(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента

2023.11.17

(21) Номер заявки

202191519

(22) Дата подачи заявки

2019.12.06

(51) Int. Cl. C07D 413/12 (2006.01) C07D 413/14 (2006.01) A61K 31/513 (2006.01) A61K 31/551 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)

(54) МОДУЛЯТОРЫ TREX1

(31) 62/776,031

(32) 2018.12.06

(33) US

(43) 2021.10.27

(86) PCT/US2019/064825

(87) WO 2020/118133 2020.06.11

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
КОНСТЕЛЛЕЙШЕН
ФАРМАСЬЮТИКАЛС, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:

Гардберг Анна, Гелинг Виктор С., Кханна Авинаш, Левелл Джулиан Р., Уилсон Джонатан Е., Таверас Кеннеди (US)

(74) Представитель:

Костюшенкова М.Ю., Угрюмов В.М., Строкова О.В., Гизатуллин Ш.Ф., Гизатуллина Е.М., Джермакян Р.В., Христофоров А.А., Парамонова К.В. (RU) **(56)** MARINA BRUCET ET AL.: "Structural and biochemical studies of TREX1 inhibition by metals. Identification of a new active histidine conserved in DEDDh exonucleases", PROTEIN SCIENCE, vol. 17, no. 12, 1 December 2008 (2008-12-01), pages 2059-2069, XP55668560, US, ISSN: 0961-8368, DOI: 10.1110/ps.036426.108, the whole document

(57) Предложены соединения формулы (I)

$$\begin{array}{cccc}
O-N \\
R^1 \\
O & NH
\end{array}$$

$$\begin{array}{cccc}
O+N \\
O+N$$

и их фармацевтически приемлемые соли и композиции, которые пригодны для лечения различных патологических состояний, связанных с TREX1.

Родственные заявки

В настоящей заявке заявлен приоритет по предварительной заявке на патент США № 62/776301, поданной 6 декабря 2018 г., полное содержание которой включено в данный документ посредством ссылки.

Уровень техники

Для лечения раковых заболеваний, связанных с распознаванием врожденной иммунной системой чужеродных элементов, а также для обнаружения и защиты от потенциальной опасности, необходима эффективная иммунотерапия. Раковые клетки антигенно отличаются от своих нормальных аналогов и испускают сигналы опасности, чтобы предупредить иммунную систему, подобно вирусной инфекции. Такие сигналы, которые включают молекулярные паттерны, ассоциированные с повреждением (DAMP), и патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (PAMP), дополнительно активируют врожденную иммунную систему, что приводит к защите хозяина от множества угроз (Front. Cell Infect. Microbiol. 2012, 2, 168).

Эктопически экспрессируемая одноцепочечная ДНК (оцДНК) и двухцепочечная ДНК (дцДНК) являются известными РАМР и/или DAMP, которые распознаются циклической ГМФ-АФМ-синтазой (сGAS), сенсором нуклеиновых кислот (Nature 2011, 478, 515-518). При обнаружении цитозольной ДНК сGAS катализирует образование циклического динуклеотида 2',3'-цГАМФ, мощного вторичного мессенджера и активатора трансмембранного адаптивного белка ER, стимулятора генов интерферона (STING) (Cell Rep. 2013, 3, 1355-1361). Активация STING запускает фосфорилирование IRF3 через ТВК1, что, в свою очередь, приводит к выработке интерферона I типа и активации генов, стимулированных интерфероном (ISG); необходимое условие для активации врожденного иммунитета и активации адаптивного иммунитета. Таким образом, выработка интерферонов I типа представляет собой ключевой мост между врожденным и адаптивным иммунитетом (Science 2013, 341, 903-906). Избыток IFN типа I может быть вредным для хозяина и вызывать аутоиммунитет, поэтому существуют механизмы отрицательной обратной связи, которые контролируют активацию иммунитета, опосредованную IFN типа I. Экзонуклеаза три штрих репарации I (TREX1) представляет собой 3'-5' ДНК-экзонуклеазу, отвечающую за удаление эктопически экспрессируемой оцДНК и дцДНК, и, следовательно, является ключевым репрессором пути сGAS/STING (PNAS 2015, 112, 5117-5122).

Интерфероны I типа и ответные реакции провоспалительных цитокинов имеют решающее значение для развития иммунных ответов и их эффективности. Интерфероны І типа усиливают и способность дендритных клеток и макрофагов захватывать, процессировать, презентировать и перекрестно презентировать антигены к Т-клеткам, и их способность стимулировать Т-клетки, вызывая повышающую регуляцию костимулирующих молекул, таких как CD40, CD80 и CD86 (J. Exp. Med. 2011, 208, 2005-2016). Интерфероны І типа также связывают свои собственные рецепторы и активируют чувствительные к интерферону гены, которые способствуют активации клеток, участвующих в адаптивном иммунитете (ЕМВО Rep. 2015, 16, 202-212). С терапевтической точки зрения интерфероны I типа и соединения, которые могут индуцировать выработку интерферона І типа, имеют потенциал для использования при лечении рака человека (Nat. Rev Immunol. 2015, 15, 405-414). Интерфероны могут напрямую подавлять пролиферацию опухолевых клеток у человека. Кроме того, интерфероны І типа могут усиливать противоопухолевый иммунитет, запуская активацию клеток как врожденной, так и адаптивной иммунной системы. Важно отметить, что для противоопухолевой активности блокады PD-1 требуются уже существующие внутриопухолевые Т-клетки. Превращая "холодные" опухоли в "горячие" и тем самым вызывая спонтанный противоопухолевый иммунитет, терапия, индуцирующая IFN I типа, может расширить круг пациентов, восприимчивых к терапии с применением анти-PD-1, а также повысить эффективность анти-PD-1 терапии.

Разрабатываемые в настоящее время методы лечения, вызывающие мощный ответ интерферона I типа, требуют фокального или внутриопухолевого введения для достижения приемлемого терапевтического индекса. Таким образом, сохраняется потребность в новых агентах с системной доставкой и меньшей токсичностью для расширения преимуществ терапии, индуцирующей IFN I типа, для пациентов без поражений, доступных для периферического лечения. Генетические исследования на людях и мышах позволяют предположить, что ингибирование TREX1 может быть пригодно для системного способа доставки, и поэтому соединения, ингибирующие TREX1, могут играть важную роль в области противоопухолевой терапии. TREX1 является ключевым детерминантом ограниченной иммуногенности раковых клеток, восприимчивых к лучевой терапии [Trends in Cell Biol., 2017, 27 (8), 543-4; Nature Commun., 2017, 8, 15618]. TREX1 индуцируется генотоксическим стрессом и участвует в защите клеток глиомы и меланомы от противоопухолевых препаратов [Віосніть. Віорнуз. Аста, 2013, 1833, 1832-43]. Терапия STACT-TREX1 демонстрирует устойчивую противоопухолевую эффективность во многих моделях рака у мышей [Glickman et al, Poster P235, 33^e ежегодное собрание Общества иммунотерапии рака, Вашингтон, округ Колумбия, 7-11 ноября, 2018].

Сущность изобретения

Варианты реализации, описанные в данном документе, относятся, в целом, к агентам, соединениям, композициям и способам лечения заболеваний, восприимчивых к ингибиторам TREX1. Согласно данному изобретению были успешно синтезированы ингибиторы TREX1, селективные по сравнению с ингибиторами TREX2. В данном документе предложены соединения, имеющие формулу I:

$$\begin{array}{cccc}
O-N \\
PR^1 \\
O & NH
\end{array}$$

$$\begin{array}{cccc}
O-N \\
R^1 \\
O & NH
\end{array}$$

$$\begin{array}{cccc}
O-N \\
R^1 \\
O & NH
\end{array}$$

$$\begin{array}{ccccc}
O+N \\
O+$$

и их фармацевтически приемлемые соли и композиции, где A, R^1, R^2 и n являются такими, как описано в данном документе.

Описанные соединения и композиции модулируют TREX1 и являются пригодными в различных терапевтических областях применения, таких как, например, лечение рака.

Краткое описание графических материалов

На фиг. 1A представлены результаты эксперимента по нокдауну TREX1 в опухолевых клетках B16F10 с применением CRISPR.

На фиг. 1В показано, что TREX1 ослабляет активацию каскада cGAS/STING в опухолевых клетках B16F10.

На фиг. 2 показано, что опухоли, в которых выключен TREX, имеют меньший объем по сравнению с родительскими опухолями B16F10

На фиг. 3 показано, что нокаутные по TREX1 опухоли B16F10 демонстрируют существенное увеличение общего количества иммунных клеток. Это отражает увеличение количества инфильтрующих опухоль T-клеток CD4 и CD8, а также плазмацитоидных дендритных клеток (pDC).

На фиг. 4 показана активность некоторых соединений по данному изобретению в клеточной линии колоректальной карциномы человека HCT116.

Подробное описание изобретения

1. Общее описание соединений.

В первом варианте реализации в данном документе предложено соединение формулы І:

или его фармацевтически приемлемая соль, где

 R^1 представляет собой водород, (C_1 - C_4)алкил, галоген(C_1 - C_4)алкил, 3-4-членный циклоалкил, - OR^f , - SR^f или - NR^eR^f ;

 R^2 представляет собой водород, (C_1 - C_4)алкил, галоген(C_1 - C_4)алкил или 3-4-членный циклоалкил;

Х представляет собой связь, NR^3 , O, S или (C_1 - C_4)алкилен, причем указанный (C_1 - C_4)алкилен необязательно замещен 1-2 группами, выбранными из R^4 ;

 R^3 представляет собой водород, (C1-C4)алкил, -C(O) R^d или -C(S) R^d ;

 R^4 представляет собой галоген, (C_1-C_4) алкил, фенил, -NHC(O)OR^a, -NHC(S)OR^a, -C(O)R^b, -NHC(O)NHR^g, -NHC(S)NHR^g, -NHS(O)₂NHR^g, -C(S)R^b, S(O)₂R^c, S(O)R^c, -C(O)OR^d, -C(S)OR^d, -C(O)NHR^e, -C(S)NHR^e, -NHC(O)R^d, -NHC(S)R^d, -OR^e, -SR^e, -O(C_1-C_4)алкил-OR^e или -NR^eR^f, причем указанный фенил для R^4 необязательно замещен 1 или 2 группами, выбранными из галогена, (C_1-C_4) алкила, галоген (C_1-C_4) алкокси и галоген (C_1-C_4) алкокси;

кольцо А представляет собой фенил, 5-6-членный гетероарил, 4-7-членный гетероциклил или 3-7-членный циклоалкил, каждый из которых необязательно и независимо замещен 1 или 2 группами, выбранными из R^5 ;

