6,80 (s, 1H), 6,26 (d, 1H), 5,26 (s, 2H), 4,48 (s, 2H), 4,26 (s, 3H), 3,70 (s, 3H), 3,31 (s, 2H).
E7-102	 4-((2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-5-оксо-4,5-дигидро-6H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6-ил)метил)-1H-имидазол-5-карбоксамид	LC-MS: масса/заряд 410 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,79 (s, 1H), 12,10 (s, 1H), 8,51 (s, 1H), 7,72 (s, 1H), 7,53 (s, 1H), 7,29 (s, 1H), 7,08 (s, 1H), 6,27 (d, 1H), 5,72 (s, 2H), 4,50 (s, 2H), 4,30 (s, 3H).

E7-103	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((2-фтортиазол-4-ил)метил)-4-метил-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-он	LC-MS: масса/заряд 402 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,85 (s, 1H), 8,59 (s, 1H), 7,80 (d, 1H), 7,14 (s, 1H), 6,33 (d, 1H), 5,36 (d, 2H), 4,53 (d, 2H), 4,33 (s, 3H).
E7-104	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((1-амино-1H-пиразол-5-ил)метил)-4-метил-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-он	LC-MS: масса/заряд 382 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,80 (s, 1H), 8,53 (s, 1H), 7,69 (s, 1H), 7,16 (d, 1H), 6,30 (s, 2H), 6,27 (s, 1H), 5,88 (s, 1H), 5,41 (s, 2H), 4,50 (s, 2H), 4,27 (s, 3H).
E7-105	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-6-((5-оксо-4,5-дигидро-1H-1,2,4-триазол-3-ил)метил)-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-он	LC-MS: масса/заряд 384 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,79 (s, 1H), 11,31 (s, 1H), 8,54 (d, 1H), 7,69 (s, 1H), 6,27 (d, 1H), 5,17 (d, 2H), 4,51 (s, 2H), 4,27 (s, 3H).
E7-106	 4-((2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-5-оксо-4,5-дигидро-6H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6-ил)метил)оксазол-2-	LC-MS: масса/заряд 411 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,78 (s, 1H), 8,52 (s, 1H), 8,25-8,12 (m, 2H), 7,84 (s, 1H), 7,70 (s, 1H), 6,26 (d, 1H), 5,30 (s, 2H), 4,48 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).

	карбоксамид	
E7-107	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-6-((5-оксо-2,5-дигидро-1H-пиразол-3-ил)метил)-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-он	LC-MS: масса/заряд 383 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,79 (s, 1H), 8,51 (s, 1H), 8,36 (s, 2H), 7,67 (s, 1H), 6,26 (d, 1H), 5,31 (s, 1H), 5,19 (s, 2H), 4,49 (s, 2H), 4,27 (s, 3H).
E7-108	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((5-амино-1H-имидазол-4-ил)метил)-4-метил-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-он	LC-MS: масса/заряд 382 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,79 (s, 1H), 11,47 (s, 1H), 8,52 (s, 1H), 7,68 (s, 1H), 7,04 (s, 1H), 6,27 (s, 1H), 5,17 (s, 2H), 4,50 (s, 2H), 4,28 (s, 3H).
E7-109	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((2-аминопиримидин-4-ил)метил)-4-метил-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-он	LC-MS: масса/заряд 394 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,78 (s, 1H), 8,56 (s, 1H), 8,11 (d, 1H), 7,71 (s, 1H), 6,60 (s, 2H), 6,27 (d, 1H), 6,18 (d, 1H), 5,19 (s, 2H), 4,50 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).
E7-110	 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((4-аминопиримидин-2-ил)метил)-4-метил-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-он	LC-MS: масса/заряд 394 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,84 (s, 1H), 8,55 (s, 1H), 7,99 (d, 1H), 7,77 (s, 1H), 6,86 (s, 2H), 6,44-6,16 (m, 2H), 5,28 (s, 2H), 4,57 (s, 2H), 4,32 (s, 3H).

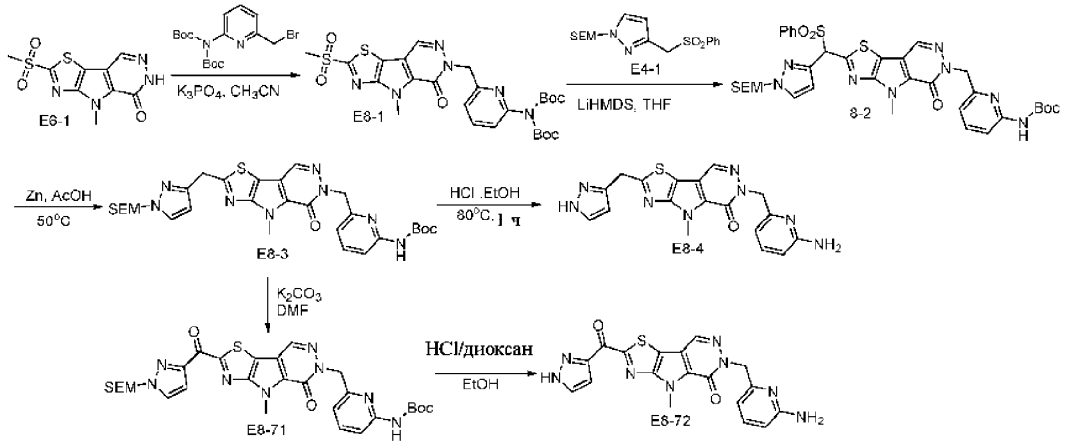
Пример 8. Синтез соединений E8-v, E8-vi и E8-viii.

Схема E8



Соединение E8-i можно превратить в промежуточное соединение E8-ii посредством либо реакции алкилирования, либо реакции Мицунобу, аналогично примеру с E7-iii по E7-vi (см. путь (i) на схеме E8). Окисление E8-ii с помощью либо mCPBA, либо оксона обеспечивает образование соединений E8-v и/или E8-vi. Как соединение E8-v, так и соединение E8-vi также могут быть образованы из E8-i путем сначала окисления, затем алкилирования или реакции Мицунобу (см. путь (ii) на схеме E8). При этом X^a представляет собой уходящую группу (например, Cl, Br, I, OMs, OTs); соединение E8-v и/или E8-vi можно превратить в промежуточное соединение E8-vii посредством реакции нуклеофильного ароматического замещения с соединением E8-xi с применением основания, такого как LiHMDS или t-BuOK. Соединение E8-viii можно синтезировать из соединения E8-vii с применением либо SmI_2, либо Zn в AcOH или TES в $AlCl_3$. Как используется в данном документе, каждый из Ar1 и Ar2 независимо представляет собой необязательно замещенный 5-членный или 6-членный гетероарил.

Пример 8A. Синтез 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((6-аминопиридин-2-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она и 6-((6-аминопиридин-2-ил)метил)-4-метил-2-(1H-пиразол-3-карбонил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она.



Стадия A. трет-Бутил-N-[(трет-бутокси)карбонил]-N-[6-({4-метансульфонил-7-метил-9-оксо-3-тиа-5,7,10,11-тетраазатрицикло[6.4.0.0{2,6}]додека-1(8),2(6),4,11-тетраен-10-ил}метил)пиридин-2-ил]карбамат.

Смесь 4-метил-2-(метилсульфонил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она (7,5 г, 26,4 ммоль) и K_3PO_4 (8,3 г, 39,3 ммоль) в безводном MeCN (300 мл) перемешивали при 70°C в течение 1 ч в атмосфере N_2. Затем добавляли раствор трет-бутил-N-[(трет-бутокси)карбонил]-N-[6-(бромметил)пиридин-2-ил]карбамата (11,2 г, 29,0 ммоль) в MeCN (30 мл). После перемешивания при 70°C в течение 2,5 ч в атмосфере N_2 реакционную смесь гасили с помощью насыщ. NH_4Cl и экстрагировали с помощью EA (300 мл X 3). Объединенные органические слои промывали водой и солевым раствором, высушивали над Na_2SO_4, фильтровали и органическую фазу концентрировали. Неочищенный продукт очищали с помо-

щью флэш-хроматографии (силикагель, 0-50% этилацетат в петролейном эфире) с получением трет-бутил-N-[(трет-бутокси)карбонил]-N-[6-({4-метансульфонил-7-метил-9-оксо-3-тиа-5,7,10,11-тетраазатрицикло[6.4.0.0 {2,6 }]додека-1(8),2(6),4,11-тетраен-10-ил}метил)пиридин-2-ил]карбамата (5,5 г). С помощью LC-MS (ESI) обнаружили: 591,1 $(M+H)^+$.

Стадия B. трет-Бутил-(6-((4-метил-5-оксо-2-((фенилсульфонил)(1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6(5H)-ил)метил)пиридин-2-ил)карбамат.

К перемешиваемой смеси 3-((фенилсульфонил)метил)-1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразола (11,9 г, 33,8 ммоль) в безводном THF (200 мл) добавляли LiHMDS (50 мл, 1 M в THF) при -40°C в атмосфере аргона. Через 10 мин. смесь нагревали до 10°C и перемешивали в течение 1 ч, затем добавляли трет-бутил-N-[(трет-бутокси)карбонил]-N-[6-({4-метансульфонил-7-метил-9-оксо-3-тиа-5,7,10,11-тетраазатрицикло[6.4.0.0 {2,6}]додека-1(8),2(6),4,11-тетраен-10-ил}метил)пиридин-2-ил]карбамат (9,1 г, 15,4 ммоль в 35 мл THF). Реакционную смесь перемешивали при 10°C в течение еще 30 мин. Реакционную смесь выливали в водн. NH_4Cl, экстрагировали с помощью EtOAc (200 мл X 3). Объединенные органические слои промывали с помощью воды и солевого раствора, высушивали над безводным Na_2SO_4 и концентрировали. Неочищенный продукт очищали с помощью флэш-хроматографии (силикагель, 0-50% этилацетат в петролейном эфире) с получением трет-бутил-(6-((4-метил-5-оксо-2-((фенилсульфонил)(1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6(5H)-ил)метил)пиридин-2-ил)карбамата (6,6 г). С помощью LC-MS (ESI) обнаружили: 763,2 $(M+H)^+$.

Стадия C. трет-Бутил-(6-((4-метил-5-оксо-2-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6(5H)-ил)метил)пиридин-2-ил)карбамат.

Раствор трет-бутил-(6-((4-метил-5-оксо-2-((фенилсульфонил)(1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6(5H)-ил)метил)пиридин-2-ил)карбамата (6,0 г, 7,86 ммоль) в EtOH/AcOH (35 мл/50 мл) нагревали до 50°C с энергичным перемешиванием в присутствии Zn (2,55 г, 117,9 ммоль) в течение 40 мин. Дополнительное количество цинка добавляли каждые 40 мин. (2,55 г, дважды, при этом реакцию контролировали с помощью TLC/LC-MS, чтобы избежать получения побочного продукта и избыточного восстановленного продукта). Раствор фильтровали и осадок на фильтре промывали с помощью DCM. Фильтрат частично выпаривали, нейтрализовали с помощью насыщенного раствора $NaHCO_3$, высушивали над $MgSO_4$ и удаляли растворитель под вакуумом. Неочищенный продукт очищали с помощью флэш-хроматографии (силикагель, DCM:MeOH=40:1) с получением трет-бутил-(6-((4-метил-5-оксо-2-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6(5H)-ил)метил)пиридин-2-ил)карбамата (3,1 г). С помощью LC-MS (ESI) обнаружили: 623,3 $(M+H)^+$.

Стадия D. 2-((1H-Пиразол-3-ил)метил)-6-((6-аминопиридин-2-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он.

К смеси трет-бутил-(6-((4-метил-5-оксо-2-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6(5H)-ил)метил)пиридин-2-ил)карбамата (3,0 г, 4,8 ммоль) в этаноле (30 мл) добавляли HCl (30 мл, 4 M в диоксане). Реакционную смесь перемешивали при 80°C в течение 40 мин. Реакционную смесь охлаждали до к.т., фильтровали и твердое вещество собирали, суспендировали в воде и нейтрализовали с помощью водного $NaHCO_3$ при 10°C. Фильтровали с получением необходимого соединения 2-((1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((6-аминопиридин-2-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она (1,5 г). С помощью LC-MS (ESI) обнаружили: 393,2 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 12,78 (s, 1H), 8,53 (s, 1H), 7,72 (s, 1H), 7,25 (dd, 1H), 6,33-6,24 (m, 2H), 6,08 (d, 1H), 5,90 (s, 2H), 5,19 (s, 2H), 4,49 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).

Стадия E. Синтез трет-бутил-(6-((4-метил-5-оксо-2-(1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-карбонил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6(5H)-ил)метил)пиридин-2-ил)карбамата.

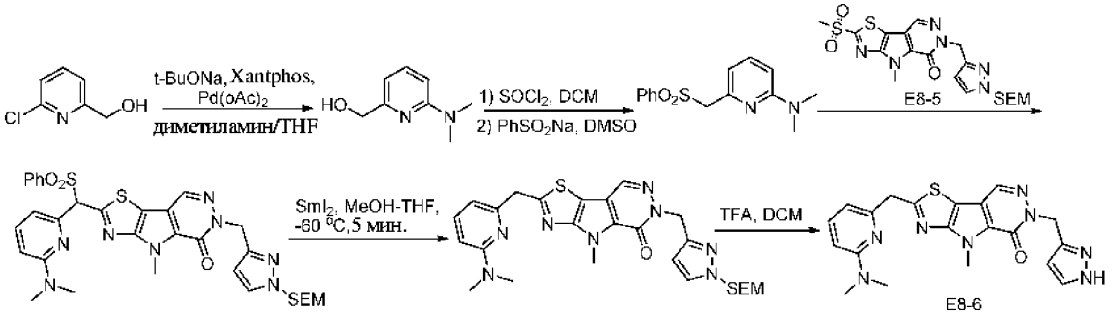
К раствору трет-бутил-(6-((4-метил-5-оксо-2-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6(5H)-ил)метил)пиридин-2-ил)карбамата (100 мг, 0,16 ммоль) в DMF (2 мл) добавляли K_2CO_3 (88 мг, 0,64 ммоль). Смесь перемешивали при 70°C в течение 8 ч. Смесь выливали в воду, осадок собирали путем фильтрации и очищали с помощью препаративной TLC (2% MeOH в DCM) с получением трет-бутил-(6-((4-метил-5-оксо-2-(1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-карбонил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6(5H)-ил)метил)пиридин-2-ил)карбамата (20 мг). LC-MS (ESI): масса/заряд 637 $(M+H)^+$.

Стадия F. Синтез 6-((6-аминопиридин-2-ил)метил)-4-метил-2-(1H-пиразол-3-карбонил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она.

К раствору трет-бутил-(6-((4-метил-5-оксо-2-(1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-карбонил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6(5H)-ил)метил)пиридин-2-ил)карбамата (20 мг, 0,03 ммоль) в EtOH (1 мл) добавляли HCl (1 мл, 4 моль/л в диоксане). Смесь перемешивали при 80°C в течение 1 ч и охлаждали. Осадок собирали путем фильтрации и нейтрализовали с помощью насыщ. $NaHCO_3$, промывали с помощью воды и высушивали с получением 5 мг 6-((6-аминопиридин-2-ил)метил)-4-метил-2-(1H-пиразол-3-карбонил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она. LC-MS (ESI):

масса/заряд 407 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ : 8,75 (s, 1H), 7,96 (s, 1H), 7,50 (s, 1H), 7,31-7,22 (m, 1H), 6,31 (d, 1H), 6,14 (d, 1H), 5,91 (s, 2H), 5,23 (s, 2H), 4,38 (s, 3H).

Пример 8B. Синтез 6-((1H-пиразол-3-ил)метил)-2-((6-(диметиламино)пиридин-2-ил)метил)-4-метил-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-она.



Стадия A. (6-(Диметиламино)пиридин-2-ил)метанол.

К раствору (6-хлорпиридин-2-ил)метанола (500 мг, 2,67 ммоль) в диметиламине в THF (35 мл) добавляли Pd(OAc)2 (78 мг, 0,35 ммоль), Xantphos (170 мг, 0,29 ммоль) и т-BuONa (385 мг, 4,01 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 100°C в течение 18 ч Реакционную смесь фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью флэш-хроматографии (силикагель, 0-35% этилацетат в петролейном эфире) с получением (6-(диметиламино)пиридин-2-ил)метанола (180 мг). LCMS: 153 $(M+H)^+$.

Стадия B. 6-(Хлорметил)-N, N-диметилпиридин-2-амин.

К перемешиваемой смеси (6-(диметиламино)пиридин-2-ил)метанола (170 мг, 1,1 ммоль) в DCM (10 мл) добавляли $SOCl_2$ (665 мг, 5,6 ммоль) при 0°C. Реакционную смесь перемешивали при к.т. в течение 1 ч. Реакционную смесь регулировали до pH= 7~8 с помощью водн. $NaHCO_3$. Затем смесь экстрагировали с помощью DCM, промывали с помощью воды и солевого раствора. Органический слой высушивали над Na_2SO_4, концентрировали при пониженном давлении с получением 6-(хлорметил)-N, N-диметилпиридин-2-амина (70 мг). LCMS: 171 $(M+H)^+$.

Стадия C. N, N-Диметил-6-((фенилсульфонил)метил)пиридин-2-амин.

К перемешиваемой смеси 6-(хлорметил)-N, N-диметилпиридин-2-амина (500 мг, 2,94 ммоль) в DMSO (10 мл) добавляли $PhSO_2Na$ (1,44 г, 8,82 ммоль) при к.т. Смесь перемешивали при к.т. в течение 18 ч. Реакционную смесь выливали в воду и экстрагировали с помощью DCM. Смесь промывали водой и органический слой концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью флэш-хроматографии (силикагель, 0-20% этилацетат в петролейном эфире) с получением N, N-диметил-6-((фенилсульфонил)метил)пиридин-2-амина (380 мг). LCMS: 277 $(M+H)^+$.

Стадия D. 2-((6-(Диметиламино)пиридин-2-ил)(фенилсульфонил)метил)-4-метил-6-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он.

К перемешиваемой смеси 4-метил-2-(метилсульфонил)-6-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она (180 мг, 0,36 ммоль), который синтезировали аналогично соединению E8-1 в примере 8A, в сухом THF (10 мл) добавляли N, N-диметил-6-((фенилсульфонил)метил)пиридин-2-амин (120 мг, 0,44 ммоль) и t-BuOK (122 мг, 1,1 ммоль) при 60°C в атмосфере N_2. Смесь перемешивали при 60°C в течение 2 ч в атмосфере N_2. Затем смесь выливали в воду и экстрагировали с помощью EtOAc, промывали с помощью воды и солевого раствора. Органический слой высушивали над Na_2SO_4, концентрировали при пониженном давлении и очищали с помощью препаративной TLC (PE:EtOAc=1:1,5) с получением 2-((6-(диметиламино)пиридин-2-ил)(фенилсульфонил)метил)-4-метил-6-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она (50 мг). LCMS: 691 $(M+H)^+$.

Стадия E. 2-((6-(Диметиламино)пиридин-2-ил)метил)-4-метил-6-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он.

К смеси 2-((6-(диметиламино)пиридин-2-ил)(фенилсульфонил)метил)-4-метил-6-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она (50 мг, 0,07 ммоль) в THF (5 мл) и MeOH (5 мл) при к.т. в атмосфере N_2 добавляли SmI_2 (5 мл, 0,1 M в THF) при -40°C. Реакционную смесь перемешивали при -40°C в течение 10 мин. и затем гасили с помощью воды. Последующую смесь экстрагировали с помощью EtOAc дважды. Объединенные органические слои промывали солевым раствором (30 мл), высушивали над безводным Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью препаративной TLC (PE/EtOAc=1/1,5) с получением необходимого продукта (10 мг). LCMS: масса/заряд 551 $(M+H)^+$.

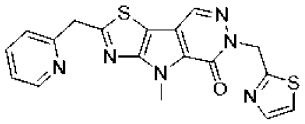
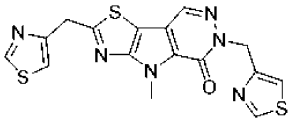
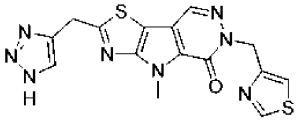
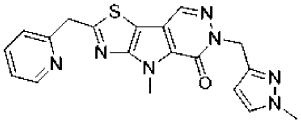
Стадия F. 6-((1H-Пиразол-3-ил)метил)-2-((6-(диметиламино)пиридин-2-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он.

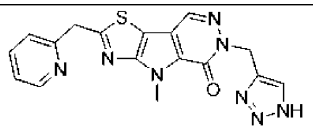
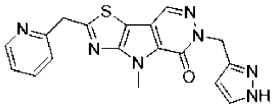
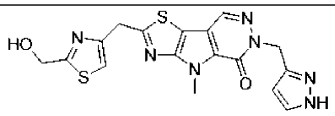
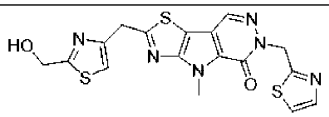
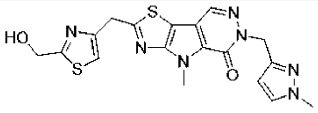
Смесь 2-((6-(диметиламино)пиридин-2-ил)метил)-4-метил-6-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она (10 мг, 0,018 ммоль) в

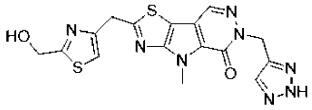
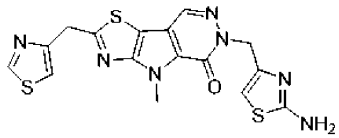
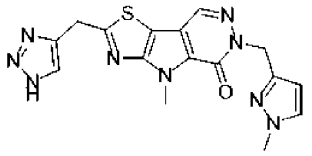
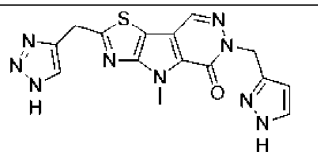
DCM/TFA (2 мл/2 мл) перемешивали при к.т. в течение 1 ч. Реакционную смесь концентрировали. Остаток очищали с помощью препаративной HPLC с получением необходимого продукта (1,4 мг). LCMS: 421 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 8,51 (s, 1H), 7,55 (s, 1H), 7,48 (dd, 1H), 6,64 (d, 1H), 6,54 (d, 1H), 6,11 (d, 1H), 5,32 (s, 2H), 4,44 (s, 2H), 4,26 (s, 3H), 3,05 (s, 6H).

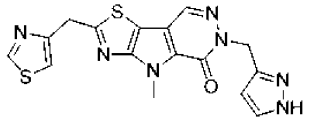
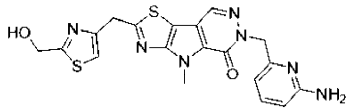
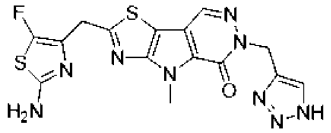
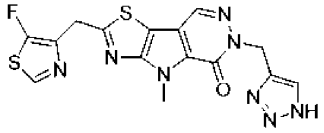
Следующие соединения синтезировали согласно схеме E8 и примеру 8C с применением подходящего исходного материала. При необходимости можно использовать стандартное введение и удаление защитной группы.

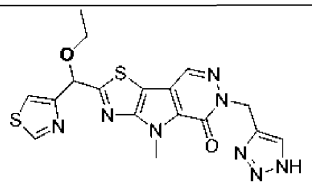
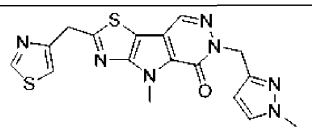
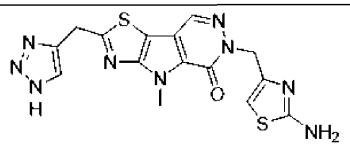
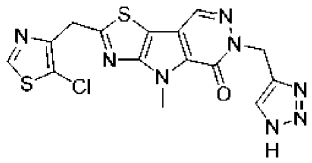
№ соед.	Структура и химическое название	Характеристика
E8-7	6-((1H-Пиразол-3-ил)метил)-2-((6-аминопиридин-2-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: 393$(M+H)^+$. ^{1}H-ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 12,67 (s, 1H), 8,50 (s, 1H), 7,62 (s, 1H), 7,46 (s, 1H), 6,60 (d, 1H), 6,45 (s, 1H), 6,11 (d, 1H), 5,33 (s, 2H), 4,42 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).
E8-8	2-((1H-1,2,3-Триазол-4-ил)метил)-4-метил-6-(тиазол-2-илметил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 385 $(M+H)^+$. 1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ 8,60 (s, 1H), 7,89 (s, 1H), 7,75 (d, 1H), 7,67 (d, 1H), 5,65 (s, 2H), 4,63 (s, 2H), 4,27 (s, 3H).
E8-9	2-((1H-Пиразол-3-ил)метил)-4-метил-6-(оксазол-4-илметил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 368 $(M+H)^+$. 1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ 12,79 (s, 1H), 8,51 (s, 1H), 8,29 (s, 1H), 8,00 (s, 1H), 7,68 (s, 1H), 6,26 (s, 1H), 5,26 (s, 2H), 4,49 (s, 2H), 4,27 (s, 3H).
E8-10	2-((6-Аминопиридин-2-ил)метил)-4-метил-6-(тиазол-4-илметил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 410 $(M+H)^+$. 1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ 9,03 (d, 1H), 8,52 (s, 1H), 7,42 (d, 1H), 7,36 (t, 1H), 6,55 (d, 1H), 6,35 (d, 1H), 5,98 (s, 2H), 5,48 (s, 2H), 4,37 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).
E8-11	4-Метил-6-(тиазол-2-илметил)-2-	LC-MS: масса/заряд 401 $(M+H)^+$. 1H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 9,13 (d, 1H), 8,60 (s, 1H), 7,75 (d, 1H), 7,72 (d, 1H), 7,67 (d, 1H), 5,65 (s, 2H), 4,71 (s,

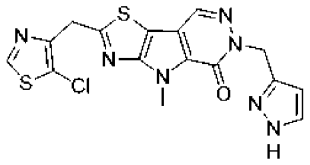
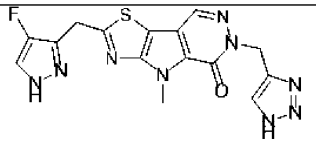
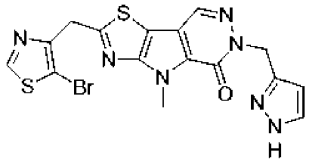
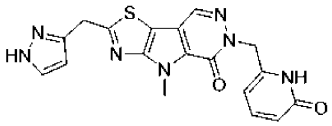
	(тиазол-4-илметил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	2H), 4,27 (s, 3H).
E8-12	 4-Метил-2-(пиридин-2-илметил)-6-(тиазол-2-илметил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LC-MS: масса/заряд 395 $(M+H)^+$. 1H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 8,60 (s, 1H), 8,57 (dd, 1H), 7,81 (td, 1H), 7,74 (d, 1H), 7,67 (d, 1H), 7,51 (d, 1H), 7,36-7,30 (m, 1H), 5,65 (s, 2H), 4,68 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).
E8-13	 4-Метил-2,6-бис(тиазол-4-илметил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LC-MS: масса/заряд 401 $(M+H)^+$. 1H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 9,13 (d, 1H), 9,03 (d, 1H), 8,54 (s, 1H), 7,72 (d, 1H), 7,44-7,41 (m, 1H), 5,48 (s, 2H), 4,71 (s, 2H), 4,27 (s, 3H).
E8-14	 2-((1H-1,2,3-Триазол-4-ил)метил)-4-метил-6-(тиазол-4-илметил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LC-MS: масса/заряд 385 (M+H)+. 1H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 9,03 (d, 1H), 8,54 (s, 1H), 7,89 (s, 1H), 7,42 (d, 1H), 5,48 (s, 2H), 4,63 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).
E8-15	 4-Метил-6-((1-метил-1H-пиразол-3-ил)метил)-2-(пиридин-2-илметил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 392 $(M+H)^+$. 1H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 8,56 (d, 1H), 8,50 (s, 1H), 7,81 (td, 1H), 7,55 (d, 1H), 7,50 (d, 1H), 7,32 (dd, 1H), 6,07 (d, 1H), 5,26 (s, 2H), 4,67 (s, 2H), 4,26 (s, 3H), 3,76 (s, 3H).

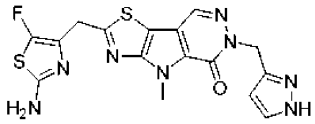
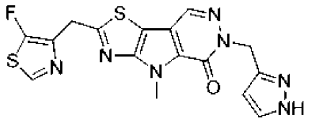
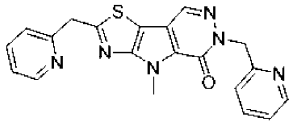
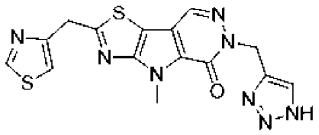
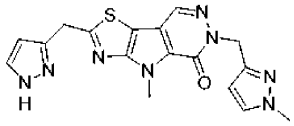
E8-16	 6-((1H-1,2,3-Триазол-4-ил)метил)-4-метил-2-(пиридин-2-илметил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 379 (M+H)+. 1H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 8,56 (d, 1H), 8,52 (s, 1H), 7,84-7,78 (m, 1H), 7,71 (s, 1H), 7,50 (d, 1H), 7,36-7,28 (m, 1H), 5,42 (s, 2H), 4,67 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).
E8-17	 6-((1H-Пиразол-3-ил)метил)-4-метил-2-(пиридин-2-илметил)-4H-тиазоло[5',4':4,5] пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 378 $(M+H)^+$. 1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ 12,63 (s, 1H), 8,57-8,55 (m, 1H), 8,51 (s, 1H), 7,81 (dd, 1H), 7,59 (s, 1H), 7,50 (d, 1H), 7,34-7,30 (m, 1H), 6,11 (d, 1H), 5,32 (s, 2H), 4,67 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).
E8-18	 6-((1H-Пиразол-3-ил)метил)-2-((2-(гидроксиметил)тиазол-4-ил)метил) -4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5] пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LC-MS: масса/заряд 414 (M+1)+. 1H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 12,63 (s, 1H), 8,51 (s, 1H), 7,61 (s, 1H), 7,56 (s, 1H), 6,11 (s, 1H), 6,06 (t, 1H), 5,32 (s, 2H), 4,70 (d, 2H), 4,60 (s, 2H), 4,27 (s, 3H).
E8-19	 2-((2-(Гидроксиметил)тиазол-4-ил)метил)-4-метил-6-(тиазол-2-илметил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LC-MS: масса/заряд 431 (M+1)+. 1H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 8,60 (s, 1H), 7,75 (d, 1H), 7,67 (d, 1H), 7,57 (s, 1H), 6,10-5,97 (m, 1H), 5,65 (s, 2H), 4,70 (d, 2H), 4,61 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).
E8-20	 2-((2-(Гидроксиметил)тиазол-4-ил)метил)-4-метил-6-((1-метил-1H-	LC-MS: масса/заряд 428 $(M+1)^+$. 1H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 8,49 (s, 1H), 7,62-7,58 (m, 2H), 6,07-6,03 (m, 2H), 5,26 (s, 2H), 4,70 (d, 2H), 4,60 (s, 2H), 4,26 (s, 3H), 3,76 (s, 3H).

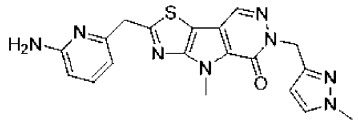
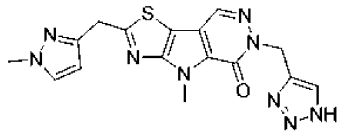
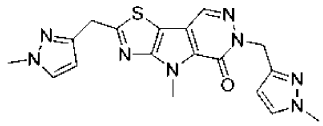
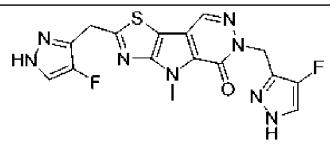
	пиразол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	
E8-21	 6-((2H-1,2,3-Триазол-4-ил)метил)-2-((2-(гидроксиметил)тиазол-4-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LC-MS: масса/заряд 415 (M+1)+. 1H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 14,77 (s, 1H), 8,52 (s, 1H), 7,65 (s, 1H), 7,56 (s, 1H), 6,05 (t, 1H), 5,42 (s, 2H), 4,70 (d, 2H), 4,60 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).
E8-22	 6-((2-Аминотиазол-4-ил)метил)-4-метил-2-(тиазол-4-илметил)-4H-тиазоло [5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 416 (M+H)+. 1H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 9,13 (d, 1H), 8,51 (s, 1H), 7,72 (d, 1H), 7,03 (br s, 2H), 6,22 (s, 1H), 5,13 (s, 2H), 4,71 (s, 2H), 4,27 (s, 3H).
E8-23	 2-((1H-1,2,3-Триазол-4-ил)метил)-4-метил-6-((1-метил-1H-пиразол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5] пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 382 (M+H)+. 1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ 8,50 (s, 1H), 7,89 (s, 1H), 7,56 (d, 1H), 6,07 (d, 1H), 5,26 (s, 2H), 4,63 (s, 2H), 4,26 (s, 3H), 3,76 (s, 3H).
E8-24	 2-((1H-1,2,3-Триазол-4-ил)метил)-6-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-4H-	LCMS: масса/заряд 368 (M+H)+. 1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ 14,73 (s, 1H), 12,64 (s, 1H), 8,51 (s, 1H), 7,89 (s, 1H), 7,61 (s, 1H), 6,11 (d, 1H), 5,33 (s, 2H), 4,63 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).

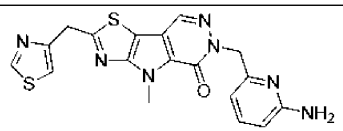
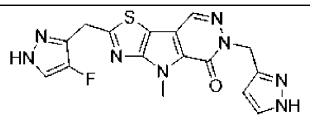
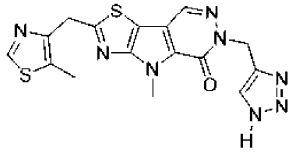
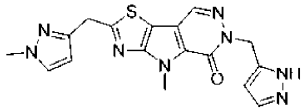
	тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	
E8-25	 6-((1H-Пиразол-3-ил)метил)-4-метил-2-(тиазол-4-илметил)-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-он	LC-MS: масса/заряд 384,0 (M+H)+. 1H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 12,62 (s, 1H), 9,12 (d, 1H), 8,51 (s, 1H), 7,72 (d, 1H), 7,61 (s, 1H), 6,11 (s, 1H), 5,32 (s, 2H), 4,70 (s, 2H), 4,27 (s, 3H).
E8-26	 6-((6-Аминопиридин-2-ил)метил)-2-((2-(гидроксиметил)тиазол-4-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LC-MS: 440,0 $[M+H]^+$ 1H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 8,55 (s, 1H), 7,57 (s, 1H), 7,29-7,21 (m, 1H), 6,29 (d, 1H), 6,13-6,07 (m, 2H), 5,92 (s, 2H), 5,19 (s, 2H), 4,70 (d, 2H), 4,61 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).
E8-27	 6-((1H-1,2,3-Триазол-4-ил)метил)-2-((2-амино-5-фтортиазол-4-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: 418 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 8,53 (s, 1H), 7,74 (s, 1H), 6,92 (s, 2H), 5,43 (s, 2H), 4,27 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).
E8-28	 6-((1H-1,2,3-Триазол-4-ил)метил)-2-((5-фтортиазол-4-ил)метил)-4-метил-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-	LCMS: 403 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 8,70 (d, 1H), 8,54 (s, 1H), 7,73 (s, 1H), 5,42 (s, 2H), 4,60 (d, 2H), 4,25 (s, 3H).