 R^5 представляет собой (C_1 - C_4)алкил, галоген(C_1 - C_4)алкил, галоген(C_1 - C_4)алкокси, галоген, фенил, -NHC(O)OR a , -NHC(S)OR a , -C(O)R b , -NHC(O)NHR g , -NHC(S)NHR g , -NHS(O) $_2$ NHR g , -C(S)R b , S(O) $_2$ R c , S(O)R c , -C(O)OR d , -C(S)OR d , -C(O)NR e R f , -C(S)NHR e , -NHC(O)R d , -NHC(S)R d , -OR e , -SR e , -O(C_1 - C_4)алкил-OR e , -NR e R f , 4-6-членный гетероарил или 4-7-членный гетероциклил, причем указанный фенил для R 5 необязательно замещен 1 или 2 группами, выбранными из R g , указанный (C_1 - C_4)алкил для R 5 необязательно замещен 1 или 2 группами, выбранными из OR h , -NR j R k , фенила и 5-6-членного гетероарила, каждый указанный 4-7-членный гетероциклил и 4-6-членный гетероарил необязательно и независимо замещен 1 или 2 группами, выбранными из R m , и при этом каждый указанный фенил и 5-6-членный гетероарил необязательных заместителей, перечисленных для (C_1 - C_4)алкила в R 5 , необязательно и независимо

замещен 1 или 2 группами, выбранными из R^g;

 R^g , R^h , R^j , R^k и R^m , каждый независимо, представляют собой водород, галоген, $(C_1\text{-}C_4)$ алкил, галоген $(C_1\text{-}C_4)$ алкил, $(C_1\text{-}C_4)$ алкокси, галоген $(C_1\text{-}C_4)$ алкокси, фенил, $-(C_1\text{-}C_4)$ алкилфенил, 3-4-членный циклоалкил, 4-6-членный гетероарил или 4-7-членный гетероциклил, и при этом указанный 4-7-членный гетероциклил для R^g , R^h , R^j и R^k дополнительно необязательно замещен группой =O;

 R^a , R^b , R^c , R^d , R^e и R^f , каждый независимо, представляют собой водород, галоген, (C_1-C_4) алкил, галоген(C_1-C_4)алкил, (C_1-C_4) алкил, (C_1-C_4) алкокси, галоген((C_1-C_4) алкокси, фенил, 3-4-членный циклоалкил, 4-6-членный гетероарил или 4-7-членный гетероциклил, причем і) указанный ((C_1-C_4) алкил для (C_1-C_4) алкил, 4-6-членный гетероарил и 4-7-членный гетероциклил для (C_1-C_4) алкил, галоген, (C_1-C_4) алки

2. Определения.

При использовании в отношении описания химической группы, которая может иметь несколько точек присоединения, дефис (-) означает точку присоединения указанной группы к переменной, для которой он указан. Например, -NHC(O)OR a и -NHC(S)OR a означает, что точка присоединения указанной группы находится у атома азота. Термины "гало" и "галоген" относятся к атому, выбранному из фтора (фтор, -F), хлора (хлор, -Cl), брома (бром, -Br) и йода (йод, -I).

Термин "алкил", используемый отдельно или как часть более крупного фрагмента, такого как "галогеналкил" и т.п., означает насыщенный неразветвленный или разветвленный одновалентный углеводородный радикал. Если не указано иное, алкильная группа обычно содержит 1-4 атома углерода, т.е. (C_1 - C_4)алкил.

Термин "алкилен" относится к двухвалентному насыщенному углеводороду. "Алкокси" означает алкильный радикал, присоединенный через связывающий атом кислорода, представленный формулой -О-алкил. Например, " (C_1-C_4) алкокси" включает метокси, этокси, пропокси и бутокси.

Термин "галогеналкил" включает моно, поли- и пергалогеналкильные группы, в которых галоген независимо выбран из фтора, хлора, брома и йода.

"Галогеналкокси" представляет собой галогеналкильную группу, которая присоединена к другому фрагменту через атом кислорода, такую как, например, но не ограничиваясь ими, -OCHCF₂ или -OCF₃.

Термин "гетероарил", используемый отдельно или как часть более крупного фрагмента, относится к 5-6-членному ароматическому радикалу, содержащему 1-4 гетероатома, выбранных из N, O и S. Гетероарил включает, например, тиенил, фуранил, пирролил, имидазолил, пиразолил, триазолил, оксазолил, оксазолил, оксадиазолил, тиазолил, изотиазолил, тиадиазолил, пиридил, пиридазинил, пиримидинил, пиразинил и т.д. Следует понимать, что при наличии указания необязательные заместители в гетероарильной группе могут присутствовать в любом положении, подходящем для замещения.

Термин "гетероциклил" означает 4-7-членное насыщенное или частично ненасыщенное гетероциклическое кольцо, содержащее от 1 до 4 гетероатомов, независимо выбранных из N, O и S. Гетероциклильное кольцо может быть присоединено к его боковой группе через любой гетероатом или атом углерода, если в результате образуется стабильная структура. Примеры таких насыщенных или частично ненасыщенных гетероциклических радикалов включают, без ограничения, тетрагидрофуранил, тетрагидротиенил, тетрагидропиранил, пирролидинил, пирролидонил, пиперидинил, оксазолидинил, пиперазинил, диоксанил, диоксоланил, морфолинил, дигидрофуранил, дигидропиранил, дигидропиримидинил. Следует понимать, что при наличии указания необязательные заместители в гетероциклильной группе могут присутствовать в любом положении, подходящем для замещения, и включают, например, положение, в котором присоединен указанный гетероциклил (например, в случае необязательно замещенного гетероциклила или гетероциклила, который является необязательно замещенным).

Термин "циклоалкил" относится к циклическому углеводороду, содержащему, если не указано иное, от 3 до 10 кольцевых атомов углерода. Моноциклические циклоалкильные группы включают, без ограничения, циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклопентенил, циклогексил, циклогексенил, циклогептил, циклогептил, циклогептенил и циклооктил. Следует понимать, что при наличии указания необязательные заместители в циклоалкильной или циклоалифатической группе могут присутствовать в любом положении, подходящем для замещения, и включают, например, положение, в котором присоединен указанный циклоалкил или циклоалифатическая группа.

Термин "TREX1" относится к экзонуклеазе три штрих репарации 1 или к экзонуклеазе репарации ДНК 1, которая представляет собой фермент, который у людей кодируется геном TREX1. Mazur DJ, Perrino FW (август 1999). "Identification and expression of the TREX1 and TREX2 cDNA sequences encoding mammalian 3'->5' exonucleases". JBiol Chem. 274 (28): 19655-60. doi:10.1074/jbc.274.28.19655. PMID 10391904; Hoss M, Robins P, Naven TJ, Pappin DJ, Sgouros J, Lindahl T (август 1999). "A human DNA editing enzyme homologous to the Escherichia coli DnaQ/MutD protein". EMBO J. 18 (13): 3868-75. doi:10.1093/emboj/18.13.3868. PMC 1171463. PMID 10393201. Указанный ген кодирует главную 3'->5' экзонуклеазу ДНК в клетках человека. Указанный белок представляет собой непроцессивную экзонук-

леазу, которая может выполнять функцию коррекции ДНК-полимеразы человека. Он также является компонентом комплекса SET и действует, быстро разрушая 3'-концы разорванной ДНК во время гибели клетки, опосредованной гранзимом А. Клетки, лишенные функционального TREX1, демонстрируют активацию контрольной точки хронического повреждения ДНК и внеядерное накопление эндогенного одноцепочечного ДНК-субстрата. По-видимому, белок TREX1 обычно действует на одноцепочечные полинуклеотиды ДНК, образованные в результате процессинга промежуточных продуктов аберрантной репликации. Такое действие TREX1 ослабляет передачу сигналов контрольной точки повреждения ДНК и предотвращает патологическую иммунную активацию. TREX1 метаболизирует обратно транскрибируемую одноцепочечную ДНК эндогенных ретроэлементов в зависимости от присущего клетке антивирусного надзора, что приводит к мощному ответу IFN I типа. TREX1 способствует уклонению ВИЧ-1 от цитозольного зондирования посредством разрушения вирусной кДНК в цитоплазме.

Термин "TREX2" относится к экзонуклеазе три штрих репарации 2, которая представляет собой фермент, который у людей кодируется геном TREX2. Указанный ген кодирует ядерный белок с экзонуклеазной активностью от 3' к 5'. Кодируемый белок участвует в репарации двухцепочечных разрывов ДНК и может взаимодействовать с дельта-ДНК-полимеразой. Ферменты с такой активностью участвуют в репликации, репарации и рекомбинации ДНК. TREX2 представляет собой 3'-экзонуклеазу, которая преимущественно экспрессируется в кератиноцитах и вносит вклад в эпидермальный ответ на повреждение ДНК, вызванное УФ-В. Биохимические и структурные свойства TREX2 аналогичны TREX1, хотя и не идентичны. Указанные два белка имеют одинаковую димерную структуру и могут процессировать субстраты оцДНК и дцДНК in vitro с почти идентичными значениями k_{cat} . Однако некоторые особенности, связанные с кинетикой фермента, структурными доменами и субклеточным распределением, отличают TREX2 от TREX1. TREX2 имеет сродство к ДНК-субстратам in vitro в 10 раз меньше, чем TREX1. В отличие от TREX1, в TREX2 отсутствует СООН-концевой домен, который может опосредовать межбелковые взаимодействия. TREX2 локализуется как в цитоплазме, так и в ядре, тогда как TREX1 обнаруживается в эндоплазматическом ретикулуме и мобилизуется в ядро во время опосредованной гранзимом А гибели клеток или после повреждения ДНК.