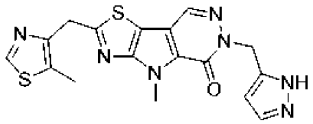
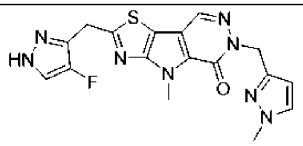
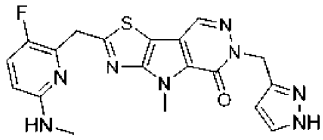
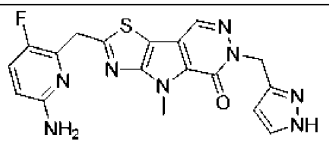
	d]пиридазин-5-он	
E8-29	 6-((1H-1,2,3-Триазол-4-ил)метил)-2-(этокси(тиазол-4-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: 429 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 9,09 (d, 1H), 8,57 (s, 1H), 7,88 (d, 1H), 7,73 (s, 1H), 6,12 (s, 1H), 5,54-5,34 (m, 2H), 4,23 (s, 3H), 3,76-3,61 (m, 2H), 1,20 (q, 3H).
E8-30	 4-Метил-6-((1-метил-1H-пиразол-3-ил)метил)-2-(тиазол-4-илметил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 398 (M+H)+. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 9,12 (d, 1H), 8,50 (s, 1H), 7,72 (d, 1H), 7,56 (d, 1H), 6,07 (d, 1H), 5,26 (s, 2H), 4,70 (s, 2H), 4,26 (s, 3H), 3,76 (s, 3H).
E8-31	 2-((1H-1,2,3-Триазол-4-ил)метил)-6-((2-аминотиазол-4-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 400 (M+H)+. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 8,50 (s, 1H), 7,89 (s, 1H), 6,90 (s, 2H), 6,18 (s, 1H), 5,02 (s, 2H), 4,63 (s, 2H) 4,26 (s, 3H).
E8-32	 6-((1H-1,2,3-Триазол-4-ил)метил)-2-((5-хлортиазол-4-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 419 (M+H)+. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 9,09 (s, 1H), 8,53 (s, 1H), 7,73 (s, 1H), 5,42 (s, 2H), 4,65 (s, 2H), 4,25 (s, 3H).

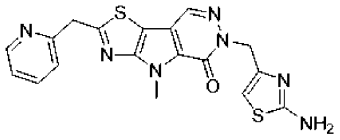
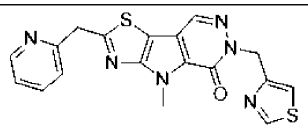
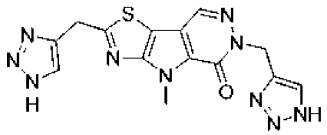
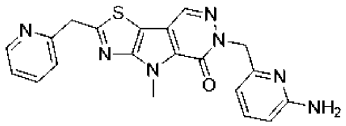
E8-33	 6-((1H-Пиразол-3-ил)метил)-2-((5-хлортиазол-4-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 418 (M+H)+. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 9,09 (s, 1H), 8,51 (s, 1H), 7,55 (s, 1H), 6,11 (d, 1H), 5,32 (s, 2H), 4,65 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).
E8-34	 6-((1H-1,2,3-Триазол-4-ил)метил)-2-((4-фтор-1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-он	LC-MS масса/заряд 386,0 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 14,82 (s, 1H), 12,82 (s, 1H), 8,57 (s, 1H), 7,95 (s, 1H), 7,70 (s, 1H), 5,47 (s, 2H), 4,54 (s, 2H), 4,31 (s, 3H).
E8-35	 6-((1H-Пиразол-3-ил)метил)-2-((5-бромтиазол-4-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 462 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 12,64(s, 1H), 9,19 (s, 1H), 8,51 (s, 1H), 7,57 (s, 1H), 6,11 (d, 1H), 5,33 (s, 2H), 4,65 (s, 2H), 4,26(s, 3H).
E8-36	 2-((1H-Пиразол-3-ил)метил)-4-метил-6-((6-оксо-1,6-дигидропиридин-2-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 394 (M+H)+. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 12,77 (s, 1H), 11,71 (s, 1H), 8,58 (s, 1H), 7,70 (s, 1H), 7,32 (s, 1H), 6,25-6,05 (m, 2H), 5,75 (s, 1H), 5,19 (s, 2H), 4,50 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).

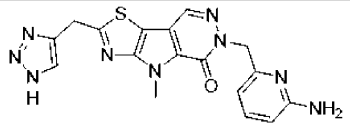
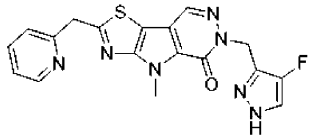
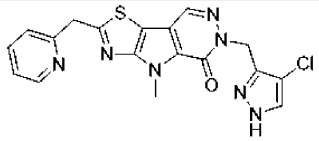
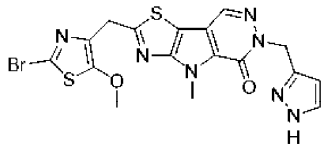
E8-37	 6-((1H-Пиразол-3-ил)метил)-2-((2-амино-5-фтортиазол-4-ил)метил)-4-метил-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-он	LCMS: масса/заряд 417 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР DMSO-d6, 400 МГц, δ 12,65 (s, 1H), 8,51 (s, 1H), 7,57 (s, 1H), 6,92 (s, 2H), 6,12 (d, 1H), 5,33 (s, 2H), 4,26 (s, 5H).
E8-38	 6-((1H-Пиразол-3-ил)метил)-2-((5-фтортиазол-4-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 402 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР DMSO-d6, 400 МГц, δ 12,70 (s, 1H), 8,70 (d, 1H), 8,52 (s, 1H), 7,55 (s, 1H), 6,11 (d, 1H), 5,33 (s, 2H), 4,60 (d, 2H), 4,26 (s, 3H).
E8-39	 4-Метил-2,6-бис(пиридин-2-илметил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 389 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР DMSO-d6, 400 МГц, δ 8,61-8,54 (m, 2H), 8,51-8,46 (m, 1H), 7,82 (td, 1H), 7,73 (td, 1H), 7,52 (d, 1H), 7,34 (ddd, 1H), 7,27 (dd, 1H), 7,14 (d, 1H), 5,46 (s, 2H), 4,69 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).
E8-40	 6-((1H-1,2,3-Триазол-4-ил)метил)-4-метил-2-(тиазол-4-илметил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 385 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 9,13 (d, 1H), 8,53 (s, 1H), 7,74 (s, 1H), 7,72 (d, 1H), 5,42 (s, 2H), 4,70 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).
E8-41		LCMS: масса/заряд 381 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 12,77 (s, 1H), 8,48 (s, 1H), 7,71 (s, 1H), 7,55 (d, 1H), 6,26 (d, 1H), 6,07 (d, 1H), 5,26

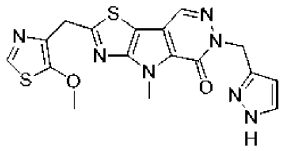
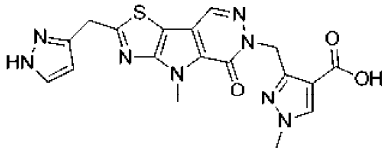
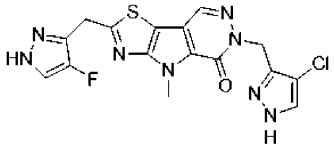
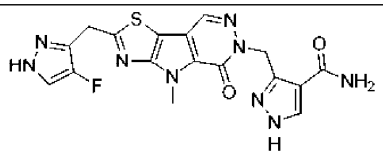
	2-((1H-Пиразол-3-ил)метил)-4-метил-6-((1-метил-1H-пиразол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	(s, 2H), 4,47 (s, 2H), 4,27 (s, 3H), 3,76 (s, 3H).
E8-42	 2-((6-Аминопиридин-2-ил)метил)-4-метил-6-((1-метил-1H-пиразол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5] пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 407 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 8,48 (s, 1H), 7,55 (d, 1H), 7,35 (t, 1H), 6,55 (d, 1H), 6,35 (d, 1H), 6,07 (d, 1H), 5,97 (s, 2H), 5,26 (s, 2H), 4,36 (s, 2H), 4,26 (s, 3H), 3,76 (s, 3H).
E8-43	 6-((1H-1,2,3-Триазол-4-ил)метил)-4-метил-2-((1-метил-1H-пиразол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5] пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 382 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 14,70 (s, 1H), 8,51 (s, 1H), 7,74 (s, 1H), 7,65 (d, 1H), 6,22 (d, 1H), 5,42 (s, 2H), 4,43 (s, 2H), 4,26 (s, 3H), 3,81 (s, 3H).
E8-44	 4-Метил-2,6-бис((1-метил-1H-пиразол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло [2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 395 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 8,48 (s, 1H), 7,65 (d, 1H), 7,55 (d, 1H), 6,22 (d, 1H), 6,07 (d, 1H), 5,26 (s, 2H), 4,43 (s, 2H), 4,26 (s, 3H), 3,82 (s, 3H), 3,76 (s, 3H).
E8-45	 2,6-бис((4-Фтор-1H-пиразол-3-ил) метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5] пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 403 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 13,02-12,57 (m, 2H), 8,49 (s, 1H), 7,6-7,8 (m, 2H), 5,33 (s, 2H), 4,49 (s, 2H), 4,27 (s, 3H).

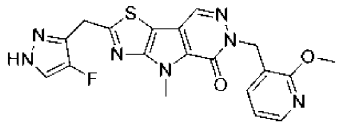
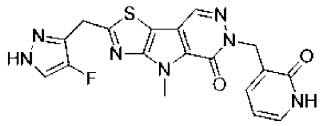
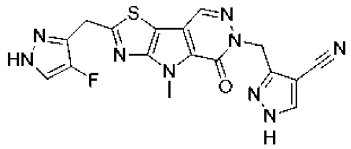
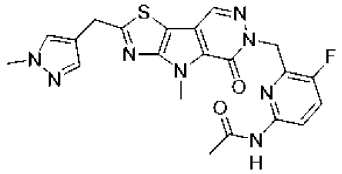
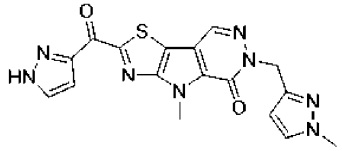
E8-46	 6-((6-Аминопиридин-2-ил)метил)-4-метил-2-(тиазол-4-илметил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 410 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 9,13 (d, 1H), 8,55 (s, 1H), 7,72 (d, 1H), 7,25 (t, 1H), 6,29 (d, 1H), 6,07 (d, 1H), 5,92 (s, 2H), 5,19 (s, 2H), 4,71 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).
E8-47	 6-((1H-Пиразол-3-ил)метил)-2-((4-фтор-1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 385 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 12,77 (s, 1H), 12,62 (s, 1H), 8,50 (s, 1H), 7,87 (d, 1H), 7,61 (s, 1H), 6,11 (s, 1H), 5,32 (s, 2H), 4,49 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).
E8-48	 6-((1H-1,2,3-Триазол-4-ил)метил)-4-метил-2-((5-метилтиазол-4-ил)метил)-4H-тиазоло [5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 399 (M+H)+. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ 8,95 (s, 1H), 8,55 (s, 1H), 7,79 (s, 1H), 5,47 (s, 2H), 4,66 (s, 2H), 4,31 (s, 3H), 2,55 (s, 3H).
E8-49	 6-((1H-Пиразол-5-ил)метил)-4-метил-2-((1-метил-1H-пиразол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 381 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ 12,64 (s, 1H), 8,49 (s, 1H), 7,65 (s, 1H), 7,56 (s, 1H), 6,23 (d, 1H), 6,11 (d, 1H), 5,32 (s, 2H), 4,43 (s, 2H), 4,26 (s, 3H), 3,82 (s, 2H).

E8-50	 6-((1H-Пиразол-5-ил)метил)-4-метил-2-((5-метилтиазол-4-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d] пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 398 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ 12,63 (s, 1H), 8,90 (s, 1H), 8,48 (s, 1H), 7,60 (s, 1H), 6,11 (d, 1H), 5,32 (s, 2H), 4,61 (s, 2H), 4,26 (s, 3H) 2,50 (s, 3H перекрывается пиком DMSO-d6).
E8-51	 2-((4-Фтор-1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-6-((1-метил-1H-пиразол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5] пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 399 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ 12,83 (s, 1H), 8,54 (s, 1H), 7,91 (s, 1H), 7,61 (s, 1H), 6,13 (s, 1H), 5,32 (s, 2H), 4,54 (s, 2H), 4,34 (s, 3H), 3,81 (s, 3H).
E8-52	 6-((1H-Пиразол-3-ил)метил)-2-((3-фтор -6-(метиламино)пиридин-2-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 425 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 12,68 (s, 1H), 8,56 (s, 1H), 7,65 (s, 1H), 7,43 (t, 1H), 6,62 (d, 1H), 6,46 (dd, 1H), 6,16 (s, 1H), 5,37 (s, 2H), 4,52 (s, 2H), 4,31 (s, 3H), 2,83 (d, 3H).
E8-53	 6-((1H-Пиразол-3-ил)метил)-2-((6-амино-3-фторпиридин-2-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LC-MS: масса/заряд 411 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 12,64 (s, 1H), 8,50 (s, 1H), 7,57 (s, 1H), 7,36 (t, 1H), 6,41 (dd, 1H), 6,11 (d, 1H), 5,96 (s, 2H), 5,32 (s, 2H), 4,44 (d, 2H), 4,26 (s, 3H).

E8-54	 6-((2-Аминотиазол-4-ил)метил)-4-метил-2-(пиридин-2-илметил)-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-он	LC-MS: масса/заряд 410 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 8,52 (s, 1H), 8,49 (s, 1H), 7,83 (d, 1H), 7,51 (d, 1H), 7,40-7,25 (m, 1H), 6,91 (s, 2H), 6,17 (s, 1H), 5,12 (s, 2H), 4,67 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).
E8-55	 4-Метил-2-(пиридин-2-илметил)-6-(тиазол-4-илметил)-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-он	LC-MS: масса/заряд 395 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 9,09 (d, 1H), 8,63 (m, 1H), 8,59 (s, 1H), 7,88 (m, 1H), 7,57 (d, 1H), 7,51 (s, 1H), 7,39 (dd, 1H), 5,54 (s, 2H), 4,73 (s, 2H), 4,32 (s, 3H).
E8-56	 2,6-бис((1H-1,2,3-Триазол-4-ил)метил)-4-метил-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-он	LC-MS: масса/заряд 369 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 8,53 (s, 1H), 7,89 (s, 1H), 7,74 (s, 1H), 5,43 (s, 2H), 4,63 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).
E8-57	 6-((6-Аминопиридин-2-ил)метил)-4-метил-2-(пиридин-2-илметил)-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-он	LC-MS: масса/заряд 404 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 8,57 (s, 1H), 8,54 (s, 1H), 7,82 (dd, 1H), 7,51 (d, 1H), 7,33 (dd, 1H), 7,27-7,22 (m, 1H), 6,29 (d, 1H), 6,07 (d, 1H), 5,90 (s, 2H), 5,19 (s, 2H), 4,68 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).

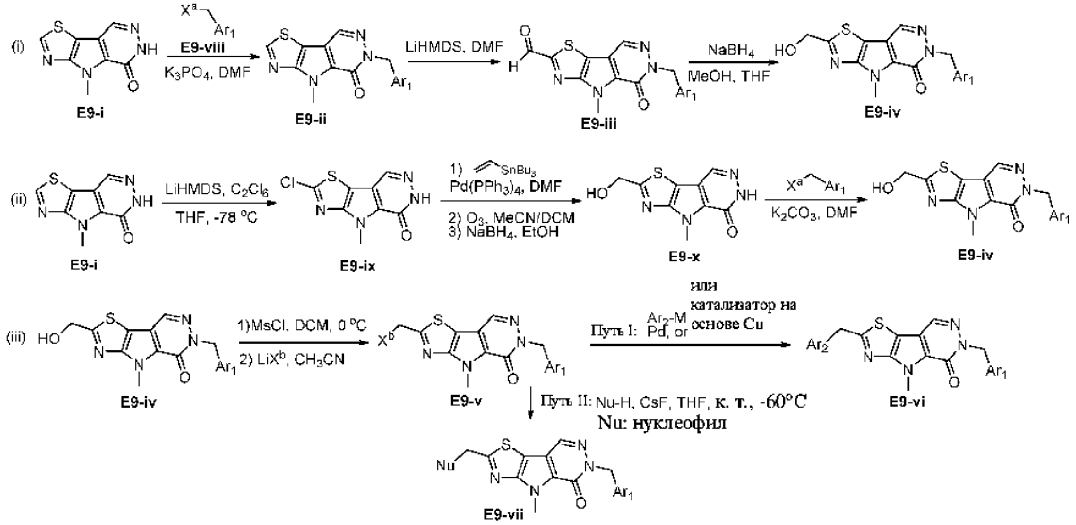
E8-58	 2-((1H-1,2,3-Триазол-4-ил)метил)-6-((6-аминопиридин-2-ил)метил)-4-метил-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-он	LC-MS: масса/заряд 394 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 8,55 (s, 1H), 7,90 (s, 1H), 7,26 (dd, 1H), 6,30 (d, 1H), 6,07 (d, 1H), 5,91 (s, 2H), 5,19 (s, 2H),4,64 (s, 2H), 4,26 (s, 3H)
E8-59	 6-((4-Фтор-1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-2-(пиридин-2-илметил)-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-он	LC-MS: масса/заряд 396 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 12,60 (s, 1H), 8,57 (s, 1H), 8,55 (s, 1H), 7,90-7,80 (m, 1H), 7,68 (s, 1H), 7,49 (d, 1H), 7,31 (dd, 1H), 5,32 (s, 2H), 4,65 (s, 2H), 4,24 (s, 3H).
E8-60	 6-((4-Хлор-1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-2-(пиридин-2-илметил)-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-он	LC-MS: масса/заряд 412 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 13,00 (s, 1H), 8,67 (d, 1H), 8,46 (s, 1H), 7,86 (s, 1H), 7,82 (dd, 1H), 7,51 (d, 1H), 7,33 (dd, 1H), 5,34 (s, 2H), 4,67 (s, 2H), 4,26 (s, 3H.
E8-61	 6-((1H-Пиразол-3-ил)метил)-2-((2-бром-5-метокситиазол-4-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-	LC-MS: масса/заряд 492 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,64 (s, 1H), 8,52 (s, 1H), 7,61 (s, 1H), 6,11 (s, 1H), 5,32 (s, 2H), 4,44 (s, 2H), 4,26 (s, 3H), 3,99 (s, 3H).

	d]пиридазин-5(6H)-он	
E8-62	 6-((1H-Пиразол-3-ил)метил)-2-((5-метокситиазол-4-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LC-MS: масса/заряд 414 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,63 (s, 1H), 8,57 (s, 1H), 8,50 (s, 1H), 7,60 (s, 1H), 6,11 (d, 1H), 5,32 (s, 2H), 4,47 (s, 2H), 4,26 (s, 3H), 3,97 (s, 3H).
E8-63	 3-((2-((1H-Пиразол-3-ил)метил)-4-метил-5-оксо-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6(5H)-ил)метил)-1-метил-1H-пиразол-4-карбоновая кислота	LC-MS: масса/заряд 425 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 9,12 (s, 1H), 8,19 (s, 1H), 7,66 (s, 1H), 6,25 (s, 1H), 5,59 (s, 2H), 4,49 (s, 2H), 4,31 (s, 3H), 3,81 (s, 3H).
E8-64	 6-((4-Хлор-1H-пиразол-3-ил)метил)-2-((4-фтор-1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LC-MS: масса/заряд 419 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 13,28-12,57 (m, 2H), 8,49 (s, 1H), 7,90-7,50 (m, 2H), 5,34 (s, 2H), 4,50 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).
E8-65	 3-((2-((4-Фтор-1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-5-оксо-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-	LC-MS: масса/заряд 428 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,89-12,76 (m, 2H), 8,49 (s, 1H), 8,22 (s, 1H), 7,86 (s, 1H), 7,60 (s, 1H), 7,00 (s, 1H), 5,57 (s, 2H), 4,51 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).

	d]пиридазин-6(5H)-ил)метил)-1H-пиразол-4-карбоксамид	
E8-66	 2-((4-Фтор-1H-пиразол-3-ил)метил)-6-((2-метоксипиридин-3-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LC-MS: масса/заряд 426 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,80 (s, 1H), 8,57 (d, 1H), 8,08 (dd, 1H), 7,92 (d, 1H), 7,16 (d, 1H), 6,90 (dd, 1H), 5,29 (s, 2H), 4,50 (s, 2H), 4,26 (s, 3H), 3,92 (s, 3H).
E8-67	 2-((4-Фтор-1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-6-((2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LC-MS: масса/заряд 412 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 12,78 (s, 1H), 11,71 (s, 1H), 8,56 (s, 1H), 7,87 (s, 1H), 7,30 (d, 1H), 6,82 (d, 1H), 6,08 (dd, 1H), 5,10 (s, 2H), 4,50 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).
E8-68	 3-((2-((4-Фтор-1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-5-оксо-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6(5H)-ил)метил)-1H-пиразол-4-карбонитрил	LC-MS: масса/заряд 410 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 13,63 (s, 1H), 12,81 (s, 1H), 8,55 (s, 1H), 8,37 (s, 1H), 7,81 (s, 1H), 5,45 (s, 2H), 4,51 (s, 2H), 4,25 (s, 3H).
E8-69	 N-(5-Фтор-6-((4-метил-2-((1-метил-1H-пиразол-4-ил)метил)-5-оксо-4,5-дигидро-6H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6-ил)метил)пиридин-2-ил)ацетамид	LC-MS: масса/заряд 467 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: δ 10,35 (s, 1H), 8,49 (s, 1H), 8,00 (s, 1H), 7,70 (dd, 2H), 7,45 (s, 1H), 5,45 (s, 2H), 4,34 (s, 2H), 4,26 (s, 3H), 3,83 (s, 3H), 2,01 (s, 3H)
E8-70	 4-Метил-6-((1-метил-1H-пиразол-3-ил)метил)-2-(1H-пиразол-3-карбонил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LC-MS: масса/заряд 395 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 13,85 (s, 1H), 8,70 (s, 1H), 8,04 (s, 1H), 7,58 (d, 1H), 7,38 (s, 1H), 6,12 (d, 1H), 5,30 (s, 2H), 4,38 (s, 3H), 3,77 (s, 3H).

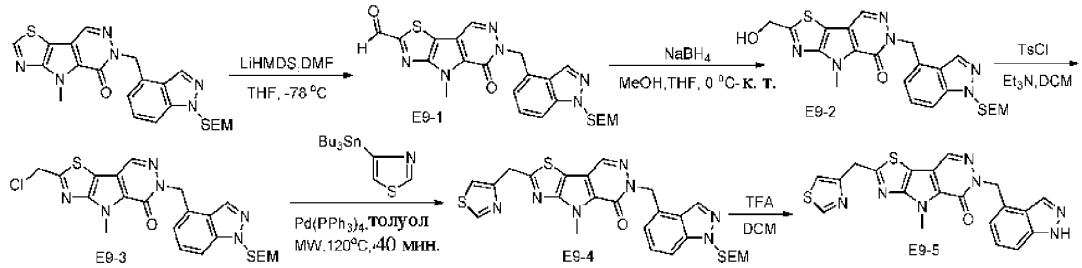
Пример 9. Синтез соединений E9-vi и E9-vii.

Схема E9



Соединение E9-iv может быть синтезировано с помощью двух подходов: (i) и (ii) по схеме 9. Для способа (i) соединение E9-ii может быть синтезировано из соединения E9-i посредством реакции алкилирования, как показано в примере 7 или примере 8. Как используется в данном документе, X^a представляет собой уходящую группу. Реакция формилирования соединения E9-ii с LiHMDS и DMF обеспечивает получение промежуточного соединения E9-iii. E9-iii вступает в реакцию с восстановителем (например, $NaBH_4$) с получением соединения E9-iv. В качестве альтернативы в подходе (ii) галогенирование соединения E9-i обеспечивает образование соединения E9-ix. Соединение E9-ix подвергается реакции Стилле, озонолизу и восстановлению с получением соединения E9-x. Соединение E9-x можно алкилировать с помощью E9-viii с получением соединения E9-iv. На схеме 9 (iii) соединение E9-iv подвергается галогенированию с получением промежуточного соединения E9-v (X^b представляет собой галоген, такой как Cl или Br). Катализируемая металлом (например, Pd или Cu) реакция сочетания E9-v с оловом, бором, цинком или магнием органического соединения обеспечивает получение соединения E9-vi. Как используется в данном документе, M представляет собой металлорганический комплекс (например, борорганический комплекс, такой как комплекс с бороновой кислотой или пинаколато-борный комплекс, оловоорганический комплекс, такой как $-Sn(Bu^t)_3$; цинкорганический комплекс, такой как -Zn(галоген)); при этом можно также осуществлять реакцию соединения E9-v с некоторыми нуклеофилами, такими как азот в гетероцикле, с получением продукта E9-vii. Как используется в данном документе, каждый из Ar_1 и Ar_2 независимо представляет собой необязательно замещенный 5-членный или 6-членный гетероарил, X^a представляет собой уходящую группу (например, Br, I, OMs или OTs); и X^b представляет собой галоген.

Пример 9A. Синтез 6-((1H-индазол-4-ил)метил)-4-метил-2-(тиазол-4-илметил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она.



Стадия A. Синтез 4-метил-5-оксо-6-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-индазол-4-ил)метил)-5,6-дигидро-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-2-карбальдегида.

К смеси 4-метил-6-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-индазол-4-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она (2,6 г, 5,57 ммоль, 1 экв.) в сухом THF (30 мл) добавляли LiHMDS (1 M, 11,14 мл, 2,0 экв.) при -78°C. Смесь перемешивали при -78°C в течение 2 ч. Затем DMF (2,04 г, 27,86 ммоль, 2,14 мл, 5,0 экв.) добавляли по каплям к вышеописанной смеси. Смесь перемешивали при -78°C в течение 2 ч TLC (PE:EA=2:1, УФ=254 нм) показала, что образовалось одно основное новое пятно. Смесь выливали в холодный насыщ. NH_4Cl (20 мл). Затем смесь нагревали до комнатной температуры. Смесь экстрагировали с помощью EtOAc (40 мл ×3). Органический слой промывали с помощью воды (20 мл ×3) и концентрировали in vacuo с получением необходимого продукта (2,6 г, неочищенное вещество). LCMS: масса/заряд 495,2 $[M+H]^+$.

Стадия B. Синтез 2-(гидроксиметил)-4-метил-6-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-индазол-4-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она.

К смеси неочищенного 4-метил-5-оксо-6-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-индазол-4-ил)метил)-5,6-дигидро-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-2-карбальдегида (1,0 г, 2,02 ммоль, 1 экв.) в THF (10 мл) и MeOH (10 мл) добавляли $NaBH_4$ (152,97 мг, 4,04 ммоль, 2 экв.). Смесь перемешивали при 30°C в течение 14 ч TLC (DCM:MeOH=10:1, УФ=254 нм) показала, что исходный материал полностью израсходован и образовалось одно основное новое пятно. Реакционную смесь гасили с помощью добавления воды (20 мл) и экстрагировали с помощью EtOAc (30 мл × 3). Объединенные органические слои промывали с помощью солевого раствора (20 мл). Органическую фазу концентрировали in vacuo. Остаток очищали с помощью флэш-хроматографии на силикагеле (ISCO®; колонка для флэш-хроматографии на диоксиде кремния SepaFlash®, 40 г, элюент 0-5% MeOH/DCM при 30 мл/мин.). Элюент концентрировали in vacuo с получением необходимого продукта (382 мг). LCMS: масса/заряд 497,1 $[M+H]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ ppm 8,61 (s, 1H), 8,25 (s, 1H), 7,66 (d, 1H), 7,38 (t, 1H), 7,05 (d, 1H), 6,36 (t, 1H), 5,74 (s, 2H), 5,68 (s, 2H), 4,89 (d, 2H), 4,26 (s, 3H), 3,50 (t, 2H), 0,78 (t, 2H), -0,12 (s, 9H).

Стадия C. Синтез 2-(хлорметил)-4-метил-6-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-индазол-4-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она.

К смеси 2-(гидроксиметил)-4-метил-6-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-индазол-4-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она (150,0 мг, 302,02 мкмоль, 1 экв.) и Et_3N (61,12 мг, 604,04 мкмоль, 84,08 мкл, 2,0 экв.) в DCM (5 мл) добавляли 4-метилбензолсульфонилхлорид (75,0 мг, 393,40 мкмоль, 1,30 экв.). Смесь перемешивали при 30°C в течение 5 ч TLC (PE:EA=4:1, УФ=254 нм) показала, что исходный материал полностью израсходован. Воду (10 мл) и DCM (20 мл) добавляли к смеси. Органические слои концентрировали in vacuo с получением желтой смолы (0,1 г). Остаток очищали с помощью флэш-хроматографии на силикагеле (ISCO®; колонка для флэш-хроматографии на диоксиде кремния SepaFlash®, 4 г, элюент: градиент 0~20% этилацетат/петролейный эфир при 30 мл/мин.). Необходимую фракцию концентрировали in vacuo с получением необходимого продукта (40,0 мг, 76,88 мкмоль). LCMS: масса/заряд 515,1 $[M+H]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ-d) δ ppm 8,27 (d, 1H), 8,26 (s, 1H), 7,52 (d, 1H), 7,39 (dd, 1H), 7,25 (s, 1H), 5,76 (s, 2H), 5,72 (s, 2H), 4,96 (s, 2H), 4,40 (s, 3H), 3,50-3,57 (m, 2H), 0,84-0,90 (m, 2H), от -0,09 до -0,06 (m, 9H).

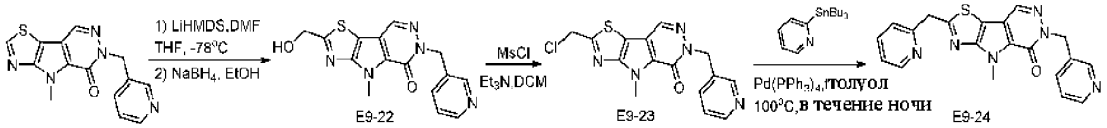
Стадия D. Синтез 4-метил-2-(тиазол-4-илметил)-6-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-индазол-4-ил)метил)-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-она.

К раствору 2-(хлорметил)-4-метил-6-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-индазол-4-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она (50 мг, 0,97 ммоль) и 4-(трибутилстаннил)тиазола (114 мг, 2,91 ммоль) в толуоле (4 мл) добавляли $Pd(PPh_3)_4$ (402 мг, 2,91 ммоль). Затем смесь нагревали в MW-реакторе при 120°C в течение 30 мин. в атмосфере N_2. Раствор выливали в воду и экстрагировали с помощью EtOAc, высушивали над безводным Na_2SO_4. Органический слой концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью флэш-хроматографии (силикагель, 0-50% этилацетат в петролейном эфире) с получением 4-метил-2-(тиазол-4-илметил)-6-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-индазол-4-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она (30 мг). LCMS: 564 $(M+H)^+$.

Стадия E. Синтез 6-((1H-индазол-4-ил)метил)-4-метил-2-(тиазол-4-илметил)-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-она.

К смеси соединения E9-4 (30 мг, 0,05 ммоль) в DCM (3 мл) при к.т. в атмосфере N_2 добавляли TFA (3 мл). Реакционную смесь перемешивали при к.т. в течение 1 ч. Смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью препаративной HPLC (C18, 0-90% ацетонитрил в H_2O с 0,1% муравьиной кислотой) с получением необходимого продукта (3,9 мг). LCMS: 434 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 13,12 (s, 1H), 9,12 (d, 1H), 8,56 (s, 1H), 8,14 (s, 1H), 7,71 (d, 1H), 7,45 (d, 1H), 7,35-7,24 (m, 1H), 6,96 (d, 1H), 5,65 (s, 2H), 4,70 (s, 2H), 4,27 (s, 3H).

Пример 9B. Синтез 4-метил-2-(пиридин-2-илметил)-6-(пиридин-3-илметил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она.



Стадия A. Синтез 2-(гидроксиметил)-4-метил-6-(пиридин-3-илметил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она.

При -78°C к смеси 4-метил-6-(пиридин-3-илметил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она (640 мг, 2,15 ммоль) в THF (10 мл) добавляли LiHMDS (4,3 мл, 1 M в THF). Через 30 мин в смесь добавляли сухой DMF (0,84 мл, 10,8 ммоль). После полного израсходования исходного материала добавляли смесь $NaBH_4$ (164 мг, 4,3 ммоль) в EtOH (4 мл) и перемешивали в течение 5 мин. Затем смесь выливали в насыщ. NH_4Cl, экстрагировали с помощью EtOAc. Органический слой промывали солевым раствором, высушивали над безводн. Na_2SO_4, фильтровали и концентрировали. Остаток очищали с помощью флэш-хроматографии (силикагель, 0~5% MeOH в DCM) с получением 2-(гидроксиметил)-4-метил-6-(пиридин-3-илметил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она (220 мг). LC-MS

(ESI): масса/заряд 328 $(M+H)^+$.

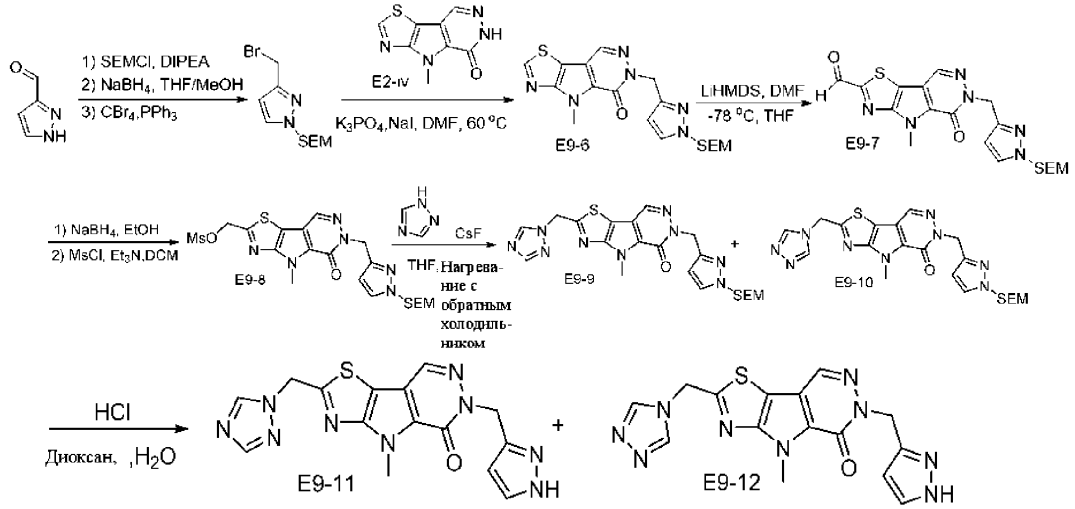
Стадия B. Синтез 2-(хлорметил)-4-метил-6-(пиридин-3-илметил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она.

К смеси 2-(гидроксиметил)-4-метил-6-(пиридин-3-илметил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она (100 мг, 0,31 ммоль) в DCM (5 мл) добавляли Et_3N (0,43 мл, 3,1 ммоль) и MsCl (0,12 мл, 1,5 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 6 ч. Затем смесь промывали с помощью насыщ. NH_4Cl (водн.), высушивали над безводн. Na_2SO_4, фильтровали и концентрировали. Остаток очищали с помощью флэш-хроматографии (силикагель, 0~50% EtOAc в PE) с получением 65 мг 2-(хлорметил)-4-метил-6-(пиридин-3-илметил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она. LC-MS (ESI): масса/заряд 346 $(M+H)^+$.

Стадия C. Синтез 4-метил-2-(пиридин-2-илметил)-6-(пиридин-3-илметил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она.

В атмосфере азота к смеси 2-(хлорметил)-4-метил-6-(пиридин-3-илметил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она (50 мг, 0,14 ммоль) и 2-(трибутилстаннил)пиридина (0,14 мл, 0,43 ммоль) в толуоле (3 мл) добавляли $Pd(PPh_3)_4$ (17 мг, 0,014 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 100°C в течение ночи. Затем смесь охлаждали, концентрировали при пониженном давлении и остаток очищали с помощью препаративной TLC (элюент: 10% MeOH в DCM) с получением 2 мг 4-метил-2-(пиридин-2-илметил)-6-(пиридин-3-илметил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она.
LC-MS (ESI): масса/заряд 389 (M+H)+. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 8,56 (m, 3H), 8,48 (dd, 1H), 7,81 (td, 1H), 7,71 (d, 1H), 7,50 (d, 1H), 7,37-7,30 (m, 2H), 5,38 (s, 2H), 4,67 (s, 2H), 4,25 (s, 3H).

Пример 9C. Синтез 2-((1H-1,2,4-триазол-1-ил)метил)-6-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она и 6-((1H-пиразол-3-ил)метил)-2-((4H-1,2,4-триазол-4-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она.