Термины "субъект" и "пациент" могут быть использованы взаимозаменяемо и означают млекопитающее, нуждающееся в лечении, например, домашних животных (например, собак, кошек и т.п.), сельскохозяйственных животных (например, коров, свиней, лошадей, овец, коз и т.п.) и лабораторных животных (например, крыс, мышей, морских свинок и т.п.). Обычно субъектом является человек, нуждающийся в лечении. Термин "ингибировать", "ингибирование" или "ингибирует" включает снижение исходного уровня биологической активности или процесса. В данном контексте термины "лечит", "лечить" и "лечение" относятся к реверсированию, облегчению, отсрочке возникновения или замедлению прогрессирования заболевания или расстройства, или одного или более его симптомов, как описано в данном документе. В некоторых аспектах лечение можно осуществлять после проявления одного или более симптомов, т.е. терапевтическое лечение. В других аспектах лечение можно осуществлять в отсутствие симптомов. Например, лечение может быть назначено восприимчивому индивиду до появления симптомов (например, с учетом анамнеза симптомов и/или с учетом воздействия на конкретный организм или других факторов восприимчивости), т.е. профилактическое лечение. Лечение также можно продолжать после устранения симптомов, например, для отсрочки их рецидива. Термин "фармацевтически приемлемый носитель" относится к нетоксичному носителю, адъюванту или среде, которые не ухудшают фармакологическую активность соединения, с которым они составлены в композицию. Фармацевтически приемлемые носители, адъюванты или среды, которые можно использовать в композициях, описанных в данном документе, включают, но не ограничиваются ими, ионообменники, оксид алюминия, стеарат алюминия, лецитин, белки сыворотки, такие как альбумин сыворотки человека, буферные вещества, такие как фосфаты, глицин, сорбиновая кислота, сорбат калия, смеси неполных глицеридов насыщенных растительных жирных кислот, воду, соли или электролиты, такие как сульфат протамина, гидрофосфат динатрия, гидрофосфат калия, хлорид натрия, соли цинка, коллоидный диоксид кремния, трисиликат магния, поливинилпирролидон, вещества на основе целлюлозы, полиэтиленгликоль, карбоксиметилцеллюлозу натрия, полиакрилаты, воски, полиэтилен-полиоксипропиленовые блок-полимеры, полиэтиленгликоль и ланолин. Для применения в медицине соли соединений, описанных в данном документе, относятся к нетоксичным "фармацевтически приемлемым солям". Формы фармацевтически приемлемых солей включают фармацевтически приемлемые кислотные/анионные или основные/катионные соли. Пригодные фармацевтически приемлемые кислотно-аддитивные соли соединений, описанных в данном документе, включают, например, соли неорганических кислот (таких как хлористоводородная кислота, бромистоводородная, фосфорная, азотная и серная кислота) и органических кислот (таких как уксусная кислота, бензолсульфоновая, бензойная, метансульфоновая и п-толуолсульфоновые кислоты). Соединения по данному описанию с кислотными группами, такие как карбоновые кислоты, могут образовывать фармацевтически приемлемые соли с фармацевтически приемлемым основанием(ями). Пригодные фармацевтически приемлемые соли оснований включают, например, соли аммония, соли щелочных металлов (такие как соли натрия и калия) и соли щелочноземельных металлов (такие как соли магния и кальция). Соединения с четвертичной аммониевой группой также содержат противоион, такой как хлорид, бромид, йодид, ацетат, перхлорат и т.п. Другие примеры таких солей включают гидрохлориды, гидробромиды, сульфаты, метансульфонаты, нитраты, бензоаты и соли с аминокислотами, такими как глутаминовая кислота.

Термин "эффективное количество" или "терапевтически эффективное количество" относится к количеству соединения, описанного в данном документе, которое вызывает требуемый или преимущественный биологический или медицинский ответ у субъекта, например, к дозе от 0,01 до 100 мг/кг массы тела в сутки.

3. Соединения.

Во втором варианте реализации в данном документе предложено соединение формулы ІІ:

или его фармацевтически приемлемая соль, где переменные являются такими, как описано выше в первом варианте реализации.

В третьем варианте реализации R^2 представляет собой (C_1 - C_4)алкил в соединениях формулы I или II.

В четвертом варианте реализации в данном документе предложено соединение формулы III:

или его фармацевтически приемлемая соль, где переменные являются такими, как описано выше в первом, втором или третьем варианте реализации.

В пятом варианте реализации кольцо A в соединениях формулы I, II или III представляет собой фенил, пиридил, пиразолил, циклопропил, циклобутил, азетидинил или пиперидинил, каждый из которых необязательно и независимо замещен одним или двумя R^5 , причем остальные переменные являются такими, как описано выше для первого, второго, третьего или четвертого варианта реализации. Альтернативно, в составе пятого варианта реализации, кольцо A в соединениях формулы I, II или III представляет собой триазолил, пирролидинил, диазепанил или пиперазинил, каждый из которых необязательно и независимо замещен одним или двумя R^5 , причем остальные переменные являются такими, как описано выше для первого, второго, третьего или четвертого варианта реализации.

В шестом варианте реализации R⁵ в соединениях формулы I, II или III представляет собой (C₁- C_4)алкил, галоген (C_1-C_4) алкил, галоген (C_1-C_4) алкокси, галоген, фенил, -NHC(O)OR^a, -C(O)R^b, S(O)₂R^c, $S(O)R^c$, $-C(O)OR^d$, $-C(O)NR^eR^f$, $-NHC(O)R^d$, $-OR^e$, $-O(C_1-C_4)$ алкил $-OR^e$, $-NR^eR^f$, 4-6-членный гетероарил или 4-7-членный гетероциклил, причем указанный фенил для R⁵ необязательно замещен 1 или 2 группами, выбранными из \hat{R}^g , указанный (C_1 - C_4)алкил для R^5 необязательно замещен 1 или 2 группами, выбранными из -OR^h, -NR^jR^k, фенила и 5-6-членного гетероарила, каждый указанный 4-6-членный гетероарил и 4-7-членный гетероциклил необязательно и независимо замещен 1 или 2 группами, выбранными из R^m, и при этом каждый указанный фенил и 5-6-членный гетероарил необязательных заместителей, перечисленных для (C_1-C_4) алкила в \mathbb{R}^5 , необязательно и независимо замещен 1 или 2 группами, выбранными из R^g ; R^a представляет собой (C_1 - C_4)алкил, необязательно замещенный фенилом; R^b представляет собой (C_1-C_4) алкил, фенил, 5-6-членный гетероарил или 4-7-членный гетероциклил, причем указанный (C_1-C_4) алкил, фенил, 5-6-членный гетероарил или 4-7-членный гетероциклил, причем указанный (C_1-C_4) алкил, фенил, 5-6-членный гетероарил или 4-7-членный гетероар С₄)алкил необязательно замещен 1 или 2 группами, выбранными из фенила, -OR^h и -NR^JR^k, причем каждый указанный фенил, 5-6-членный гетероарил и 4-7-членный гетероциклил необязательно и независимо замещен 1 или 2 группами, выбранными из R^g, и при этом указанный 4-7-членный гетероциклил дополнительно необязательно замещен группой =0; каждый R^c независимо представляет собой фенил или (C_1 - C_4)алкил; каждый R^d представляет собой водород или (C_1 - C_4)алкил; каждый R^e независимо представляет собой водород или (C_1-C_4) алкил, необязательно замещенный группой OR^h ; каждый R^f независимо представляет собой водород, (С1-С4)алкил, фенил, 3-4-членный циклоалкил, 4-6-членный гетероарил или 5-6членный гетероциклил, причем каждый указанный фенил, 3-4-членный циклоалкил, 4-6-членный гетероарил и 5-6-членный гетероциклил необязательно и независимо замещен группой R^g; каждый R^g независимо представляет собой (C_1-C_4) алкил, галоген (C_1-C_4) алкил, (C_1-C_4) алкокси, галоген (C_1-C_4) алкокси или галоген; каждый R^h представляет собой водород, (C_1-C_4) алкил или $-(C_1-C_4)$ алкилфенил; каждый R^J независимо представляет собой водород или (C_1-C_4) алкил; каждый R^k независимо представляет собой водород, $(C_1$ - $C_4)$ алкил или 3-4-членный циклоалкил; и каждый R^m представляет собой $(C_1$ - $C_4)$ алкил, причем остальные переменные являются такими, как описано выше для первого, второго, третьего, четвертого или пятого варианта реализации.

В седьмом варианте реализации R⁵ в соединениях формулы I, II или III представляет собой (C₁- C_4)алкил, галоген (C_1-C_4) алкил, галоген, фенил, -NHC(O)OR a , -C(O)R b , S(O) $_2$ R c , -C(O)OR d , -C(O)NR e R f , $-NHC(O)R^d$, $-O(C_1-C_4)$ алкил $-OR^e$, $-NR^eR^f$, 4-6-членный гетероарил или 5-6-членный гетероциклил, причем указанный (C_1 - C_4)алкил для R^5 необязательно замещен группой - OR^h , фенилом или 5-6-членным гетероарилом, каждый указанный 4-6-членный гетероарил и 5-6-членный гетероциклил необязательно и независимо замещен 1 или 2 группами, выбранными из R^m, и при этом каждый указанный фенил и 5-6членный гетероарил необязательных заместителей, перечисленных для (C_1-C_4) алкила в R^3 , необязательно и независимо замещен 1 или 2 группами, выбранными из R^g, причем остальные переменные являются такими, как описано выше для первого, второго, третьего, четвертого, пятого или шестого варианта реализации. В восьмом варианте реализации R⁵ в соединениях формулы I, II или III представляет собой (C₁- C_4)алкил, галоген (C_1-C_4) алкил, галоген, фенил, -NHC(O)OR a , -C(O)R b , S $(O)_2$ R c , -C(O)OR d , -C(O)NR e R f , $-NHC(O)R^d$ или $-O(C_1-C_4)$ алкил $-OR^e$, $-NR^{\bar{e}}R^f$, морфолинил, пиперазинил или пиразолил, причем каждый указанный морфолинил, пиперазинил и пиразолил необязательно замещен 1 или 2 группами, выбранными из R^m , указанный (C_1 - C_4)алкил для R^5 необязательно замещен группой - OR^h , фенилом, пиразолилом, пиримидинилом или пиридинилом, и при этом каждый указанный фенил, пиразолил, пиримидинил и пиридинил необязательных заместителей, перечисленных для (C_1-C_4) алкила в \mathbb{R}^5 , необязательно и независимо замещен 1 или 2 группами, выбранными из R^g, причем остальные переменные являются такими, как описано выше для первого, второго, третьего, четвертого, пятого, шестого или седьмого варианта реализации. В девятом варианте реализации каждый R^f в соединениях формулы I, II или III независимо представляет собой водород, (C_1-C_4) алкил, фенил, пиразолил, пиридинил, тетрагидропиранил, пиперидинил, причем каждый указанный фенил, пиразолил, пиридинил, тетрагидропиранил и пиперидинил необязательно и независимо замещен (С1-С4)алкилом, причем остальные переменные являются такими, как описано выше для первого, второго, третьего, четвертого, пятого, шестого, седьмого или восьмого вари-

В десятом варианте реализации каждый R^g в соединениях формулы I, II или III независимо представляет собой (C_1 - C_4)алкил, (C_1 - C_4)алкокси или галоген, причем остальные переменные являются такими, как описано выше для первого, второго, третьего, четвертого, пятого, шестого, седьмого, восьмого или девятого варианта реализации.

В одиннадцатом варианте реализации R^b в соединениях формулы I, II или III представляет собой $(C_1\text{-}C_4)$ алкил, фенил, 5-6-членный гетероарил или 4-7-членный гетероциклил, причем каждый указанный фенил и 5-6-членный гетероарил для R^b необязательно и независимо замещен 1 или 2 группами, выбранными из галогена и $(C_1\text{-}C_4)$ алкокси, при этом указанный 4-7-членный гетероциклил для R^b необязательно замещен группой =O, и указанный $(C_1\text{-}C_4)$ алкил для R^b необязательно замещен 1 или 2 группами, выбранными из фенила, $-OR^b$ и $-NR^jR^k$, причем остальные переменные являются такими, как описано выше для первого, второго, третьего, четвертого, пятого, шестого, седьмого, восьмого, девятого или десятого варианта реализации.