Стадия A. Синтез 1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-карбальдегида.

К суспензии 1H-пиразол-3-карбальдегида (10,0 г, 104,07 ммоль, 1 экв.) и DIPEA (33,63 г, 260,18 ммоль, 45,32 мл, 2,5 экв.) в DCM (500 мл) добавляли по каплям 2-(хлорметокси)этилтриметилсилан (26,03 г, 156,11 ммоль, 27,63 мл, 1,5 экв.) при -40°C. Затем реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 16 ч TLC (петролейный эфир:EtOAc=5:1) показала, что исходный материал полностью израсходован и образовались два новых пятна. Реакционную смесь концентрировали in vacuo. Остаток объединяли с еще 2 партиями (10,0 г каждая) и очищали с помощью Combiflash (от 100% петролейного эфира до 40% EtOAc в петролейном эфире) с получением 60,0 г необходимого продукта. (Примечание: смесь 2 региоизомеров в соотношении ~5/4). ^{1}H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ-d) δ ppm 10,06 (s, 1H), 10,00 (s, 1H), 7,68 (d, 1H), 7,67 (d, 1H), 7,03 (d, 1H), 6,92 (d, 1H), 5,87 (s, 2H), 5,56 (s, 2H), 3,61-3,67 (m, 4H), 0,91-1,01 (m, 4H), -0,09-0,05 (m, 18H).

Стадия B. Синтез (1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метанола.

К раствору 1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-карбальдегида (30 г, 132,54 ммоль, 1 экв., смесь 2 региоизомеров в соотношении ~5/4) в THF (200 мл)/MeOH (100 мл) добавляли порциями $NaBH_4$ (7,52 г, 198,81 ммоль, 1,50 экв.) при 0°C, реакционную смесь перемешивали при 0°C до комнатной температуры в течение 18 ч TLC (петролейный эфир:EtOAc=2:1) показала, что исходные материалы полностью израсходованы и образовались два новых пятна. Растворитель концентрировали in vacuo. Остаток очищали с помощью Combiflash (от 100% петролейного эфира до 100% EtOAc) с получением 25 г необходимого продукта. (Примечание: смесь 2 региоизомеров в соотношении ~3/2). ^{1H} ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ-d) δ ppm 7,55 (d, 1H), 7,47 (brs, 1H), 6,36 (d, 1H), 6,34 (d, 1H), 5,57 (s, 2H), 5,42 (s, 2H), 4,74-4,76 (m, 4H), 3,55-3,60 (m, 4H), 0,85-0,96 (m, 4H), 0,00-0,06 (m, 18H).

Стадия C. Синтез 3-(бромметил)-1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразола.

К раствору (1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метанола (23 г, 100,72 ммоль, 1 экв., смесь 2 региоизомеров в соотношении ~3/2) и PPh_3 (36,98 г, 141,00 ммоль, 1,4 экв.) в DCM (200 мл) добавляли CBr_4 (46,76 г, 141,00 ммоль, 1,4 экв.) при 0°C и реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 3 ч TLC (петролейный эфир:EtOAc=5:1) показала, что исходные материалы полностью израсходованы и образовалось новое пятно. Реакционную смесь концентрировали in vacuo. Остаток объединяли с другой партией (2,0 г) и очищали с помощью Combiflash (от 100% петролейного эфира до 50% EtOAc в петролейном эфире) с получением необходимого продукта 22,0 г (75,53 ммоль). ^{1}H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ-d) δ ppm 7,51 (d, 1H), 6,39 (d, 1H), 5,38 (s, 2H), 4,50 (s, 2H), 3,52-3,57 (m, 2H), 0,86-0,96 (m, 2H), -0,03-0,02 (m, 9H).

Стадия D. Синтез 4-метил-6-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она.

Суспензию 4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она (1,0 г, 4,85 ммоль, 1 экв.), 3-(бромметил)-1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразола (2,12 г, 7,27 ммоль, 1,5 экв.), K_3PO_4 (2,57 г, 12,12 ммоль, 2,5 экв.) и NaI (218,05 мг, 1,45 ммоль, 0,3 экв.) в DMF (15 мл) перемешивали при 60°C в течение 18 ч в атмосфере N_2. TLC (петролейный эфир:EtOAc=1:1) показала, что исходный материал полностью израсходован и образовалось новое пятно. Реакционную смесь объединяли с еще 3 партиями (1,0 г каждая) и выливали в ледяную воду (250 мл). Смесь экстрагировали с помощью EtOAc (150 мл ×3). Объединенные органические слои промывали водой (120 мл × 2), солевым раствором (120 мл) и высушивали над Na_2SO_4. Растворитель концентрировали in vacuo. Неочищенный продукт очищали с помощью Combiflash (от 100% петролейного эфира до 80% EtOA в петролейном эфире) с получением необходимого продукта (3,6 г). ^{1}H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ-d) δ ppm 8,91 (s, 1H), 8,27 (s, 1H), 7,49 (d, 1H), 6,36 (d, 1H), 5,51 (s, 2H), 5,40 (m, 2H), 4,45 (s, 3 H), 3,52-3,58 (m, 2H), 0,85-0,90 (m, 2H), -0,05 (s, 9H).

Стадия E. Синтез 4-метил-5-оксо-6-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-5,6-дигидро-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-2-карбальдегида.

В атмосфере аргона к раствору 4-метил-6-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она (1,7 г, 4,09 ммоль, 1 экв.) в THF (30 мл) медленно добавляли LiHMDS (1,0 M, 8,18 мл, 2 экв.) при -78°C, реакционную смесь перемешивали при -70°C в течение 1 ч. Затем раствор DMF (1,49 г, 20,45 ммоль, 1,57 мл, 5 экв.) в THF (3 мл) добавляли по каплям к смеси. Полученную смесь перемешивали при -70°C в течение 1 ч TLC (петролейный эфир: EtOAc=1:1) показала, что образовалось новое пятно. Реакционную смесь по каплям добавляли к водн. NH_4Cl (50 мл) при 0°C, затем смесь экстрагировали с помощью EtOAc (30 мл × 3). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (40 мл) и высушивали над Na_2SO_4. Растворитель удаляли in vacuo с получением неочищенного необходимого продукта (1,8 г), который применяли на следующей стадии без дополнительной очистки.

Стадия F. Синтез 2-(гидроксиметил)-4-метил-6-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она.

К раствору 4-метил-5-оксо-6-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-5,6-дигидро-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-2-карбальдегида (1,8 г, 3,24 ммоль, 1 экв.) в THF (20 мл) MeOH (10 мл) добавляли $NaBH_4$ (245,08 мг, 6,48 ммоль, 2 экв.) при 0°C и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч TLC (петролейный эфир:EtOAc=1:2) показала, что исходный материал полностью израсходован и образовалось новое пятно. Реакционную смесь концентрировали in vacuo, остаток очищали с помощью Combiflash (от 100% DCM до 5% MeOH в DCM). Получали необходимый продукт (1,1 г). ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ ppm 8,63 (s, 1H), 7,86 (d, 1H), 6,44 (t, 1H), 6,27 (d, 1H), 5,40-5,42 (m, 4H), 4,98 (d, 2H), 4,34 (s, 3H), 3,55-3,61 (m, 2H), 0,86-0,91 (m, 2H), 0,00 (s, 9H).

Стадия G. Синтез (4-метил-5-оксо-6-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-5,6-дигидро-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-2-ил)метилметансульфоната.

К раствору 2-(гидроксиметил)-4-метил-6-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она (700 мг, 1,57 ммоль, 1 экв.) и Et_3N (317,21 мг, 3,13 ммоль, 436,33 мкл, 2,0 экв.) в DCM (15 мл) добавляли по каплям MsCl (269,32 мг, 2,35 ммоль, 181,97 мкл, 1,5 экв.) при 0°C и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч TLC (петролейный эфир:EtOAc=1:1) показала, что исходный материал полностью израсходован и образовалось новое пятно. Реакционную смесь разбавляли с помощью EtOAc (80 мл) и промывали с помощью воды (30 мл ×4), солевого раствора (40 мл) и высушивали над Na_2SO_4. Растворитель удаляли in vacuo с получением неочищенного продукта (700 мг). LCMS: (масса/заряд 525,5 (M+H).

Стадия H. Синтез 2-((1H-1,2,4-триазол-1-ил)метил)-4-метил-6-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она и 2-((4H-1,2,4-триазол-4-ил)метил)-4-метил-6-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она.

Смесь (4-метил-5-оксо-6-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-5,6-дигидро-

4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-2-ил)метилметансульфоната (150 мг, 285,88 мкмоль, 1 экв.), 1H-1,2,4-триазола (197,45 мг, 2,86 ммоль, 10 экв.) и CsF (86,85 мг, 571,77 мкмоль, 21,08 мкл, 2 экв.) в MeCN (8 мл) перемешивали при 60°C в атмосфере N_2 в течение 18 ч LCMS показала, что исходный материал полностью израсходован и образовались два новых пика. Реакционную смесь концентрировали in vacuo и остаток очищали с помощью Combiflash (от 100% DCM до 8% MeOH в DCM). Получали продукт, представляющий собой 2-((1H-1,2,4-триазол-1-ил)метил)-4-метил-6-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он (55 мг) и 2-((4H-1,2,4-триазол-4-ил)метил)-4-метил-6-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он (30 мг).

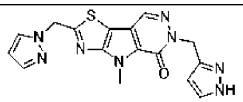
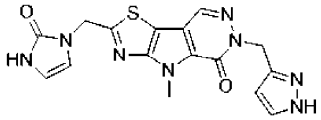
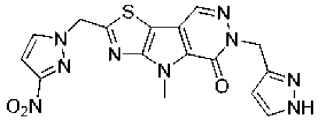
Стадия I. Синтез 2-((1H-1,2,4-триазол-1-ил)метил)-6-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она.

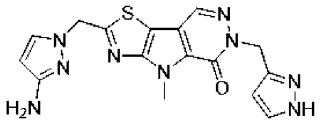
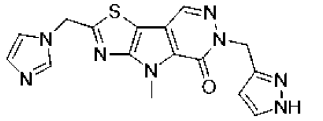
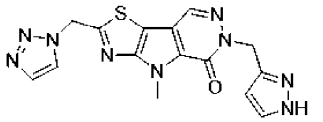
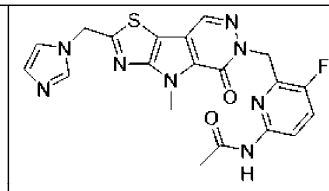
К суспензии 2-((1H-1,2,4-триазол-1-ил)метил)-4-метил-6-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она (55 мг, 110,52 мкмоль, 1 экв.) и HCl/диоксан (4 M, 1 мл, 36,19 экв.) в DCM (3 мл) добавляли H_2O (1,99 мг, 110,52 мкмоль, 0,05 мл, 1 экв.) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч LCMS показала, что исходный материал полностью израсходован, и обнаружили 84% необходимого продукта. Реакционную смесь концентрировали in vacuo и остаток очищали с помощью препаративной HPLC с получением необходимого продукта (24,1 мг, 65,60 мкмоль, выход 59,35%). Колонка: Xtimate C18 150*25 мм*5 мкм, подвижная фаза: [вода (0,225% FA)-ACN]; B%: 13% - 43%, 11,2 мин. LCMS: масса/заряд 367,9 $(M+H)^+$ ^{1}H ЯМР (400 МГц, МЕТАНОЛ-d_4) δ ppm 8,72 (s, 1H), 8,35 (s, 1H), 8,05 (s, 1H), 7,52 (brs, 1H), 6,26 (d, 1H), 5,92 (s, 2H), 5,43 (s, 2H), 4,30 (s, 3H).

Стадия J. Синтез 6-((1H-пиразол-3-ил)метил)-2-((4H-1,2,4-триазол-4-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она.

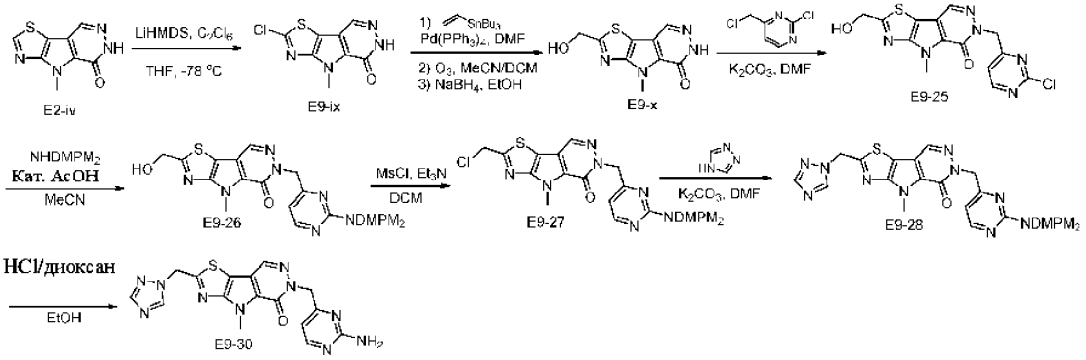
К суспензии 2-((4H-1,2,4-триазол-4-ил)метил)-4-метил-6-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она (30 мг, 60,28 мкмоль, 1 экв.) и HCl/диоксан (4 M, 1 мл, 66,35 экв.) в DCM (3 мл) добавляли H_2O (50,00 мг, 2,78 ммоль, 0,05 мл, 46,04 экв.) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч LCMS показала, что исходный материал полностью израсходован, обнаружили необходимый продукт. Реакционную смесь концентрировали in vacuo и остаток очищали с помощью препаративной HPLC с получением необходимого продукта (2,1 мг, 5,72 мкмоль). Колонка: Xtimate C18 150*25 мм*5 мкм; подвижная фаза: [вода (0,225% FA)-ACN]; B%: 13% - 43%, 11,2 мин. LCMS: масса/заряд 368,0 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, МЕТАНОЛ-d_4) δ ppm 8,74 (s, 2H), 8,38 (s, 1H), 7,52 (d, 1H), 6,26 (d, 1H), 5,84 (s, 2H), 5,44 (s, 2H), 4,31 (s, 3H).

Следующие соединения синтезировали в соответствии со схемой E9 и процедурой из примеров 9A-9B с применением подходящего исходного материала. При необходимости можно использовать стандартное введение и удаление защитной группы.

№ соед.	Структура и химическое название	Характеристика
E9-13	 2-((1H-пиразол-1-ил)метил)-6-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 367,0 $[M+H]^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, МЕТАНОЛ-d_4) δ ppm 8,39 (s, 1H), 7,90 (d, 1H), 7,63 (d, 1H), 7,59 (brs, 1H), 6,43 (t, 1H), 6,29 (brs, 1H), 5,85 (s, 2H), 5,48 (s, 2H), 4,37 (s, 3H).
E9-14	 6-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-2-((2-оксо-2,3-дигидро-1H-имидазол-1-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло [2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 383,0 $[M+H]^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, МЕТАНОЛ-d_4) δ ppm 8,41 (s, 1H), 7,55-7,57 (m, 1H), 6,64 (d, 1H), 6,51 (d, 1H), 6,30 (s, 1H), 5,48 (s, 2H), 5,28 (s, 2H), 4,37 (s, 3H).
E9-15	 6-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-2-((3-нитро-1H-пиразол-1-ил)метил)-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-он	LCMS: масса/заряд 412,0 $[M+H]^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ ppm 12,61 (brs, 1H), 8,55 (s, 1H), 8,28 (d, 1H), 7,58 (brs, 1H), 7,13 (d, 1H), 6,08 (d, 1H), 6,03 (s, 2H), 5,30 (brs, 2H), 4,24 (s, 3H).

E9-16	 6-((1H-пиразол-3-ил)метил)-2-((3-амино-1H-пиразол-1-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 382,0 $[M+H]^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, МЕТАНОЛ-d_4) δ ppm 8,35 (s, 1H), 7,53 (d, 2H), 6,26 (brs, 1H), 5,71 (d, 1H), 5,54 (s, 2H), 5,44 (s, 2H), 4,33 (s, 3H).
E9-17	 2-((1H-имидазол-1-ил)метил)-6-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 366,9 $[M+H]^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, МЕТАНОЛ-d_4) δ ppm 8,36 (s, 1H), 7,89 (s, 1H), 7,54 (brs, 1H), 7,30 (s, 1H), 7,03 (s, 1H), 6,26 (s, 1H), 5,72 (s, 2H), 5,44 (s, 2H), 4,33 (s, 3H).
E9-18	 2-((1H-1,2,3-триазол-1-ил)метил)-6-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LCMS: масса/заряд 368 $[M+H]^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ ppm 8,53 (brs, 1H), 8,32 (s, 1H), 7,81 (s, 1H), 7,58 (brs, 1H), 6,17 (s, 2H), 6,07 (brs, 1H), 5,29 (brs, 2H), 4,23 (s, 3H).
E9-19	 N-(6-((2-((1H-имидазол-1-ил)метил)-4-метил-5-оксо-4,5-дигидро-6H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6-ил)метил)-5-фторпиридин-2-ил)ацетамид	LC-MS: масса/заряд 453 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 10,36 (s, 1H), 8,55 (s, 1H), 8,07-7,84 (m, 2H), 7,70 (t, 1H), 7,37 (s, 1H), 7,00 (s, 1H), 5,79 (s, 2H), 5,45 (s, 2H), 4,26 (s, 3H), 2,01 (s, 3H).

Пример 9D. Синтез 2-((1H-1,2,4-триазол-1-ил)метил)-6-((2-аминопиримидин-4-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она.



Стадия A. Синтез 2-хлор-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она.

К смеси 4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она (3 г, 14,5 ммоль) в сухом THF (80 мл) добавляли по каплям LiHMDS (30,5 мл) при -65°C. После перемешивания в течение 1 ч добавляли раствор гексахлорэтана (1,8 мл, 16 ммоль) в сухом THF (20 мл). Температуру реакционной смеси

повышали до -20°C в течение 3 ч. Затем смесь гасили с помощью насыщ. NH_4Cl и перемешивали при к.т. в течение 20 мин. Осадок собирали путем фильтрации и промывали с помощью EtOAc с получением 3,5 г 2-хлор-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она. LC-MS (ESI): масса/заряд 241 $(M+H)^+$.

Стадия B. Синтез 4-метил-2-винил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она.