В двенадцатом варианте реализации каждый R^k в соединениях формулы I, II или III независимо представляет собой водород или (C_1 - C_4)алкил, причем остальные переменные являются такими, как описано выше для первого, второго, третьего, четвертого, пятого, шестого, седьмого, восьмого, девятого, десятого или одиннадцатого варианта реализации.

В тринадцатом варианте реализации R^b в соединениях формулы I, II или III представляет собой (C_1 - C_4)алкил, фенил, пиридинил, пиразолил, пиримидинил или пиперидинил, причем каждый указанный фенил, пиридинил, пиразолил и пиримидинил для R^b необязательно и независимо замещен 1 или 2 группами, выбранными из галогена (C_1 - C_4)алкокси, причем указанный (C_1 - C_4)алкил для R^b необязательно замещен 1 или 2 группами, выбранными из фенила, ОН и NMe_2 , и при этом указанный пиперидинил для R^b необязательно замещен группой =O, причем остальные переменные являются такими, как описано выше для первого, второго, третьего, четвертого, пятого, шестого, седьмого, восьмого, девятого, десятого, одиннадцатого или двенадцатого варианта реализации. В четырнадцатом варианте реализации R^3 в соединениях формулы I, II или III представляет собой водород, причем остальные переменные являются такими, как описано выше для первого, второго, третьего, четвертого, пятого, шестого, седьмого, восьмого, девятого, одиннадцатого, двенадцатого или тринадцатого варианта реализации.

В пятнадцатом варианте реализации R^4 в соединениях формулы I, II или III представляет собой фенил или -NHC(O)OR a , причем остальные переменные являются такими, как описано выше для первого, второго, третьего, четвертого, пятого, шестого, седьмого, восьмого, девятого, десятого, одиннадцатого, двенадцатого, тринадцатого или четырнадцатого варианта реализации.

В шестнадцатом варианте реализации X в соединениях формулы I, II или III представляет собой связь или CH_2 , причем остальные переменные являются такими, как описано выше для первого, второго, третьего, четвертого, пятого, шестого, седьмого, восьмого, девятого, десятого, одиннадцатого, двенадцатого или тринадцатого варианта реализации.

В данном документе также предложены фармацевтические композиции, содержащие

1) соединение, имеющее формулу І:

или его фармацевтически приемлемую соль, где переменные являются такими, как описано выше для первого, второго, третьего, четвертого, пятого, шестого, седьмого, восьмого, девятого, десятого или одиннадцатого варианта реализации; и

2) фармацевтически приемлемый носитель.

Соединения, имеющие формулу I, дополнительно описаны в разделе "Примеры" и входят в объем данного описания. Включены также их фармацевтически приемлемые соли и нейтральные формы.

4. Применение, лекарственные формы и введение.

Соединения и композиции, описанные в данном документе, в целом, пригодны для модулирования активности TREX1. В некоторых аспектах соединения и фармацевтические композиции, описанные в данном документе, ингибируют активность TREX1.

В некоторых аспектах соединения и фармацевтические композиции, описанные в данном документе, пригодны для лечения расстройства, связанного с функцией TREX1.

Так, в данном документе предложены способы лечения расстройства, связанного с функцией TREX1, включающие введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества соединения, описанного в данном документе, или его фармацевтически приемлемой соли, или фармацевтической композиции, содержащей описанное соединение или его фармацевтически приемлемую соль. Также предложено применение соединения, описанного в данном документе, или его фармацевтически приемлемой соли, или фармацевтической композиции, содержащей описанное соединение или его фармацевтически приемлемую соль, для производства лекарственного средства для лечения расстройства, связанного с функцией TREX1. Также предложено соединение, описанное в данном документе, или его фармацевтически приемлемая соль, или фармацевтическая композиция, содержащая описанное соединение или его фармацевтически приемлемую соль, для применения для лечения расстройства, связанного с функцией TREX1.

В некоторых аспектах соединения и фармацевтические композиции, описанные в данном документе, пригодны для лечения рака.

В некоторых аспектах рак, которые лечат соединениями и фармацевтическими композициями, описанными в данном документе, выбран из рака толстой кишки, рака желудка, рака щитовидной железы, рака легких, лейкоза, рака поджелудочной железы, меланомы, множественной меланомы, рака головного мозга, рака ЦНС, рака почек, рака предстательной железы, рака яичников, лейкоза и рака молочной железы.

В некоторых аспектах рак, который лечат соединениями и фармацевтическими композициями, описанными в данном документе, выбран из рака легких, рака молочной железы, рака поджелудочной железы, рака толстой и прямой кишок и меланомы.

В некоторых аспектах фармацевтическая композиция, описанная в данном документе, составлена для введения пациенту, нуждающемуся в такой композиции.

Фармацевтические композиции, описанные в данном документе, можно вводить перорально, парентерально, ингаляцией спрея, локально, ректально, назально, буккально, вагинально или через имплантированный резервуар. Термин "парентеральный" в данном контексте включает подкожный, внутривенный, внутримышечный, внутрисуставный, интрасиновиальный, интрастернальный, интратекальный, внутрипеченочный, внутриочаговый и внутричерепной способ введения инъекций или инфузий. В некоторых вариантах реализации композиции вводят перорально, интраперитонеально или внутривенно. Стерильные формы для инъекций фармацевтических композиций, описанных в данном документе, могут быть водными или масляными суспензиями. Такие суспензии можно составлять в соответствии с технологиями, известными в данной области техники, с использованием пригодных диспергирующих или смачивающих агентов и суспендирующих агентов.

В некоторых аспектах фармацевтически композиции вводят перорально. Конкретная доза и схема лечения для любого конкретного пациента зависят от различных факторов, включая активность конкретного используемого соединения, возраст, массу тела, общее состояние здоровья, пол, рацион, время введения, скорость экскреции, комбинацию лекарств, решение лечащего врача и тяжесть конкретного заболевания, подлежащего лечению. Количество соединения, описанного в данном документе, в композиции также зависит также от конкретного соединения в данной фармацевтической композиции.

Примеры

Химический синтез.

Следующие иллюстративные примеры предназначены для облегчения иллюстрации данного описания, и они не предназначены и не должны толковаться в качестве ограничения объема данного изобретения

Общая схема синтеза

2-(3-бром-5-метилфенил)-5-гидрокси-N-(изоксазол-4-ил)-1-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксамид

Стадия 1: синтез метил-3-(3-бром-5-метилфенил)-5-(2-метокси-2-оксоэтил)-2-метил-2,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-5-карбоксилата

К перемешанному раствору исходного вещества (SM) $(5,16\ \Gamma,26,341\ \text{ммоль},2\ \text{экв.})$, гидрохлорида N-метилгидроксиламина $(1,10\ \Gamma,13,170\ \text{ммоль},1,00\ \text{экв.})$ в H_2O $(25,00\ \text{мл})$, EtOH $(25,00\ \text{мл})$ по частям добавляли Na_2CO_3 $(0,837\ \Gamma,7,902\ \text{ммоль},0,6\ \text{экв.})$ при комнатной температуре. Полученный раствор перемешивали в течение 2 часов при 80° С. После охлаждения реакционной смеси до комнатной температуры по каплям добавляли 1,4-диметилбут-2-индиоат $(2,06\ \Gamma,14,488\ \text{ммоль},1,1\ \text{экв.})$. Затем реакционную смесь перемешивали в течение 0,5 часа при комнатной температуре. Полученный раствор экстрагировали, используя 3×30 мл этилацетата, и объединенные органические слои промывали насыщенным солевым раствором и концентрировали под вакуумом. Остаток переносили в силикагелевую колонку, элюируя смесью этилацетат/петролейный эфир (1:5). В результате получали $1,3\ \Gamma$ A1 (выход 25%) в виде светло-желтого маслянистого вещества. ИЭР/МС $m/z=385,0\ [\text{M}+\text{H}]^+$. Рассчитанная MM: 384.0.

 1 Н ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ 7,67 (т, J=1,8 Гц, 1H), 7,49 (с, 2H), 3,86 (с, 3H), 3,73 (с, 3H), 3,45 (д, J=16,6 Гц, 1H), 3,19 (с, 3H), 3,07 (д, J=16,6 Гц, 1H), 2,38 (д, J=0,8 Гц, 3H).

Следующие промежуточные соединения синтезировали, используя такие же условия, как на стадии, описанной выше, с соответствующими исходными веществами.

Таблица 1

Convergence	Название	Промежуточ	ЖХМС
Структура	Пазвание		MANIC
		ное	
		соединение	
\ \	метил-3-циклобутил-5-(2-	A2	ИЭР/MC m/z =
	метокси-2-оксоэтил)-2-		271,1 [M+H]+.
) p-	метил-2,5-дигидро-1,2,4-		Рассчитанная
N-	оксадиазол-5-карбоксилат		MM: 270,1
	2 5.60	4.2	HOD/MC /
Ò	метил-3-циклопропил-5-(2-	A3	ИЭР/MC m/z =
0=	метокси-2-оксоэтил)-2-		257,1 [M+H]+.
)	метил-2,5-дигидро-1,2,4-		Рассчитанная
N	оксадиазол-5-карбоксилат		MM: 256,1
$i \vee i$			
OEt	этил-3-(5-бром-2-	A4	ИЭР/МС m/z =
0=	метилфенил)-5-(2-этокси-2-	Δ4	413,2 [M+H]+.
) OEt			
I N	оксоэтил)-2-метил-2,5-		Рассчитанная
N	дигидро-1,2,4-оксадиазол-		MM:412,1
\ \ \	5-карбоксилат		
<u>Y</u>			
BL			
CO ₂ Me	метил-3-(3-бром-2-	A5	ИЭР/MC m/z =
N ←CO₂Me	метилфенил)-5-(2-метокси-		385,0 [M+H]+.
NO NO	2-оксоэтил)-2-метил-2,5-		Рассчитанная
\	дигидро-1,2,4-оксадиазол-		MM: 384,0
Br	5-карбоксилат		·
	<u> </u>	1.0	110 D A 10
CO₂Me	метил-3-бензил-5-(2-	A6	ИЭР/МС m/z =
CO ₂ Me	метокси-2-оксоэтил)-2-		307,1 [M+H]+.
	метил-2,5-дигидро-1,2,4-		Рассчитанная
N	оксадиазол-5-карбоксилат		MM: 306,1
Ph '			
ŅHCbz	метил-3-(1-	A7	ИЭР/МС m/z =
N COOMe	(((бензилокси)карбонил)ам	117	406,2 [M+H]+.
N-O COOMe	ино)циклопропил)-5-(2-		Рассчитанная
	метокси-2-оксоэтил)-2-		MM: 405,2
	метил-2,5-дигидро-1,2,4-		WIWI. 403,2
OMe	оксадиазол-5-карбоксилат	4.0	IJOD/MC ··· /
O=Clivie	метил-5-(2-метокси-2-	A8	ИЭР/MC m/z =
) OMe	оксоэтил)-2-метил-3-		293,6 [M+H]+.
N TO	фенил-2,5-дигидро-1,2,4-		Рассчитанная
__\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\	оксадиазол-5-карбоксилат		MM:292,29
🔰 '			
		<u> </u>	
OMe	метил-3-(2-бромфенил)-5-	A9	ИЭР/MC m/z =
O= OMe	(2-метокси-2-оксоэтил)-2-		373,6 [M+H]+.
Br N	метил-2,5-дигидро-1,2,4-		Рассчитанная
1 / 100	оксадиазол-5-карбоксилат		MM: 372,19
OMe O=	метил-3-(3-бромфенил)-5-	A10	ИЭР/MC m/z =
OMe	(2-метокси-2-оксоэтил)-2-		373,6 [M+H]+.
Br. A NO	метил-2,5-дигидро-1,2,4-		Рассчитанная
	оксадиазол-5-карбоксилат		MM: 372,19
OMe O=	метил-3-(4-бромфенил)-5-	A11	ИЭР/MC m/z =
OMe	(2-метокси-2-оксоэтил)-2-		373,3 [M+H]+.
1 250	метил-2,5-дигидро-1,2,4-		Рассчитанная
	оксадиазол-5-карбоксилат		MM: 372,19
Br	l *		´

OMe O≕	метил-3-(4-бромфенил)-5-	A12	ИЭР/МС m/z =
OMe	(2-метокси-2-оксоэтил)-2-		373,3 [M+H]+.
	метил-2,5-дигидро-1,2,4-		Рассчитанная
Br	оксадиазол-5-карбоксилат		MM: 372,19
-9 9	метил-3-(1-(трет-	A13	ИЭР/MC m/z =
0″N\o	бутоксикарбонил)пипериди		400,8 [M+H]+.
	н-4-ил)-5-(2-метокси-2-		Рассчитанная
Boc N Me	оксоэтил)-2-метил-2,5-		MM: 399,44
200	дигидро-1,2,4-оксадиазол-		
	5-карбоксилат		
-0, 0	метил-3-(1-(трет-	A14	ИЭР/MC m/z =
0 N	бутоксикарбонил)пипериди		400,8 [M+H]+.
	н-4-ил)-5-(2-метокси-2-		Рассчитанная
N Me	оксоэтил)-2-метил-2,5-		MM: 399,44
Boc	дигидро-1,2,4-оксадиазол-		
	5-карбоксилат		
-0	метил-3-(1-(трет-	A15	ИЭР/МС m/z =
	бутоксикарбонил)пипери-		400,6 [M+H]+.
N N Y Y	дин-3-ил)-5-(2-метокси-2-		Рассчитанная
\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\	оксоэтил)-2-метил-2,5-		MM: 399,44
Me	дигидро-1,2,4-оксадиазол-		
\ \N_	5-карбоксилат		
Вос	*		
-0, 0	метил-3-(1-(трет-	A16	ИЭР/МС m/z =
	бутоксикарбонил)пипериди		400,8 [M+H]+.
N N Y	н-2-ил)-5-(2-метокси-2-		Рассчитанная
	оксоэтил)-2-метил-2,5-		MM: 399,44
'i' Me	дигидро-1,2,4-оксадиазол-		[
Boc	5-карбоксилат		
	метил-3-(3-бром-2-(2-	A17	ИЭР/МС m/z =
	((трет-	1117	451,0 [M+H]+.
-Q (бутилдиметилсилил)окси)		Рассчитанная
N (этокси)фенил)-5-(2-		MM: 450,0
No o	метокси-2-оксоэтил)-2-		171171. 150,0
\ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \	метил-2,5-дигидро-1,2,4-		
Br 9	оксадиазол-5-карбоксилат		
O-TBS	окондиазол-э-карооксилат		
- IBS			

Стадия 2: синтез метил-2-(3-бром-5-метилфенил)-5-гидрокси-1-метил-6-оксо-1,6дигидропиримидин-4-карбоксилата В1

В круглодонную колбу объемом 100 мл помещали метил-3-(3-бром-5-метилфенил)-5-(2-метокси-2-оксоэтил)-2-метил-2,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-5-карбоксилат (1,00 г, 2,596 ммоль, 1,00 экв.), ксилол (20,00 мл). Полученный раствор перемешивали в течение 5 часов при 145° С. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры. Твердое вещество собирали фильтрацией, промывали гексаном. Твердое вещество сушили при пониженном давлении. В результате получали 210 мг метил-2-(3-бром-5-метилфенил)-5-гидрокси-1-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксилата (выход 22%) в виде белого твердого вещества. ИЭР/МС m/z = 353,0 [M+H] $^{+}$. Рассчитанная ММ: 352,0.

Следующие промежуточные соединения синтезировали, используя такие же условия, как на стадии, описанной выше, с соответствующими исходными веществами.

Таблица 2

Структура	Название	Промежу- точное соединение	ЖХМС
OH OH	метил-2-циклобутил-5- гидрокси-1-метил-6-оксо- 1,6-дигидропиримидин-4- карбоксилат	В2	ИЭР/МС m/z = 239,1 [М+Н]+. Рассчитанная ММ: 238,1
NO OH	метил-2-циклопропил-5- гидрокси-1-метил-6-оксо- 1,6-дигидропиримидин-4- карбоксилат	В3	ИЭР/МС m/z = 225,1 [M+H]+. Рассчитанная MM: 224,0
O OEt N OH Br	этил-2-(5-бром-2- метилфенил)-5-гидрокси-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин-4- карбоксилат	В4	ИЭР/МС m/z = 365,0 [М-Н]-, Рассчитанная ММ: 366,0
O O O O O O O O O O O O O O O O O O O	метил-2-(3-бром-2- метилфенил)-5-гидрокси-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин-4- карбоксилат	В5	ИЭР/МС m/z = 353,0 [M+H]+. Рассчитанная MM: 352,0
O O O O O O O O O O O O O O O O O O O	метил-2-бензил-5- гидрокси-1-метил-6-оксо- 1,6-дигидропиримидин-4- карбоксилат	B6	ИЭР/МС m/z = 275,1 [M+H]+. Рассчитанная ММ: 274,1
CbzHN	метил-2-(1- ((((бензилокси)карбонил)ам ино)циклопропил)-5- гидрокси-1-метил-6-оксо- 1,6-дигидропиримидин-4- карбоксилат	В7	ИЭР/МС m/z = 374,4 [M+H]+. Рассчитанная MM: 373,1
Me N CO ₂ Me	метил-5-гидрокси-1-метил- 6-оксо-2-фенил-1,6- дигидропиримидин-4- карбоксилат	В8	ИЭР/МС m/z = 261,3 [M+H]+. Рассчитанная MM: 260,2
Me N CO ₂ Me	метил-2-(2-бромфенил)-5- гидрокси-1-метил-6-оксо- 1,6-дигидропиримидин-4- карбоксилат	В9	ИЭР/МС m/z = 341,2 [M+H]+. Рассчитанная ММ: 339,1
Me N OH	метил-2-(3-бромфенил)-5- гидрокси-1-метил-6-оксо- 1,6-дигидропиримидин-4- карбоксилат	B10	ИЭР/МС m/z = 341,6 [M+H]+. Рассчитанная ММ: 339,1
Me. N CO ₂ Me	метил-2-(4-бромфенил)-5- гидрокси-1-метил-6-оксо- 1,6-дигидропиримидин-4- карбоксилат	B11	ИЭР/МС m/z = 341,4 [M+H]+. Рассчитанная MM: 339,1

Me. L JOH	метил-2-(1-(трет-	B12	ИЭР/МС m/z =
I N Y	бутоксикарбонил)пипериди		368,3 [M+H]+.
N CO₂Me	н-4-ил)-5-гидрокси-1-		Рассчитанная
Boc	метил-6-оксо-1,6-		MM: 367,40
	дигидропиримидин-4-		,
	карбоксилат		
Me NO OH	метил-2-(1-(трет-	B13	ИЭР/МС m/z =
Boc.	бутоксикарбонил)пипериди		368,5 [M+H]+.
N CO₂Me	н-3-ил)-5-гидрокси-1-		Рассчитанная
	метил-6-оксо-1,6-		MM: 367,40
	дигидропиримидин-4-		,
	карбоксилат		
0	метил-3-(1-(трет-	B14	ИЭР/МС m/z =
Me NOH	бутоксикарбонил)пипериди		368,3 [M+H]+.
N CO ₂ Me	н-2-ил)-5-(2-метокси-2-		Рассчитанная
N _{Boc}	оксоэтил)-2-метил-2,5-		MM: 367,40
	дигидро-1,2,4-оксадиазол-		ŕ
	5-карбоксилат		
0 0 0	метил-2-(3-бром-2-(2-	B15	ИЭР/МС m/z =
HO. J. OH	((трет-		513,1 [M+H]+.
N Y	бутилдиметилсилил)окси)э		Рассчитанная
l √ v √ o	токси)фенил)-5-гидрокси-		MM: 512,1
	1-метил-6-оксо-1,6-		
Br (дигидропиримидин-4-		
]	карбоксилат		
O~TBS	-		

Стадия 3: синтез 2-(3-бром-5-метилфенил)-5-гидрокси-N-(изоксазол-4-ил)-1-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксамида (пример 1)

В запаянную трубку объемом 8 мл помещали метил-2-(3-бром-5-метилфенил)-5-гидрокси-1-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксилат (100,00 мг, 0,283 ммоль, 1,00 экв.), ТГФ (2,50 мл), 1,2-оксазол-4-амин (71,42 мг, 0,849 ммоль, 3,00 экв.). Затем по каплям добавляли раствор iPrMgCl (2 М, 0,64 мл, 4,50 экв.) при перемешивании при -70 °С. Полученный раствор перемешивали в течение 1 часа при комнатной температуре. Затем реакцию гасили, добавляя 2 мл насыщенного раствора NH₄Cl (водн.). Значение pH раствора доводили до 3 с помощью HCl (4 М). Полученный раствор экстрагировали, используя 3×5 мл дихлорметана, и объединяли органические слои, и концентрировали под вакуумом. Неочищенный продукт очищали препаративной BЭЖХ (CH₃CN/H₂O/FA). В результате получали 32,9 мг 2-(3-бром-5-метилфенил)-5-гидрокси-N-(изоксазол-4-ил)-1-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксамида (выход 28%) в виде белого твердого вещества. ИЭР/МС m/z = 405,0 [M+H] $^+$. Рассчитанная ММ: 404,0.

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ 11,82 (c, 1H), 10,95 (c, 1H), 9,31 (c, 1H), 8,87 (c, 1H), 7,68 (c, 1H), 7,62 (c, 1H), 7,48 (c, 1H), 3,30 (c, 3H), 2,39 (c, 3H).