В атмосфере азота к смеси 2-хлор-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она (1,5 г, 6,2 ммоль) и трибутил(этенил)станнана (5,5 мл,18,7 ммоль) в DMF (30 мл) добавляли $Pd(PPh_3)_4$ (0,36 г, 0,31 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 100°C в течение 2 ч Затем смесь охлаждали и разбавляли с помощью EtOAc, промывали водой и солевым раствором, высушивали над безводн. Na_2SO_4 и концентрировали. Остаток очищали с помощью флэш-хроматографии (силикагель, 0-10% MeOH в DCM) с получением 1,4 г 4-метил-2-винил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она. LC-MS (ESI): масса/заряд 233 $(M+H)^+$.

Стадия C. Синтез 4-метил-5-оксо-5,6-дигидро-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-2-карбальдегида.

При -60°C смесь 4-метил-2-винил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она (500 мг, 2,15 ммоль) в DCM/MeCN (500 мл, объем 1:1) продували с помощью O_3 в течение 20 мин. Затем реакционную смесь гасили с помощью диметилсульфона и концентрировали с получением 500 мг 4-метил-5-оксо-5,6-дигидро-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-2-карбальдегида. LC-MS (ESI): масса/заряд 235 $(M+H)^+$.

Стадия D. Синтез 2-(гидроксиметил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она.

К смеси 4-метил-5-оксо-5,6-дигидро-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-2-карбальдегида (500 мг, 2,13 ммоль) в EtOH (3 мл) добавляли $NaBH_4$ (81 мг, 2,13 ммоль) при 0°C. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5 мин. Затем смесь выливали в насыщ. NH_4Cl, экстрагировали с помощью EtOAc. Органический слой промывали солевым раствором, высушивали над безводн. Na_2SO_4 и концентрировали. Остаток очищали с помощью флэш-хроматографии (силикагель, 0-8% MeOH в DCM) с получением 120 мг 2-(гидроксиметил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она. LC-MS(ESI): масса/заряд 237 $(M+H)^+$.

Стадия E. Синтез 6-((2-хлорпиримидин-4-ил)метил)-2-(гидроксиметил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она.

К смеси 2-(гидроксиметил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она (200 мг, 0,85 ммоль) в DMF (8 мл) добавляли K_2CO_3 (351 мг, 2,54 ммоль). После перемешивания при 60°C в течение 30 мин. добавляли раствор 2-хлор-4-(хлорметил)пиримидина (276 мг, 1,7 ммоль) в DMF (2 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение еще 4 ч, выливали в насыщ. NH_4Cl, экстрагировали с помощью EtOAc. Органический слой промывали солевым раствором, высушивали над безводн. Na_2SO_4 и концентрировали. Остаток очищали с помощью флэш-хроматографии (силикагель, 0-8% MeOH в DCM) с получением 160 мг 6-((2-хлорпиримидин-4-ил)метил)-2-(гидроксиметил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она. LC-MS(ESI): масса/заряд 363 $(M+H)^+$.

Стадия F. Синтез 6-((2-(бис(2,4-диметоксибензил)амино)пиримидин-4-ил)метил)-2-(гидроксиметил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она.

К смеси 6-((2-хлорпиримидин-4-ил)метил)-2-(гидроксиметил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она (160 мг, 0,44 ммоль) в MeCN (5 мл) добавляли бис(2,4-диметоксибензил)амин (280 мг, 0,88 ммоль) и AcOH (1 капля). Реакционную смесь перемешивали при 80°C в течение ночи. Реакционную смесь выпаривали и остаток очищали с помощью препаративной TLC (элюент: 5% MeOH в DCM) с получением 75 мг 6-((2-(бис(2,4-диметоксибензил)амино)пиримидин-4-ил)метил)-2-(гидроксиметил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она. LC-MS (ESI): масса/заряд 644 $(M+H)^+$.

Стадия G. Синтез 6-((2-(бис(2,4-диметоксибензил)амино)пиримидин-4-ил)метил)-2-(хлорметил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она.

При 0°C к раствору 6-((2-(бис(2,4-диметоксибензил)амино)пиримидин-4-ил)метил)-2-(гидроксиметил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она (75 мг, 0,12 ммоль) в DCM (5 мл) добавляли Et_3N (0,16 мл, 1,16 ммоль) и MsCl (0,05 мл, 0,58 ммоль). Смесь перемешивали при к.т. в течение ночи. Реакционную смесь разбавляли с помощью DCM, промывали с помощью насыщ. NH_4Cl и солевого раствора, высушивали над безводн. Na_2SO_4 и концентрировали с получением 70 мг неочищенного продукта 6-((2-(бис(2,4-диметоксибензил)амино)пиримидин-4-ил)метил)-2-(хлорметил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она. LC-MS (ESI): масса/заряд 662 $(M+H)^+$.

Стадия H. Синтез 2-((1H-1,2,4-триазол-1-ил)метил)-6-((2-(бис(2,4-диметоксибензил)амино)пиримидин-4-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она.

Смесь 4H-1,2,4-триазола (39 мг, 0,57 ммоль) и K_2CO_3 (78 мг, 0,57 ммоль) в DMF (3 мл) перемешивали при 60°C в течение 30 мин. Добавляли 6-((2-(бис(2,4-диметоксибензил)амино)пиримидин-4-ил)метил)-2-(хлорметил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он (75 мг, 0,11 ммоль) и перемешивали в течение еще 30 мин. Суспензию выливали в насыщ. NH_4Cl, экстрагировали с помощью EtOAc. Органический слой промывали солевым раствором, высушивали над безводн. Na_2SO_4 и концентрирова-

ли. Остаток очищали с помощью флэш-хроматографии (силикагель, 0-10% DCM в MeOH) с получением 60 мг 2-((1H-1,2,4-триазол-1-ил)метил)-6-((2-(бис(2,4-диметоксибензил)амино)пиримидин-4-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она. LS-MS(ESI): масса/заряд 695 $(M+H)^+$.

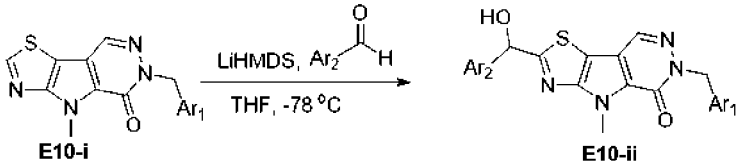
Стадия G. Синтез 2-((1H-1,2,4-триазол-1-ил)метил)-6-((2-аминопиримидин-4-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она.

К смеси 2-((1H-1,2,4-триазол-1-ил)метил)-6-((2-(бис(2,4-диметоксибензил)амино)пиримидин-4-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она (30 мг, 0,043 ммоль) в EtOH (2 мл) добавляли HCl (0,5 мл, 4 M в диоксане). Реакционную смесь перемешивали при 80°C в течение ночи. Затем смесь охлаждали и выливали в насыщ. $NaHCO_3$, экстрагировали с помощью EtOAc. Органический слой промывали солевым раствором, высушивали над безводн. Na_2SO_4 и концентрировали. Остаток очищали посредством препаративной HPLC с получением 8 мг 2-((1H-1,2,4-триазол-1-ил)метил)-6-((2-аминопиримидин-4-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она. LS-MS(ESI): масса/заряд 395 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 8,80 (s, 1H), 8,62 (s, 1H), 8,12-8,10 (m, 2H), 6,60 (s, 2H), 6,19 (d, 1H), 6,01 (s, 2H), 5,19 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).

№ соед.	Структура и химическое название	Характеристика
E9-31	2-((1H-имидазол-1-ил)метил)-6-((2-аминопиримидин-4-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LC-MS: масса/заряд 394 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 8,62 (s, 1H), 8,11 (d, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,36 (s, 1H), 6,99 (s, 1H), 6,61 (s, 2H), 6,18 (d, 1H), 5,79 (s, 2H), 5,19 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).
E9-32	2-((1H-1,2,4-триазол-1-ил)метил)-4-метил-6-((5-оксо-4,5-дигидро-1H-1,2,4-триазол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-он	LC-MS: масса/заряд 385 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ: 11,32-11,28 (m, 2H), 8,80 (s, 1H), 8,59 (s, 1H), 8,11 (s, 1H), 6,01 (s, 2H), 5,14 (s, 2H), 4,26 (s, 3H).

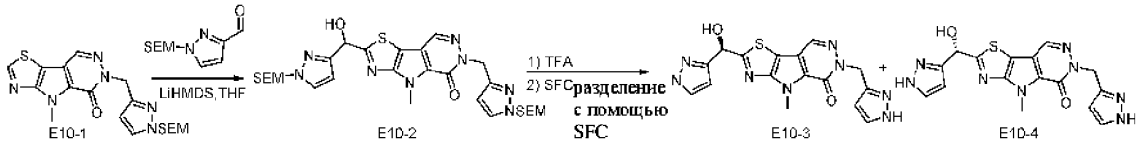
Пример 10. Синтез соединений E10-ii.

Схема E10



Реакция E10-i с LiHMDS и альдегидом обеспечивает образование соединения E10-ii, которое может быть разделено с помощью хиральной HPLC или SFC с получением двух энантиомеров. Как используется в данном документе, каждый из Ar_1 и Ar_2 независимо представляет собой необязательно замещенный 5- или 6-членный моноциклический гетероарил.

Пример 10A. Синтез (R)-6-((1H-пиразол-3-ил)метил)-2-(гидрокси(1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она и (S)-6-((1H-пиразол-3-ил)метил)-2-(гидрокси(1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она.



Стадия A. Синтез 2-(гидрокси(1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-6-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она.

В атмосфере аргона к раствору 4-метил-6-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-

ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она (0,5 г, 1,20 ммоль, 1 экв.) в THF (10 мл) медленно добавляли LiHMDS (1,0 M, 2,41 мл, 2 экв.) при -78°C и реакционную смесь перемешивали при -70°C в течение 1 ч. Затем раствор 1-(2-триметилсилилэтоксиметил)пиразол-3-карбальдегида (816,97 мг, 3,61 ммоль, 3 экв.) в THF (1 мл) добавляли к реакционной смеси. Полученную смесь перемешивали при -70°C в течение 1 ч TLC (петролейный эфир:EtOAc=1:1) показала, что образовались два новых пятна. Реакционную смесь гасили с помощью водн. NH_4Cl (5 мл) при -70°C, а затем нагревали до комнатной температуры. Смесь разбавляли водой (10 мл) и экстрагировали с помощью EtOAc (8 мл × 3). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (10 мл) и высушивали над Na_2SO_4. Растворитель концентрировали in vacuo. Остаток очищали с помощью Combiflash (от 100% петролейного эфира до 100% EtOAc) с получением неочищенного продукта (130 мг) в виде бледно-коричневой смолы, которую применяли на следующей стадии без дополнительной очистки. LCMS: масса/заряд 643,2 $[M+H]^+$.

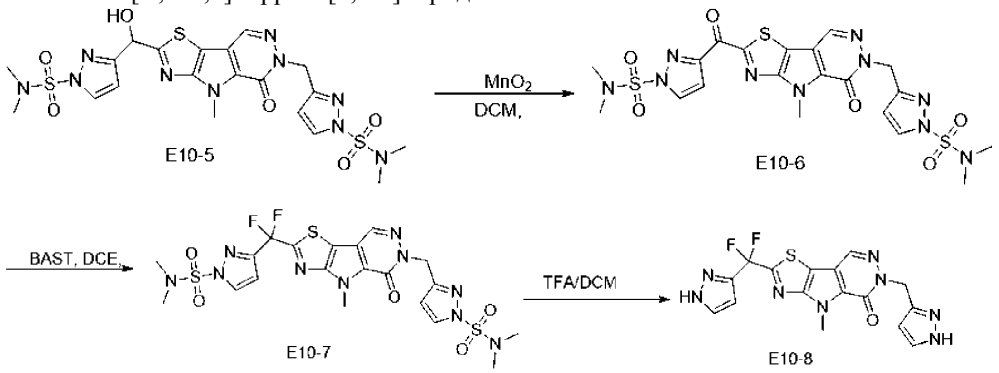
Стадия B. Синтез 6-((1H-пиразол-3-ил)метил)-2-(гидрокси(1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она.

К раствору 2-(гидрокси(1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-6-((1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она (0,13 г, 202,20 мкмоль, 1 экв.) в DCM (8 мл) добавляли TFA (4,62 г, 40,52 ммоль, 3 мл, 200,38 экв.) с последующим добавлением H_2O (500,00 мг, 27,75 ммоль, 0,5 мл, 137,26 экв.), затем реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч, затем нагревали до 40°C в течение 18 ч LCMS показала, что исходный материал полностью израсходован. Реакционную смесь концентрировали in vacuo и остаток очищали с помощью препаративной HPLC с получением необходимого продукта (20,5 мг). LCMS: масса/заряд 382,9 $[M+H]^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ ppm 12,72 (brs, 1H), 12,61 (brs, 1H), 8,52 (s, 1H), 7,56-7,62 (m, 2H), 6,82 (brs, 1H), 6,18 (d, 1H), 5,99-6,09 (m, 2H), 5,24-5,32 (m, 2H), 4,19 (s, 3H).

Стадия C. Синтез (R)-6-((1H-пиразол-3-ил)метил)-2-(гидрокси(1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она и (S)-6-((1H-пиразол-3-ил)метил)-2-(гидрокси(1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она.

Соединение 6-((1H-пиразол-3-ил)метил)-2-(гидрокси(1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5(6H)-она разделяли с помощью SFC. Условия SFC: колонка представляет собой DAICEL CHIRALCEL OJ-H (250 мм*30 мм, 5 мкм); подвижная фаза: A: 55% CO_2; B: 45% [0,1% NH_3H_2O в EtOH]/мин. Разделение с помощью SFC обеспечивало получение 2-[(R)-гидрокси(1H-пиразол-3-ил)метил]-4-метил-6-(1H-пиразол-3-илметил)тиазоло[3,4]пирроло[1,3-d]пиридазин-5-она и 2-[(S)-гидрокси(1H-пиразол-3-ил)метил]-4-метил-6-(1H-пиразол-3-илметил)тиазоло[3,4]пирроло[1,3-d]пиридазин-5-она. Один изомер (4,4 мг): LCMS: масса/заряд 383 $[M+H]^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, Метанол-d_4) δ ppm 8,39 (s, 1H), 7,61 (brs, 1H), 7,55 (brs, 1H), 6,34 (brs, 1H), 6,25 (brs, 1H), 6,18 (brs, 1H), 5,44 (s, 2H), 4,29 (s, 3H). Другой изомер (4,1 мг): LCMS: масса/заряд 383 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, МЕТАНОЛ-d_4) δ ppm 8,40 (s, 1H), 7,59 (brs, 1H), 7,54 (brs, 1H), 6,34 (brs, 1H), 6,26 (brs, 1H), 6,19 (brs, 1H), 5,44 (s, 2H), 4,29 (s, 3H).

Пример 10B. Синтез 6-((1H-пиразол-3-ил)метил)-2-(дифтор(1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-она.



Стадия A. 3-(6-((1-(N, N-Диметилсульфамоил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-5-оксо-5,6-дигидро-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-2-карбонил)-N, N-диметил-1H-пиразол-1-сульфонамид.

К смеси 3-((2-((1-(N, N-диметилсульфамоил)-1H-пиразол-3-ил)(гидрокси)метил)-4-метил-5-оксо-4,5-дигидро-6H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6-ил)метил)-N, N-диметил-1H-пиразол-1-сульфонамида (50 мг, 83,80 мкмоль, получено аналогично E10-1) в DCM (1,5 мл) добавляли MnO_2 (72,85 мг, 838,00 мкмоль) и смесь перемешивали при 15°C в течение 1,5 ч. Реакционную смесь фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта (60 мг, неочищенное вещество). LCMS: масса/заряд 595,1 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ 8,34 (s, 1H), 8,12 (d, 1H), 7,90 (d, 1H), 7,41 (d, 1H), 6,38 (d, 1H), 5,54 (s, 2H), 4,49 (s, 3H), 3,10 (s, 6H) 2,93 (s, 6H).

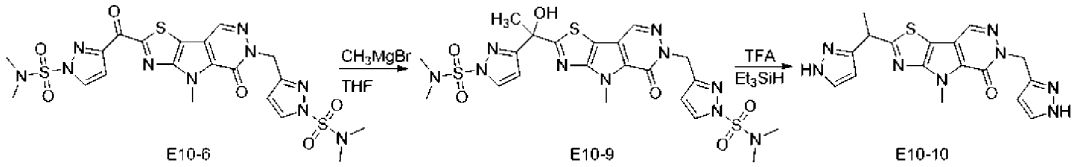
Стадия B. 3-((2-((1-(N,N-Диметилсульфамоил)-1H-пиразол-3-ил)дифторметил)-4-метил-5-оксо-4,5-дигидро-6H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6-ил)метил)-N,N-диметил-1H-пиразол-1-сульфонамид.

К раствору 3-(6-((1-(N,N-диметилсульфамоил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-5-оксо-5,6-дигидро-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-2-карбонил)-N,N-диметил-1H-пиразол-1-сульфонамида (240 мг, 403,60 мкмоль) в DCE (4 мл) добавляли BAST (1,34 г, 6,05 ммоль, 1,33 мл) и смесь перемешивали при 50°C в течение 12 ч Реакционную смесь разбавляли дихлорметаном (20 мл) и промывали с помощью насыщенного $NaHCO_3$ (10 мл *2), высушивали над безводным Na_2SO_4, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта (300 мг, неочищенное вещество), который применяли на следующей стадии без дополнительной очистки. LCMS: масса/заряд 617,1 $(M+H)^+$.

Стадия C. 6-((1H-Пиразол-3-ил)метил)-2-(дифтор(1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-он.

К смеси 3-((2-((1-(N, N-диметилсульфамоил)-1H-пиразол-3-ил)дифторметил)-4-метил-5-оксо-4,5-дигидро-6H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6-ил)метил)-N,N-диметил-1H-пиразол-1-сульфонамида (240 мг, 163,47 мкмоль) в DCM (2 мл) добавляли TFA (2,07 г, 18,15 ммоль, 1,34 мл) и смесь нагревали до 50°C в течение 5 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью препаративной HPLC (колонка: Agela ASB 150*25 мм*5 мкм; подвижная фаза: [вода (0,05% HCl)-ACN]; B%: 30-60%, 8 мин.) с получением необходимого продукта (3,9 мг, выход 5,45%, чистота 92%) в виде белого твердого вещества. LCMS: масса/заряд 403,1 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ 8,67 (s, 1H), 7,95 (s, 1H), 7,61 (s, 1H), 6,72 (s, 1H), 6,16 (s, 1H), 5,36 (s, 2H), 4,28 (s, 3H).

Пример 10C. Синтез 2-(1-(1H-пиразол-3-ил)этил)-6-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-она.



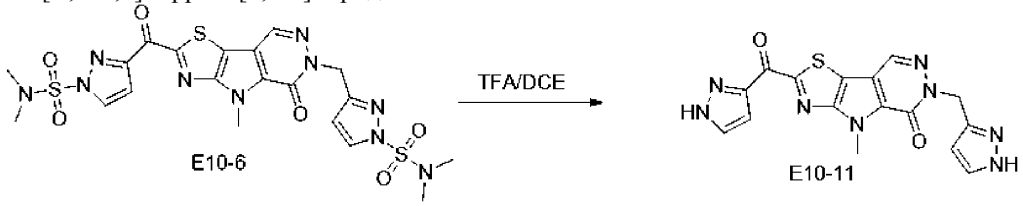
Стадия A. 3-((2-(1-(1-(N,N-Диметилсульфамоил)-1H-пиразол-3-ил)-1-гидроксиэтил)-4-метил-5-оксо-4,5-дигидро-6H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6-ил)метил)-N, N-диметил-1H-пиразол-1-сульфонамид.

К раствору 3-(6-((1-(N,N-диметилсульфамоил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-5-оксо-5,6-дигидро-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-2-карбонил)-N,N-диметил-1H-пиразол-1-сульфонамида (160 мг, 269,07 мкмоль) в THF (3 мл) добавляли CH_3MgBr (3 M, 179,38 мкл) и реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 3 ч Реакционную смесь выливали в насыщенный NH_4Cl (10 мл) при 0°C, экстрагировали с помощью этилацетата (20 мл *3). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (10 мл), высушивали над безводным Na_2SO_4, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью флэш-хроматографии на силикагеле (ISCO®; колонка для флэш-хроматографии на диоксиде кремния SepaFlash®, 12 г, элюент: градиент 0~90% этилацетат/петролейный эфир при 40 мл/мин.) с получением необходимого продукта (50 мг, 81,87 мкмоль). LCMS: масса/заряд 611,1 $(M+H)^+$.

Стадия B. 2-(1-(1H-Пиразол-3-ил)этил)-6-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-он.

К смеси 3-((2-(1-(1-(N,N-диметилсульфамоил)-1H-пиразол-3-ил)-1-гидроксиэтил)-4-метил-5-оксо-4,5-дигидро-6H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-6-ил)метил)-N,N-диметил-1H-пиразол-1-сульфонамида (50 мг, 81,87 мкмоль) в DCE (0,5 мл) добавляли Et_3SiH (19,04 мг, 163,75 мкмоль, 26,15 мкл) при 0°C с последующим TFA (1,54 г, 13,51 ммоль, 1 мл, 164,96 экв.) и перемешивали при 0°C в течение 1 ч. Смесь нагревали до 50°C в течение еще 1 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью препаративной HPLC (колонка: Agela ASB 150*25 мм*5 мкм; подвижная фаза: [вода (0,05% HCl)-ACN]; B%: 25%-55%, 7 мин.) с получением 7,0 мг необходимого продукта. LCMS: масса/заряд 381,2 $(M+H)^+$. ^{1}H ЯМР (400 МГц, CD_3OD) δ 8,46 (s, 1H), 8,15 (d, 2H), 6,78 (d, 1H), 6,74 (d, 1H), 5,60 (s, 2H), 5,00 (q, 1H), 4,33 (s, 3H), 1,94 (d, 3H).

Пример 10D. Синтез 6-((1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-2-(1H-пиразол-3-карбонил)-4,6-дигидро-5H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-5-она.



Стадия A. 4-Метил-2-(1H-пиразол-3-карбонил)-6-(1H-пиразол-3-илметил)тиазоло[3,4]пирроло[1,3-d]пиридазин-5-он. К раствору 3-(6-((1-(N,N-диметилсульфамоил)-1H-пиразол-3-ил)метил)-4-метил-5-оксо-5,6-дигидро-4H-тиазоло[5',4':4,5]пирроло[2,3-d]пиридазин-2-карбонил)-N,N-диметил-1H-пиразол-1-

сульфонамида (50 мг, 84,08 мкмоль) в DCE (1,5 мл) добавляли TFA (2,31 г, 20,26 ммоль, 1,5 мл) и реакционную смесь нагревали до 50°C в течение 12 ч. Реакционную смесь концентрировали под вакуумом. Остаток очищали с помощью препаративной HPLC с получением 6,0 мг необходимого продукта. LCMS: масса/заряд 381,1 $(M+H)^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 8,72 (s, 1H), 7,96 (d, 1H), 7,64 (d, 1H), 7,49 (d, 1H), 6,19 (d, 1H), 5,37 (s, 2H), 4,38 (s, 3H).

Пример 11. Анализ мутантной формы PKR.

Процедура: раствор фермента, представляющего собой PKR или мутантную форму PKR, разбавляли с получением реакционной смеси, которая содержит 1x буфер (100 мМ KCl, 50 мМ Tris с pH 7,5, 5 мМ $MgCl_2$), а также PEP (конц. зависит от фермента), 180 мкМ NADH, 0,5 единицы LDH, 1 мМ DTT, 0,03% BSA; при этом указаны конечные концентрации образцов для анализа после разведения в 1,11 раза.

Сначала в лунки добавляли по 2 мкл тестируемого соединения, а затем добавляли по 180 мкл реакционной смеси.

В реакционную смесь с тестируемым соединением добавляли все компоненты, за исключением ADP, и планшеты хранили в течение 60 минут при комнатной температуре.

Добавляли 20 мкл ADP для обеспечения начала реакции при комнатной температуре и измеряли прогресс реакции в виде изменений поглощения при длине волны 340 нм при комнатной температуре.

Получение тестируемого соединения

Исходный раствор тестируемого соединения получали при 100x концентрации в 100% DMSO (10 мМ).

Для 11 точек получали разведения 1 к 3 (т.е. 50 мкл первой концентрации добавляли к 100 мкл 100% DMSO с получением 3,33 мМ, 50 мкл этого добавляли к 100 мкл DMSO с получением 1,11 мМ и т.д.).

Посредством разведения образца для анализа в соотношении 1 к 100 (2 мкл в 200 мкл) получали исходную концентрацию 100 мкМ, при этом для 11 точек осуществляли ее уменьшения в 3 раза.

Буфер для анализа: 100 мМ KCl, 50 мМ Tris 7,5, 5 мМ $MgCl_2$, 1 мМ DTT, 0,03% BSA.

Реакционная смесь: мутантная форма фермента PKR: 40-400 нг/лунка; ADP: 0,2-1,65 мМ; PEP: 0,1-0,5 мМ; NADH:180 мкМ; LDH: 0,5 единицы (Sigma № 59023); DTT: 1 мМ; BSA: 0,03%.

Пример 12. Одноточечный процентный анализ активации WT PKR.

Соединение, описанное в данном документе, разбавляли посредством DMSO и тестировали при концентрации 1 мкМ. Фермент разбавляли с получением раствора фермента, который содержит 1x буфер (100 мМ KCl, 50 мМ Tris с pH 7,5, 5 мМ $MgCl_2$), а также PEP (конц. зависит от фермента), 180 мкМ NADH, 0,5 единицы LDH, 1 мМ DTT, 0,03% BSA; при этом указаны конечные концентрации образцов для анализа после разведения в 1,11 раза.

Сначала в лунки добавляли по 2 мкл раствора соединения, а затем добавляли по 180 мкл раствора фермента. В образцы для анализа добавляли все компоненты, за исключением ADP, и планшеты хранили в течение 60 минут при к.т. Добавляли 20 мкл ADP для обеспечения начала анализа и выходные данные анализа оценивали с применением OD340. Анализ проводили при комнатной температуре.

Конечная концентрация: PKR wt (100 нг/лунка), Tris с pH 7,5 (50 мМ), KCl (100 мМ), $MgCl_2$ (5 мМ), ADP (0,48 мМ), PEP (0,15 мМ), NADH (180 мкМ), LDH (0,5 единицы, Sigma 59023), DTT (1 мМ) и BSA (0,03%).

Пример 13. Одноточечный процентный анализ активации PKR R510Q.

Соединение, описанное в данном документе, разбавляли посредством DMSO и тестировали при концентрации 1 мкМ. Фермент разбавляли с получением раствора фермента, который содержит 1x буфер (100 мМ KCl, 50 мМ Tris с pH 7,5, 5 мМ $MgCl_2$), а также PEP (конц. зависит от фермента), 180 мкМ NADH, 0,5 единицы LDH, 1 мМ DTT, 0,03% BSA; при этом указаны конечные концентрации образцов для анализа после разведения в 1,11 раза.

Сначала в лунки добавляли по 2 мкл раствора соединения, а затем добавляли по 180 мкл раствора фермента. В образцы для анализа добавляли все компоненты, за исключением ADP, и планшеты хранили в течение 60 минут при к.т. Добавляли 20 мкл ADP для обеспечения начала анализа и выходные данные анализа оценивали с применением OD340. Анализ проводили при комнатной температуре.

Конечная концентрация: PKR R510Q (40 нг/лунка), Tris с pH 7,5 (50 мМ), KCl (100 мМ), $MgCl_2$ (5 мМ), ADP (0,2 мМ), PEP (0,11 мМ), NADH (180 мкМ), LDH (0,5 единицы, Sigma 59023), DTT (1 мМ) и BSA (0,03%).

Пример 14. Одноточечный процентный анализ активации PKR R532W.

Соединение, описанное в данном документе, разбавляли посредством DMSO и тестировали при концентрации 1 мкМ. Фермент разбавляли с получением раствора фермента, который содержит 1x буфер (100 мМ KCl, 50 мМ Tris с pH 7,5, 5 мМ $MgCl_2$), а также PEP (конц. зависит от фермента), 180 мкМ NADH, 0,5 единицы LDH, 1 мМ DTT, 0,03% BSA; при этом указаны конечные концентрации образцов для анализа после разведения в 1,11 раза.

Сначала в лунки добавляли по 2 мкл раствора соединения, а затем добавляли по 180 мкл раствора фермента. В образцы для анализа добавляли все компоненты, за исключением ADP, и планшеты хранили в течение 60 минут при к.т. Добавляли 20 мкл ADP для обеспечения начала анализа и выходные данные анализа оценивали с применением OD340. Анализ проводили при комнатной температуре.

Конечная концентрация: PKR R532W (100 нг/лунка), Tris с pH 7,5 (50 мМ), KCl (100 мМ), MgCl2

(5 мМ), ADP (0,36 мМ), PEP (0,1 мМ), NADH (180 мкМ), LDH (0,5 единицы, Sigma 59023), DTT (1 мМ) и BSA (0,03%).

Пример 15. Одноточечный процентный анализ активации PKR T384M.

Соединение, описанное в данном документе, разбавляли посредством DMSO и тестировали при концентрации 1 мкМ. Фермент разбавляли с получением раствора фермента, который содержит 1x буфер (100 мМ KCl, 50 мМ Tris с pH 7,5, 5 мМ $MgCl_2$), а также PEP (конц. зависит от фермента), 180 мкМ NADH, 0,5 единицы LDH, 1 мМ DTT, 0,03% BSA; при этом указаны конечные концентрации образцов для анализа после разведения в 1,11 раза.

Сначала в лунки добавляли по 2 мкл раствора соединения, а затем добавляли по 180 мкл раствора фермента. В образцы для анализа добавляли все компоненты, за исключением ADP, и планшеты хранили в течение 60 мин при к.т. Добавляли 20 мкл ADP для обеспечения начала анализа и выходные данные анализа оценивали с применением OD340. Анализ проводили при комнатной температуре.

Конечная концентрация: растворимая PKR T384M (300 нг/лунка), Tris с pH 7,5 (50 мМ), KCl (100 мМ), $MgCl_2$ (5 мМ), ADP (0,08 мМ), PEP (0,23 мМ), NADH (180 мкМ), LDH (0,5 единицы, Sigma 59023), DTT (1 мМ) и BSA (0,03%).

Пример 16. Очистка эритроцитов (RBC).

Свежую кровь, отобранную у здоровых добровольцев, собирали в пробирки с K_2EDTA. Цельную кровь осаждали посредством центрифугирования при 500 g в течение 10 мин. Отрезали порт трансфузионного мешка от Neo-фильтра для удаления лейкоцитов Purecell (Fisher NC0267633) на один (1) дюйм выше фильтра. Прикрепляли цилиндр шприца объемом 10 мл к оставшейся отрезанной трубке, присоединенной к Neo-фильтру. Слой плазмы крови удаляли от осадка цельной крови и осадок ресуспендировали в 2x объеме фосфатно-солевого буферного раствора (PBS). Переносили 9 мл ресуспендированного осадка клеток крови в подготовленный шприц объемом 10 мл, который присоединен к Neo-фильтру. Обеспечивали протекание цельной крови через фильтр под действием силы тяжести, пока вся жидкость не проходила через верхнюю трубку в фильтровальный диск.

Добавляли поршень к шприцу, удаляли шприц из зажима и переворачивали фильтр, затем пропускали воздух через систему фильтрования шприца. С применением нового шприца объемом 5 мл удаляли отфильтрованные RBC из мешка посредством порта шприца и переносили очищенные RBC в пробирку объемом 5 мл с защелкивающимся колпачком, которую инкубировали на льду. Обеспечивали центрифугирование пробирки объемом 5 мл с защелкивающимся колпачком при 500 g в течение 10 минут при 15°C, аспирировали надосадочную жидкость и ресуспендировали в AGAM (1x PBS, 1% глюкоза, 170 мг/л аденина, 5,25 г/л маннита) при плотности 4×10^9 клеток/мл.

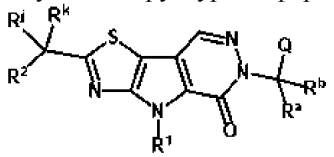
Пример 17. Клеточный анализ ATP.

Для клеточных анализов ATP соединение, описанное в данном документе, получали в 100% DMSO в виде 10 мМ исходного раствора. Последовательные разведения (1:4) проводили в 96-луночном планшете для хранения с V-образным дном и затем их добавляли при 1:100 в 96-луночные планшеты с V-образным дном, содержащие AGAM. RBC разбавляли в среде AGAM до плотности 1×10^7 клеток/мл, после чего добавляли их в черные аналитические планшеты с прозрачным дном по 90 мкл/лунка (конечная концентрация соединения при концентрации DMSO 0,1%). Аналитические планшеты закрывали с применением алюминиевой фольги для герметичного запечатывания и инкубировали в течение ночи при 37°C в увлажненной камере. Уровни ATP считывали с применением Cell-Titer-Glo (Promega).

Из описанных таким образом некоторых аспектов некоторых вариантов осуществления следует понимать, что различные изменения, модификации и улучшения будут очевидны для специалистов в данной области техники. Предполагается, что такие изменения, модификации и улучшения являются частью настоящего изобретения, и предполагается, что они находятся в пределах сущности и объема настоящего изобретения. Соответственно вышеуказанные описание и графические материалы приведены исключительно в качестве примера.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

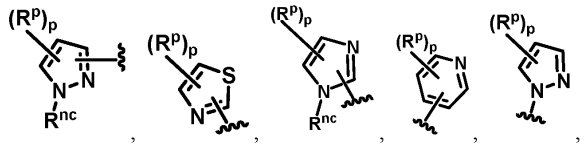
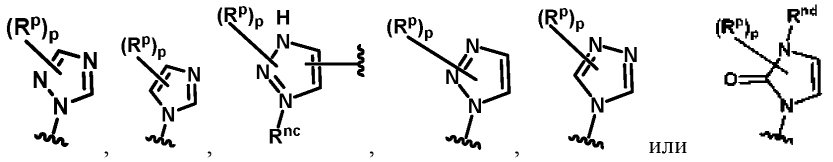
1. Соединение, представленное следующей структурной формулой:



(I),

или его фармацевтически приемлемая соль, где

R^1 представляет собой C_1-C_6-алкил;

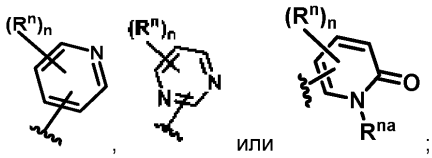
R^2 представляет собой  ,  , или , где

каждый вариант R^p независимо представляет собой галоген, C_1-C_6-алкил, -OC_1-C_6-алкил, -NH_2, -NHC_1-C_6-алкил, -N(C_1-C_6-алкил)$_2$, -NO_2 или C_1-C_6-алкил, замещенный OH; или

R^{nc} представляет собой водород или -C_1-C_6-алкил;

R^{nd} представляет собой водород;

P равен 0, 1 или 2, как позволяет валентность;

Q представляет собой  , или ;

n равен 0, 1 или 2, как позволяет валентность;