Следующие примеры синтезировали, используя такие же условия, как на стадии, описанной выше, с соответствующими исходными веществами.

Таблица 3

Пример	Структура	1 аолица <i>3</i> Название	жхмс	ЯМР
Thumb	Cibluilha	zasoanne.		211111
2	O H O H	2-циклобутил-5- гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 291,1 [М+Н]+. Рассчитанная ММ: 290,1	1H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d6) δ: 11,60 (c, 1H), 10,72 (c, 1H), 9,32 (c, 1H), 3,79-3,68 (м, 1H), 3,39 (c, 3H), 2,65-2,51 (м, 2H), 2,95-2,23 (м, 2H), 2,09-1,92 (м, 1H), 1,90-1,72 (м, 1H).
3	N H O H	2-циклопропил-5- гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 277,2 [М+Н]+. Рассчитанная ММ: 276,1	1H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d6) δ 11,52 (c, 1H), 10,59 (c, 1H), 9,30 (c, 1H), 8,90 (c, 1H), 3,64 (c, 3H), 2,20-2,22 (м, 1H), 1,16 (м, 2H), 1,06-0,94 (м, 2H).
4	N-O NH OH N= N-O	2-(5-бром-2- метилфенил)-5- гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 405,1[M+H]+ Рассчитанная MM:404,0	1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d6) δ 11,91 (c, 1H), 11,01 (c, 1H), 9,29 (c, 1H), 8,85 (c, 1H), 7,71 (д, J = 2,0 Γц, 1H), 7,66-7,63 (м, 1H), 7,36 (д, J
				= 8,0 Гц, 1H), 3,17 (c, 3H), 2,16 (c, 3H).
5	O N N N N N N N N N N N N N N N N N N N	2-(3-бром-2- метилфенил)-5- гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 405,0 [M+H]+. Рассчитанная ММ: 404,0	1H ЯМР (300 MΓμ, ДМСО-d6) δ 11,93 (c, 1H), 10,98 (c, 1H), 9,29 (c, 1H), 7,82-7,79 (м, 1H), 7,52-7,49 (м, 1H), 7,33 (r, J = 7,8 Γμ, 1H), 3,17 (c, 3H), 2,26 (c, 3H).
6	O-N NH NH OH	2-бензил-5-гидрокси- N-(изоксазол-4-ил)- 1-метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 327,1 [M+H]+. Рассчитанная ММ: 326,1	1H ЯМР (300 ΜΓι, ДМСО- d6) δ 11,60 (c, 1H), 11,09 (c, 1H), 9,33 (c, 1H), 8,92 (c, 1H), 7,39-7,26 (м, 5H), 4,28 (c, 2H), 3,34 (c, 3H).
7	N-O NH OH CbzHN	бензил-(1-(5- гидрокси-4- (изоксазол-4- илкарбамоил)-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин- 2- ил)циклопропил)кар бамат	ИЭР/МС m/z = 426,1 [M+H]+. Рассчитанная ММ: 425,1	1H ЯМР (300 MΓu, ДМСО-d6) δ 11,66 (c, 1H), 10,65 (c, 1H), 8,93 (c, 1H), 8,30 (c, 1H), 7,33-7,10 (м, 5H), 4,97 (c, 2H), 3,57 (c, 3H), 1,74 (c, 2H), 1,16-1,12 (м, 2H).

Синтез 5-гидрокси-N-(изоксазол-4-ил)-1-метил-6-оксо-2-фенил-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксамида (пример 8)

Метил-5-гидрокси-1-метил-6-оксо-2-фенил-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксилат (200 мг, 0,77 ммоль, 1 экв.) и изоксазол-4-амин (0,096 г, 1,15 ммоль, 1,5 экв.) растворяли в толуоле (1 мл) и охлаждали смесь до 0°С. По каплям добавляли 2 М раствор триметилалюминия в толуоле (0,768 мл, 1,53 ммоль, 2.0 экв.) при 0°С. Затем реакционную смесь нагревали при 100°С в течение 2 часов, и затем гасили насыщенным раствором бикарбоната натрия (0,2 мл) и добавляли к полученной смеси этилацетат (10 мл). Затем реакционную смесь сушили над безводным Na_2SO_4 и фильтровали. Твердое вещество промывали этилацетатом (3×10 мл) и концентрировали объединенный органический слой при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали обращенно-фазовой ВЭЖХ с получением 5-гидрокси-N-(изоксазол-4-ил)-1-метил-6-оксо-2-фенил-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксамида, 8 (25 мг, 15%). ИЭР/МС $m/z = 313,2 \ [M+H]^+$. Рассчитанная MM: 312,29.

¹Н ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆): δ 9,13 (c, 1H), 8,78 (c, 1H), 7,42-7,50 (м, 5H), 3,22 (c, 3H).

Схема: синтез 2-хлор-N-(изоксазол-4-ил)-5-метокси-1-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксамида (C)

Стадия 1: синтез 1,4-диэтил-2-метокси-3-оксобутандиоата (1)

В 3-горлую круглодонную колбу объемом 1000 мл, которую продували и в которой поддерживали инертную атмосферу азота, помещали этанол (600,0 мл), этанолат натрия (31,7 г, 0,470 ммоль, 1,10 экв.), добавляли этилоксалат (68,00 г, 465,6 ммоль, 1,10 экв.) при комнатной температуре. Затем по каплям добавляли этил-2-метоксиацетат (50,00 г, 423,3 ммоль, 1,00 экв.) при перемешивании при комнатной температуре. Полученный раствор перемешивали в течение 1 ночи при 35°С. Полученную смесь концентрировали под вакуумом для удаления большей части этанола. Значение рН раствора доводили до 3 с помощью хлороводорода (1 моль/л) при 0°С. Полученный раствор экстрагировали, используя 4×500 мл этилацетат, сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали под вакуумом. В результате получали 90 г (неочищенного) 1,4-диэтил-2-метокси-3-оксобутандиоата (1) в виде коричневого маслянистого вещества.

Стадия 2: синтез этил-2-метокси-2-[(4Е)-1-метил-2,5-диоксоимидазолидин-4-илиден]ацетата (2)

В круглодонную колбу объемом 2000 мл помещали 1,4-диэтил-2-метокси-3-оксобутандиоат (1) (90,00 г, 412,5 ммоль, 1,00 экв.), метилмочевину (30,60 г, 412,5 ммоль, 1,00 экв.), уксусную кислоту (1200,0 мл), хлороводород (400,0 мл, газ, 4 моль в диоксане). Полученный раствор перемешивали в течение 3 часов при 105° С. Полученную смесь концентрировали в вакууме. Полученную смесь промывали, используя 1×500 мл гексана. В результате получали 90 г (неочищенного) этил-2-метокси-2-[(4E)-1-метил-2,5-диоксоимидазолидин-4-илиден]ацетата (2) в виде коричневого маслянистого вещества.

¹Н ЯМР (300 МГц, хлороформ-d) δ 8,75 (c, 1H), 7,47 (c, 0,4H), 5,09 (c, 2H), 4,51-4,30 (м, 3H), 3,85 (c, 1H), 3,84 (c, 3H), 3,12 (c, 3H), 3,07 (c, 1H), 2,14 (д, Ј=12,9 Гц, 1H), 1,45-1,42 (м, 2H), 1,42-1,37 (м, 3H).

Стадия 3. Синтез 2-гидрокси-5-метокси-1-метил-6-оксопиримидин-4-карбоновой кислоты (3)

В круглодонную колбу объемом 2000 мл помещали этил-2-метокси-2-[(4Е)-1-метил-2,5-диоксоимидазолидин-4-илиден]ацетат (2) (80,00 г, 350,6 ммоль, 1,00 экв.), гидроксид калия (1М в воде) (1400,0 мл). Полученный раствор перемешивали в течение 3 часов при 105°С. Реакционную смесь охлаждали до 0°С на бане из воды со льдом. Значение рН раствора доводили до 3 с помощью хлороводорода (12 моль/л) при 0°С, твердое вещество собирали фильтрованием и сушили осадок в вакууме. В результате получали 40 г 2-гидрокси-5-метокси-1-метил-6-оксопиримидин-4-карбоновой кислоты (3) (выход 57%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ 14,35 (c, 1H), 10,91 (c, 1H), 3,68 (c, 3H), 3,14 (c, 3H).

Стадия 4. Синтез этил-2-гидрокси-5-метокси-1-метил-6-оксопиримидин-4-карбоксилата (4)

В 3-горлую круголодонную колбу объемом 1000 мл, которую продували и в которой поддерживали инертную атмосферу аргона, помещали 2-гидрокси-5-метокси-1-метил-6-оксопиримидин-4-карбоновую кислоту (3) (20 г, 0,10 ммоль, 1,00 экв.), этанол (400,0 мл). Затем по каплям добавляли ацетилхлорид (117,7 г, 1,500 ммоль, 15,00 экв.) при перемешивании при 0°С. Полученный раствор нагревали до кипения с обратным холодильником в течение 1 ночи. Реакционную смесь охлаждали на бане из воды и льда. Твердое вещество собирали фильтрацией. В результате получали 16 г этил-2-гидрокси-5-метокси-1-метил-6-оксопиримидин-4-карбоксилата (4) (выход: 70%) в виде белого твердого вещества.

 1 Н ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 11,08 (c, 1H), 4,32 (к, J=7,1 Гц, 2H), 3,70 (c, 3H), 3,15 (c, 3H), 1,31 (т, J=7,1 Гц, 3H).

Стадия 5. Синтез этил-2-хлор-5-метокси-1-метил-6-оксопиримидин-4-карбоксилата (5)

В 3-горлую круглодонную колбу объемом 1 л, которую продували и в которой поддерживали инертную атмосферу аргона, помещали этил-2-гидрокси-5-метокси-1-метил-6-оксопиримидин-4-карбоксилат (4) (16,0 г, 70,1 ммоль, 1,00 экв.), диметиланилин (1,20 г, 98,2 ммоль, 1,40 экв.), фосфорилтрихлорид (320,0 мл). Полученный раствор перемешивали в течение 1 часа при 100°С. Полученную смесь концентрировали под вакуумом. Остаток переносили в силикагелевую колонку, элюируя смесью этилацетат/петролейный эфир (1/10-1/4). В результате получали 13,3 г этил-2-хлор-5-метокси-1-метил-6-оксопиримидин-4-карбоксилата (5) (выход 77,0%) в виде желтого твердого вещества.

¹Н ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ 4,32 (к, Ј=7,1 Гц, 2H), 3,84 (с, 3H), 3,54 (с, 3H), 1,30 (т, Ј=7,1 Гц, 3H).

Стадия 6. Синтез 2-хлор-5-метокси-1-метил-N-(1,2-оксазол-4-ил)-6-оксопиримидин-4-карбоксамида (6)

стадия 6

К перемешанному раствору этил-2-хлор-5-метокси-1-метил-6-оксопиримидин-4-карбоксилата (5) $(1,00\ \Gamma,\,4,05\ \text{ммоль},\,1,00\ \text{экв.})$ и 1,2-оксазол-4-амина (340,9 мг, 4,050 ммоль, 1,00 экв.) в толуоле (15,0 мл) добавляли триметилалюминий (2 моль в толуоле) (4,1 мл, 8,10 ммоль, 2,00 экв.) при комнатной температуре в атмосфере аргона. Полученный раствор перемешивали под микроволновым облучением в течение 15 минут при 80° С. Реакционную смесь гасили водой/льдом при 0° С. Полученный раствор экстрагировали, используя 3×40 мл этилацетат, объединенные органические слои промывали насыщенным солевым раствором (1 $\times30$ мл), сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали под вакуумом. Остаток переносили в силикагелевую колонку, элюируя смесью этилацетат/петролейный эфир (1/10-1/1). В результате получали 650 мг 2-хлор-5-метокси-1-метил-N-(1,2-оксазол-4-ил)-6-оксопиримидин-4-карбоксамида (6) (выход 53,0%) в виде светло-желтого твердого вещества. ИЭР/МС $m/z = 285,2\ [\text{M}+\text{H}]^{+}$. Рассчитанная MM: 284,2.

 1 Н ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ 10,84 (c, 1H), 9,28 (c, 1H), 8,78 (c, 1H), 3,86 (c, 3H), 3,62 (c, 3H). Следующие примеры и промежуточные соединения синтезировали, используя такие же условия, как на стадии, описанной выше, с соответствующими исходными веществами.

Таблица 4

Пример	Структура	Название	ЖХМС	ЯМР
9	Me N OH	2-(2-бромфенил)-5- гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин-4- карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 393,2 [М+Н]+. Рассчитанная ММ: 391,18	1H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d6): δ 12,01 (c, 1H), 11,07 (c, 1H), 8,86 (c, 1H), 7,83 (π, J = 8,0 Γц, 1H), 7,67-7,68 (м, 1H), 7,62 (τ, J = 7,6 Γц, 1H), 7,53 (τ, J = 7,6 Γц,
				1H), 3,20 (c, 3H).
10	Me N OH	2-(3-бромфенил)-5- гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин-4- карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 393,1 [M+H]+. Рассчитанная ММ: 391,15	(400 MΓu, ДMCO-d6): δ 11,83 (c, 1H), 11,03 (c, 1H,), 9,30 (c, 1H), 8,87 (c, 1H), 7,89 (c, 1H), 7,77 (π, J = 8,0 Γu, 1H), 7,68 (π, J = 7,6 Γu, 1H), 7,52 (τ, J = 7,6 Γu, 1H), 3,31 (c, 3H).
11	Me N OH	2-(4-бромфенил)-5- гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин-4- карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 393,6 [М+H]+. Рассчитанная ММ: 391,18	1H ЯМР (400 MΓu, ДМСО- d6): δ 11,81 (c, 1H), 11,18 (c, 1H), 9,30 (c, 1H), 8,86 (c, 1H), 7,77 (π, J = 7,6 Γu, 2H), 7,63 (τ, J = 7,2 Γu, 2H), 3,32 (c, 3H).

12	9	mon Syrva 4 (5	IJOD/MC m/z	1H mm (400
12	Me N OH	трет-бутил-4-(5-гидрокси-4-(изоксазол-4-илкарбамоил)-1-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-2-ил)пиперидин-1-карбоксилат	ИЭР/МС m/z = 320,7 [M ⁺ - BOC]+. Рассчитанная MM: 419,44	1H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d6): δ 11,57 (c, 1H), 10,57 (c, 1H), 9,32 (c, 1H), 8,93 (c, 1H), 4,11 (шс, 2H), 3,58 (c, 3H), 3,04-3,07(м, 1H), 2,86 (шс, 2H), 1,84 (шс, 4H), 1,43 (c, 9H).
13	Boc. N N N	трет-бутил-3-(5-гидрокси-4-(изоксазол-4-илкарбамоил)-1-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-2-ил)пиперидин-1-карбоксилат	ИЭР/МС m/z = 420,7 [M+H]+. Рассчитанная MM: 419,44	1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d6): δ 11,53 (c, 1H), 10,51 (c, 1H), 9,31 (c, 1H), 8,93 (c, 1H), 4,02-4,11 (м, 2H), 3,55 (c, 3H), 3,18-3,24 (м, 1H), 2,89- 2,91 (м, 1H), 2,00-2,07 (м, 1H), 1,70-1,95
				(м, 3H), 1,48- 1,51 (м, 1H), 1,41 (с, 9H).
14	Me N OH	трет-бутил-2-(5-гидрокси-4-(изоксазол-4-илкарбамоил)-1-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-2-ил)пиперидин-1-карбоксилат	ИЭР/МС m/z = 420,4 [М+H]+. Рассчитанная ММ: 419,44	1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d6): δ 11,35 (c, 1H), 10,22 (c, 1H), 9,33 (c, 1H), 8,89 (c, 1H), 5,08 (c, 1H), 3,55-3,62 (м, 1H), 3,48 (c, 3H), 3,30 (шс, 1H), 2,19 (шс, 1H), 1,86 (шс, 2H), 1,59 (шс, 2H), 1,46 (шс, 1H), 1,32 (c, 9H).

Следующее промежуточное соединение синтезировали, используя такие же условия, как описаны выше, с соответствующими исходными веществами.

Таблица 5

Промежуточ ное	Структура	Название	ЖХМС	ЯМР
соединение				
C1)- <u>И</u>	2-(3-бром-2-(2-	ИЭР/МС m/z	1Н ЯМР (300
CI	O NH OH NH OH NT O	2-(3-ором-2-(2- ((трет- бутилдиметилсилил)окси)этокси)фенил)-5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	и ЭР/МС m/z = 451,0 [M+H]+. Рассчитанная ММ: 450,0	MΓ μ, ДМС O- d6) δ 11,87 (c, 1H), 10,99 (c, 1H), 9,29 (c, 1H), 7,85 (π, J = 8,1 Γ μ, 1H), 7,56 (π, J = 7,6 Γ μ, 1H), 7,28 (τ, J = 7,8 Γ μ, 1H), 4,63 (τ, J = 5,4 Γ μ, 1H), 4,01-3,97 (м, 1H), 3,76-3,70
				(M, 1H), 3,52- 3,39 (M, 2H), 3,23 (c, 3H).

Синтез 2-(3-бром-2-(2-гидроксиэтокси)фенил)-5-гидрокси-N-(изоксазол-4-ил)-1-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксамида (пример 15).

В колбу объемом 40 мл добавляли 2-(3-бром-2-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этокси)фенил)-5-гидрокси-N-(изоксазол-4-ил)-1-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксамид (300 мг, 0,531 ммоль, 1,0 экв.) и ТГФ (6,0 мл) при комнатной температуре. К полученной выше смеси по каплям добавляли ТВАF(1 М)/СН₃СООН =1:1 (1,20 мл, 2,0 экв.) в течение 2 минут при 0°С. Полученную смесь перемешивали еще 5 часов при комнатной температуре. Полученную смесь экстрагировали этилацетатом (1×12 мл). Водную фазу дополнительно экстрагировали этилацетатом (3×10 мл). Объединенные органические слои промывали насыщенным солевым раствором (2×7 мл), сушили над безводным сульфатом натрия. После фильтрования концентрировали фильтрат при пониженном давлении. Неочищенный продукт (300 мг) очищали препаративной ВЭЖХ (ацетонитрил/муравьиная кислота/вода) с получением 70 мг 2-(3-бром-2-(2-гидроксиэтокси)фенил)-5-гидрокси-N-(изоксазол-4-ил)-1-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксамида, 15, с выходом 29% в виде белого твердого вещества. ИЭР/МС m/z = 451,0 [М+Н]⁺. Рассчитанная ММ: 450,0.

 1 Н ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ 11,87 (c, 1H), 10,99 (c, 1H), 9,29 (c, 1H), 8,86 (c, 1H), 7,85 (д, J=8,1 Гц, 1H), 7,56 (д, J=7,6 Гц, 1H), 7,28 (т, J=7,8 Гц, 1H), 4,63 (т, J=5,4 Гц, 1H), 4,01-3,97 (м, 1H), 3,76-3,70 (м, 1H), 3,52-3,39 (м, 2H), 3,23 (c, 3H).

Следующие примеры и промежуточные соединения синтезировали, используя такие же условия, как на стадии, описанной выше, с соответствующими исходными веществами.

Таблица 6

Пример	Структура	Название	ЖХМС
16		трет-бутил-3-(5- гидрокси-4- (изоксазол-4- илкарбамоил)-6- оксо-1,6- дигидропиримидин- 2-ил)пиперидин-1- карбоксилат	ИЭР/МС m/z = 406,3 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 405,4
17		трет-бутил-4-((5- гидрокси-4- (изоксазол-4- илкарбамоил)-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин- 2- ил)метил)пиперидин- 1-карбоксилат	ИЭР/МС m/z = 434,4 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 433,2
18		трет-бутил-3-((5- гидрокси-4- (изоксазол-4- илкарбамоил)-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин- 2- ил)метил)пиперидин- 1-карбоксилат	ИЭР/МС m/z = 434,2 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 433,2
19		трет-бутил-3-(5- гидрокси-4- (изоксазол-4- илкарбамоил)-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин- 2-ил)азетидин-1- карбоксилат	ИЭР/МС m/z =390,2[M-H]-, Рассчитан ная ММ:391,2

	O-N		
20	O NH OH	5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-2-(1- фенилциклопропил)- 1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 353,2 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 352,1
21	O Z H O H	5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-2- (пиридин-4-ил)-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 314,5 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 313,3
22	O-N HN O OH	трет-бутил-2-(5- гидрокси-4- (изоксазол-4- илкарбамоил)-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин- 2-ил)азетидин-1- карбоксилат	ИЭР/МС m/z = 392,2 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 391,1
23		бензил-((5-гидрокси- 4-(изоксазол-4- илкарбамоил)-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин- 2- ил)(фенил)метил)кар бамат	ИЭР/МС m/z = 476,3 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 475,5
24	N N N N N N N N N N N N N N N N N N N	бензил-((4- бромфенил)(5- гидрокси-4- (изоксазол-4- илкарбамоил)-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин- 2-ил)метил)карбамат	ИЭР/МС m/z = 555,1 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 554,4

25	O-N N-NOH	2-(3,5- диметилфенил)-5- гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z =341,1[M+ H]+. Рассчитан ная MM:340,1
26	O H H O H O H O H O H O H O H O H O H O	5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-2- (пиридин-2- илметил)-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 328,2 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 327,3
27	0-N NH OH	5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-2- (пиридин-2-ил)-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 314,1 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 313,3
29	O N O H O H	5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-2- (пиридин-3-ил)-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 314,2 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 313,3
30		2-(3,5-дихлорфенил)- 5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 381,0 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 380,0