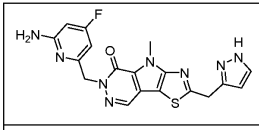
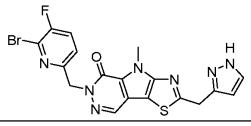
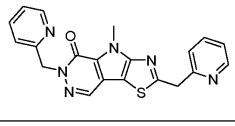
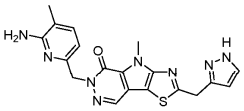
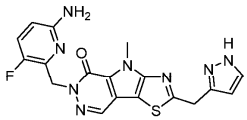
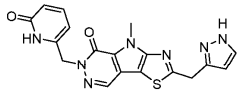
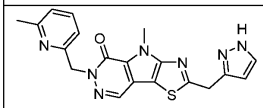
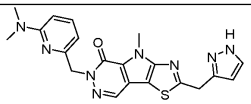
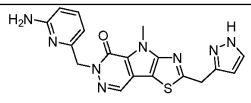
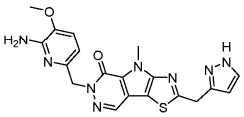
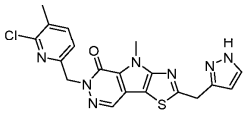
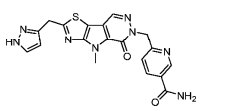
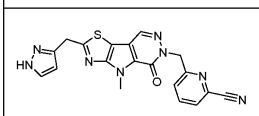
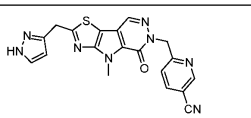
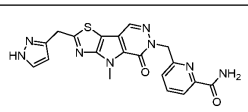
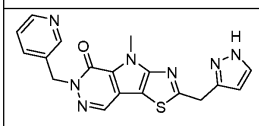
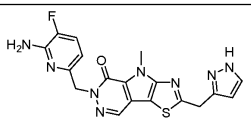
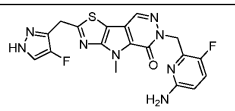
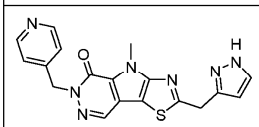
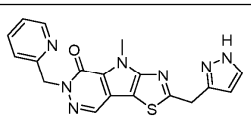
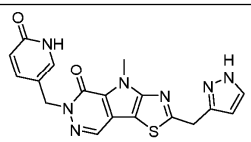
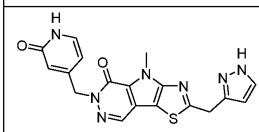
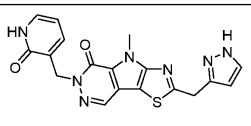
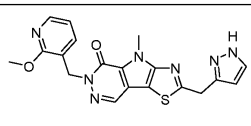
каждый R^n независимо представляет собой галоген, -OH, -CN, -NH_2, C_1-C_6-алкил, C_1-C_6-галогеналкил, -OC_1-C_6-алкил, -C(=O)NH_2, -C(=O)OH, -C_{1-6}галогеналкокси, -N(C_1-C_6-алкил)$_2$, -NHOH, -NHC(=O)C_1-C_6-алкил, -NHC_1-C_6-алкил или C_1-C_6-алкил, замещенный OH, -C(=O)NH_2, NH_2 или -OC_1-C_6-алкилом;

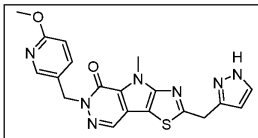
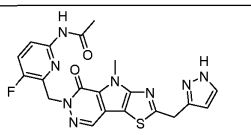
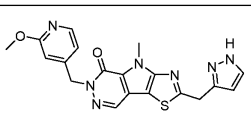
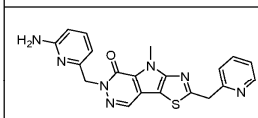
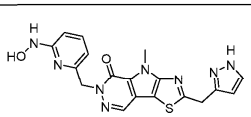
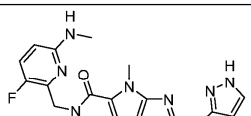
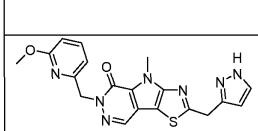
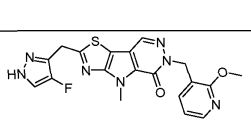
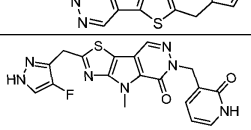
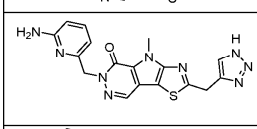
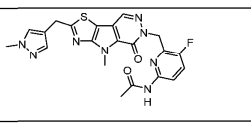
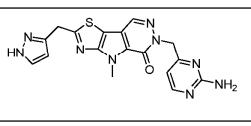
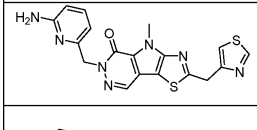
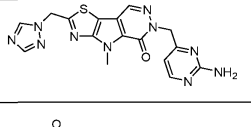
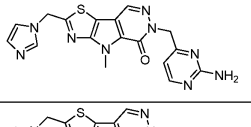
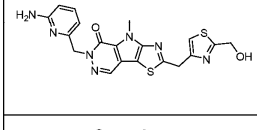
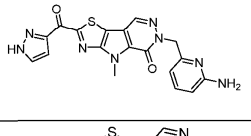
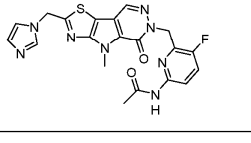
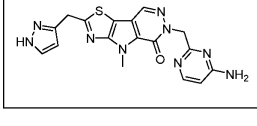
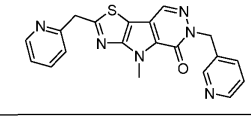
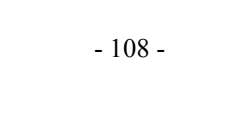
каждый R^{na} независимо представляет собой водород или -C_1-C_6-алкил;

каждый из R^a и R^b представляет собой водород; и

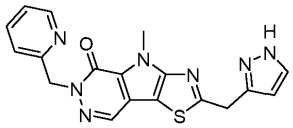
каждый из R^j и R^k представляет собой водород, OH, -OC_1-C_6-алкил, галоген, C_1-C_6-алкил; или в качестве альтернативы R^j и R^k, взятые вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, могут образовывать C=O.

2. Соединение по п.1 или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение выбрано из следующих:

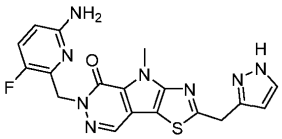
		
		
		
		
		
		
		
		

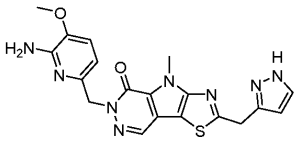
3. Соединение по п.1 или 2 или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение представлено следующей структурной формулой:



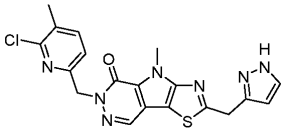
4. Соединение по п.1 или 2 или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение представлено следующей структурной формулой:



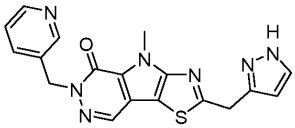
5. Соединение по п.1 или 2 или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение представлено следующей структурной формулой:



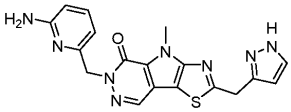
6. Соединение по п.1 или 2 или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение представлено следующей структурной формулой:



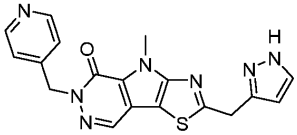
7. Соединение по п.1 или 2 или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение представлено следующей структурной формулой:



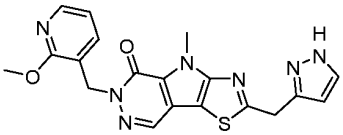
8. Соединение по п.1 или 2 или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение представлено следующей структурной формулой:



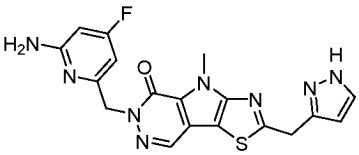
9. Соединение по п.1 или 2 или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение представлено следующей структурной формулой:



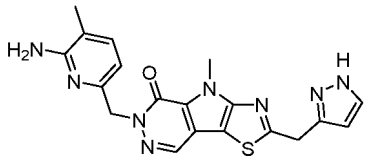
10. Соединение по п.1 или 2 или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение представлено следующей структурной формулой:



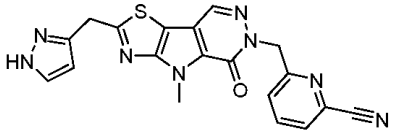
11. Соединение по п.1 или 2 или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение представлено следующей структурной формулой:



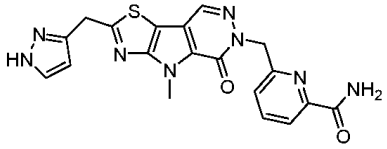
12. Соединение по п.1 или 2 или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение представлено следующей структурной формулой:



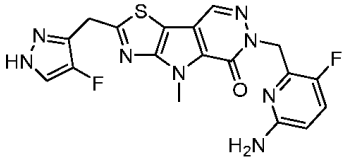
13. Соединение по п.1 или 2 или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение представлено следующей структурной формулой:



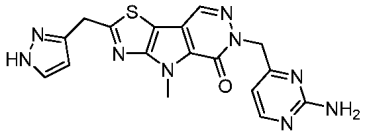
14. Соединение по п.1 или 2 или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение представлено следующей структурной формулой:



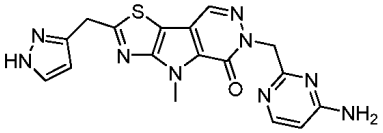
15. Соединение по п.1 или 2 или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение представлено следующей структурной формулой:



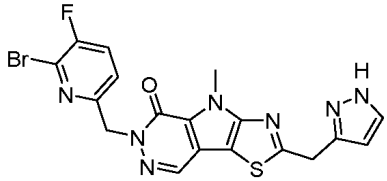
16. Соединение по п.1 или 2 или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение представлено следующей структурной формулой:



17. Соединение по п.1 или 2 или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение представлено следующей структурной формулой:



18. Соединение по п.1 или 2 или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение представлено следующей структурной формулой:



19. Фармацевтическая композиция, содержащая эффективное количество соединения по любому из пп.1-18 или его фармацевтически приемлемой соли и фармацевтически приемлемый носитель.

20. Применение (1) соединения по любому из пп.1-18 или его фармацевтически приемлемой соли или (2) фармацевтической композиции по п.19 для лечения анемии.

21. Применение по п.20, где анемия представляет собой дизэритропоэтическую анемию или гемолитическую анемию.

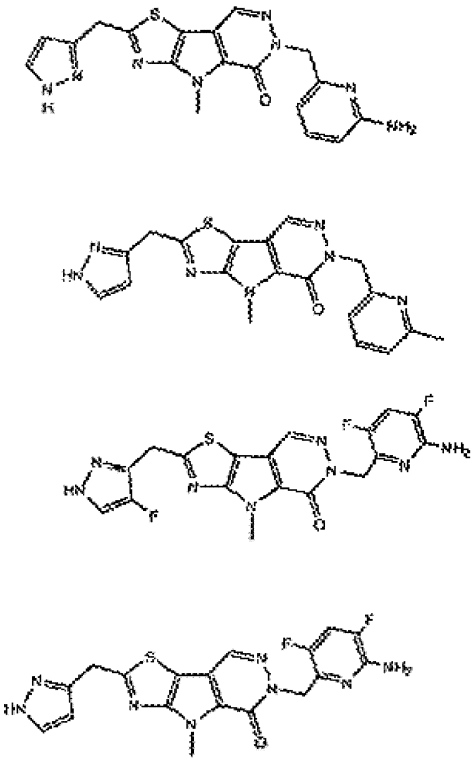
22. Применение по п.21, где гемолитическая анемия представляет собой наследственную и/или врожденную гемолитическую анемию, приобретенную гемолитическую анемию или анемию, являющуюся составляющей мультисистемного заболевания.

23. Применение (1) соединения по любому из пп.1-18 или его фармацевтически приемлемой соли или (2) фармацевтической композиции по п.19 для лечения дефицита пируваткиназы (PKD).

24. Применение (1) соединения по любому из пп.1-18 или его фармацевтически приемлемой соли или (2) фармацевтической композиции по п.19 для лечения талассемии.

25. Применение по п.24, где талассемия представляет собой бета-талассемию.

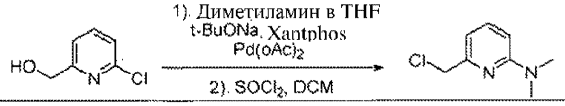
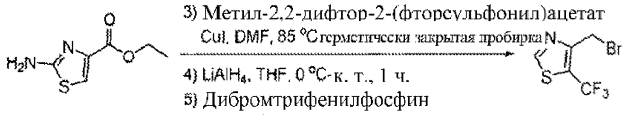
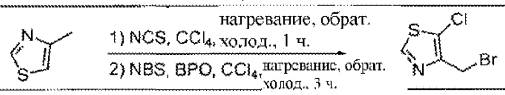
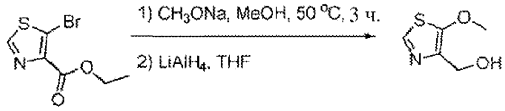
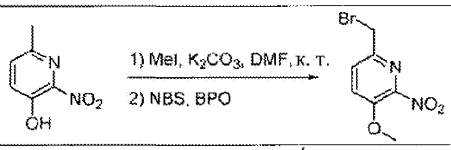
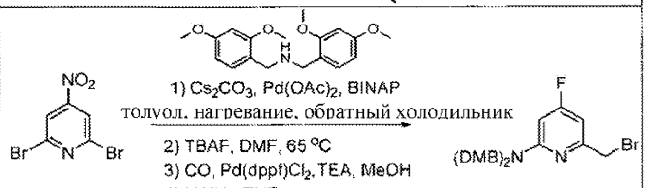
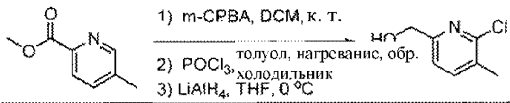
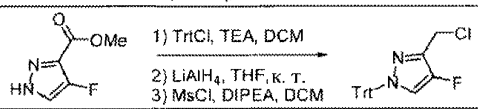
26. Применение (1) соединения по любому из пп.1-18 или его фармацевтически приемлемой соли или (2) фармацевтической композиции по п.19 для лечения серповидноклеточной анемии.

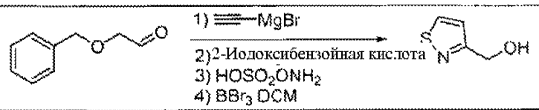
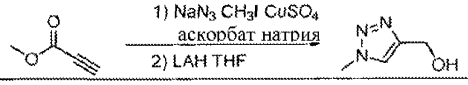
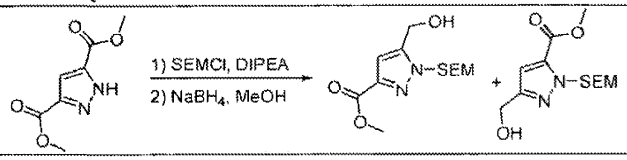
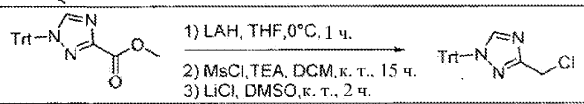
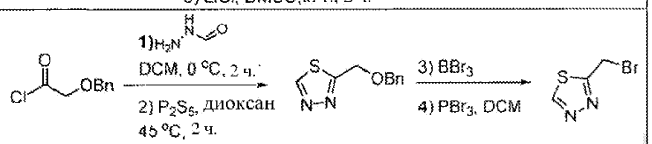
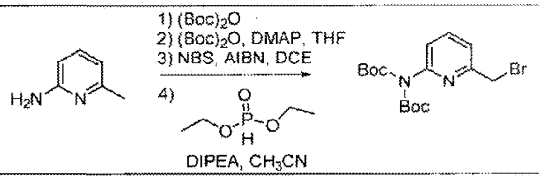
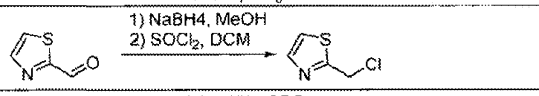
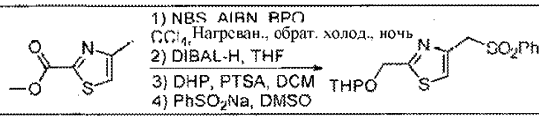
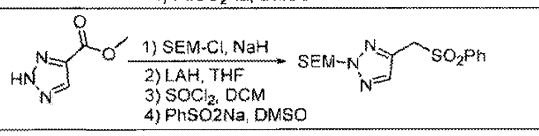


Фиг. 1

Таблица промежуточных соединений, применяемых в примерах 1-10

Сосд. в примерах	Синтез промежуточных соединений
E7-7	1) DMF-DMA, DCM,к. т. Py, EtOH, к. т. 2) $NaBH_4$ 3) CBr_4,PPh_3, DCM
E7-8	1) TsOH,толуол MW,150°C, 1 ч. 2) $LiAlH_4$,THF 3) NCS, PPh_3
E7-9	$SOCl_2$, $CHCl_3$
E7-10	1) TrtCl,NaH,THF 2) LiAlH4,THF 3) CBr_4, PPh_3, DCM
E7-12	1) NBS, AIBN, BPO, CCl_4, Обрат. холодильник, ночь 2) DIBAL-H, THF 3) DHP, PTSA, DCM
E7-15	1) $(Boc)_2O$, DMAP THF, к. т., 12 ч. 2) NBS, AIBN, CCl_4 80°C, 14 ч.
E7-17	1). $NaBH_4$,$CaCl_2$ THF/H_2O 2). NCS,PPh_3 DCM
E7-19	1). NH_2OHHCl, DMSO, 90 °C, 1,5 ч 2). NBS, AIBN CCl_4, 80°C, 16 ч.
E7-21	1). LAH, THF,0 °C 2). DCM

E7-22	
E7-23	
E7-24	
E7-25	
E7-27	
E7-28	
E7-29	
E7-30	

E7-41	
E7-43	
E7-46	
E7-55	
E7-56	
E8-4	
E8-11	
E8-18	
E8-23	

E8-27, E8-28, E8-37, E8-38	1). $(Boc)_2O$DCM, TEA, DMAP, к. т. 2). N-Фторбензолсульфонимид n-BuLi, THF 3). NCS, BPO, 80 °C, 2 ч.
E8-27, E8-28, E8-32, E8-40	1) SEM-Cl, NaH,THF, 0°C, 2 ч. 2) LAH, THF, 0°C, 1 ч. 3) $SOCl_2$,DCM, 0°C, 1 ч.
E8-30	1) LAH, THF 2) $SOCl_2$,DCM, к. т., 1 ч.
E8-31	1) TsOH,толуол MW,150°C,1 ч 2) $LiAlH_4$, THF 3) Дибромтрифенилфосфин THF,к. т., 1 ч.
E8-32 E8-33	1) NCS, CCl_4,нагревание, обрат. холод., 1 ч. 2) NBS, BPO, CCl_4нагревание, обрат. холод., 3 ч.
E8-36	$NaBH_4$, MeOH, к. т.
E8-52	1) $(Boc)_2O$, 60 °C 2) MeI,NaH, DMF 3) NBS,AIBN, CCl_4 4) DMSO, $PhSO_2Na$
E8-53	1) $(Boc)_2O$ 2) NBS,AIBN

Фиг. 2