31	0-N-H-OH-OH-OH-OH-OH-OH-OH-OH-OH-OH-OH-OH-O	5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-2-(3-метил-5- морфолинофенил)-6- оксо-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 412,2 [M+H] +. Рассчитан ная ММ: 411,2
	0-N	, , , , , , , , , , , , , , , , , , ,	
32	NH N	5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-2-(3-метил-5- ((1-метил-1Н- пиразол-4- ил)амино)фенил)-6- оксо-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 422,2 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 421,2
33		5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-2-(3-метил-5- (4-метилпиперазин- 1-ил)фенил)-6-оксо- 1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 425,3 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 424,2
34	Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z	5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-2-(3-метил-5- ((6-метилпиридин-2- ил)амино)фенил)-6- оксо-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 433,2 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 432,2

35	O-N O-N O-N O-N O-N O-N O-N O-N O-N O-N	5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-2-(3-метил-5- (1-метил-1Н- пиразол-3-ил)фенил)- 6-оксо-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 421,3[M+H]+. Рассчитан ная ММ: 420,2
36	O N N N N N N N N N N N N N N N N N N N	2-(3- (диметилкарбамоил)- 5-метилфенил)-5- гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 398,2 [M+H]+. Рассчитан ная ММ= 397,1
37	O-N-N-H-O-N-N-H-O-N-N-H-O-N-N-N-N-N-N-N-	5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-2-(3-метил-5- ((тетрагидро-2Н- пиран-4- ил)карбамоил)фенил) -6-оксо-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 454,3 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 453,2
38		5-гидрокси-2-(3-((2-гидроксиэтил)карбам оил)-5-метилфенил)- N-(изоксазол-4-ил)-1-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 414,2 [M+H]+. Рассчитан ная ММ= 413,1

39	O N N N N N N N N N N N N N N N N N N N	2-(1- бензилпиперидин-3- ил)-5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 410,1 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 409,5
40	O-N H OH OH N N N N N N N N N N N N N N N	5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-2-(1- пиколиноилпипериди н-3-ил)-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 425,5 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 424,4
41		5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-2- (1-(2- метоксибензоил)пипе ридин-3-ил)-1-метил- 6-оксо-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 454,1 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 453,4
42	O-N ON N N N N O N N O N O N O N O N O N O	2-(1-бензил-1Н- пиразол-4-ил)-5- гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 393,4 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 392,4

43	O N H OH OH	5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-2-(1-(3- фенилпропаноил)пип еридин-3-ил)-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 452,7 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 451,5
44	D H O H	5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-2-(м- толил)-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 327,2 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 326,3
45	2-4-2-1-1-1-1-1-1-1-1-1-1-1-1-1-1-1-1-1-	2-(1-(3- хлорбензоил)пипери дин-3-ил)-5- гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 458,3 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 457,9
46	0	2-(1-(2- хлорбензоил)пипери дин-3-ил)-5- гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 458,6 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 457,9

47	0-N 0-N NH NH NH NH NH NH NH NH NH NH NH NH NH	5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-2- (1-(4- метоксибензоил)пипе ридин-3-ил)-1-метил- 6-оксо-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 454,6 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 453,4
48	O-N N-N O-N N-N O-N O-N O-N O-N O-N O-N	5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-2- (1-(3- метоксибензоил)пипе ридин-3-ил)-1-метил- 6-оксо-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 454,6 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 453,4
50	NH OH	трет-бутил-3-бензил- 3-(5-гидрокси-4- (изоксазол-4- илкарбамоил)-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин- 2-ил)пиперидин-1- карбоксилат	ИЭР/МС m/z = 510,3 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 509,2
51	O-N-N-H OH	3-(5-гидрокси-4- (изоксазол-4- илкарбамоил)-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин- 2-ил)-5- метилбензойная кислота	ИЭР/МС m/z = 371,2 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 370,1
52		трет-бутил-3- ((бензилокси)метил)- 3-(5-гидрокси-4- (изоксазол-4- илкарбамоил)-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин- 2-ил)пиперидин-1- карбоксилат	ИЭР/МС m/z = 540,2 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 539,2

53	O-N NH OH NOH	метил-3-(5-гидрокси- 4-(изоксазол-4- илкарбамоил)-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин- 2-ил)-5-метилбензоат	ИЭР/МС m/z = 385,2 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 384,1
54	N H H H	5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-2-(3-метил-5- ((1-метилпиперидин- 4- ил)карбамоил)фенил) -6-оксо-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 467,2 [M+H]+. Рассчитан ная ММ= 466,2
55	O-N O-N O-N O-N O-N O-N O-N O-N O-N O-N	5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-2-(3-метил-5- (метилкарбамоил)фе нил)-6-оксо-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 384,3 [M+H]+. Рассчитан ная ММ= 383,1
56	D A D D D D D D D D D D D D D D D D D D	5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-2-(1-(6- оксопиперидин-3- карбонил)пиперидин -3-ил)-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 445,3 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 444,4

57	O-N O-N NH OH N-S-S-S-S-S-S-S-S-S-S-S-S-S-S-S-S-S-S-S	5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-2-(1- (фенилсульфонил)пи перидин-3-ил)-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 460,2 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 459,5
58		5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-2-(1- (пиримидин-5- карбонил)пиперидин -3-ил)-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 426,2 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 425,4
59		2-(1-(4- хлорбензоил)пипери дин-3-ил)-5- гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 458,2 [М+Н]+. Рассчитан ная ММ: 457,9
60	Z - Z - Z - Z - Z - Z - Z - Z - Z - Z -	2-(1-(4- (диметиламино)бута ноил)пиперидин-3- ил)-5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 433,3 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 432,5

61		5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-2-(1-(2- фенилацетил)пипери дин-3-ил)-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 438,3 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 437,5
62		5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-2-(1- никотиноилпипериди н-3-ил)-6-оксо-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 425,3 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 424,4
63		5-гидрокси-2-(1- изоникотиноилпипер идин-3-ил)-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 425,3 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 424,4
64	O-N-N-N-N-N-N-N-N-N-N-N-N-N-N-N-N-N-N-N	2-(1- ацетилпиперидин-3- ил)-5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 362,2 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 361,4

65	O N N N N N N N N N N N N N N N N N N N	5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-2-(1- (фенилкарбамоил)пи перидин-3-ил)-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 439,2 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 438,4
66	O N N O H	5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-2-(2- (пиридин-3- ил)фенил)-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 390,5 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 389,4
67	0-N N O N O H	5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-2-(2- (пиридин-4- ил)фенил)-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 390,3 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 389,4
68-69	Спел	циально исключены	
70	HO OH	2-(5-бром-2-(2- гидроксиэтокси)фени л)-5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 451,1 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 450,2
70-71	Специально исключены		
73	HO H	5-гидрокси-2-(5-(2- гидроксиэтил)-2- метил-2H-1,2,3- триазол-4-ил)-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 362,2 [М+Н]+. Рассчитан ная ММ: 361,4

74	HO OH	5-гидрокси-2-(5-(2- гидроксиэтил)-1- метил-1H-1,2,3- триазол-4-ил)-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 362,2 [М+Н]+. Рассчитан ная ММ: 361,4
75	HO WHO WHO HOW HOW HOW HOW HOW HOW HOW H	5-гидрокси-2-(2-((3-гидроксипропил)ами но)фенил)-N-(изоксазол-4-ил)-1-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 386,2 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 385,4
76	HO, H,	5-гидрокси-2-(2- (((1s,3s)-3- гидроксициклобутил) амино)фенил)-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 398,2 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 397,4
77	Спе	циально исключен	
78	O-N OH HN O OH Br	2-(3-бром-2-(2- гидроксиэтил)фенил) -5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 437,05 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 436,2
79	H Z Z H Z Z H Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z	(R)-5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-2-(1- фенилпропан-2-ил)- 1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 355,2 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 354,4
80	H	(S)-5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-2-(1- фенилпропан-2-ил)- 1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 355,2 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 354,4
81	Спе	циально исключен	
104	O-N HN O OH OH OH	(R)-5-гидрокси-2-(1- (2- гидроксиэтил)пипери дин-2-ил)-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин- 4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 364,3 [M+H]+. Рассчитан ная ММ: 363,4

Синтез трет-бутил-3-(5-этокси-4-(изоксазол-4-илкарбамоил)-1-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-2-ил)пиперидин-1-карбоксилата (изомер A1):

Стадия 1: этил-2-(1-(трет-бутоксикарбонил)-1,2,5,6-тетрагидропиридин-3-ил)-5-этокси-1-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксилат.

Смесь этил-2-хлор-5-этокси-1-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксилата (2 г, 7,67 ммоль), трет-бутил-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-3,6-дигидропиридин-1(2H)-карбоксилата (2,96 г, 9,59 ммоль) и карбоната натрия (1,62 г, 15,34 ммоль) в растворе диоксана в воде (4:1, 50 мл) дегазировали в течение 20 минут газообразным аргоном. Добавляли $PdCl_2(dppf)$ (0,561 г, 0,76 ммоль) и продолжали дегазирование еще 10 минут. Реакционную смесь нагревали при 90° С в течение 4 часов. После завершения реакции реакционную смесь растворяли в воде (100 мл) и экстрагировали этилацетатом (2×50 мл). Объединенный органический слой промывали насыщенным солевым раствором (30 мл), сушили над безводным Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали колоночной хроматографией с получением указанного в заголовке соединения (2,57 г, 82%) в виде твердого вещества. ЖХМС: расч. 408,3; ИЭР/МС $m/z = 408,61 \, [M+H]^+$.

¹Н ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆): δ 1,23-1,31 (м, 6H), 1,43 (с, 9H), 2,25-2,40 (м, 2H), 3,44 (с, 3H), 3,45-3,50 (м, 2H), 4,05-4,10 (м, 2H), 4,16 (к, J=7,2 Гц, 2H), 4,31 (к, J=7,2 Гц, 2H), 6,26 (шс, 1H).

Стадия 2: этил-2-(1-(трет-бутоксикарбонил)пиперидин-3-ил)-5-этокси-1-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксилат.

К смеси этил-2-(1-(трет-бутоксикарбонил)-1,2,5,6-тетрагидропиридин-3-ил)-5-этокси-1-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксилата (2,57 г, 6,30 ммоль), которую растворяли и перемешивали в растворе метанол:этилацетат (1:3, 54 мл), добавляли 10% Pd/C (0,67 г с влажностью 50%). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в атмосфере газообразного водорода в течение 3,5 часа. После завершения реакции реакционную смесь фильтровали через слой целита и промывали этилацетатом (2×50 мл). Фильтрат концентрировали при пониженном давлении.

Полученный неочищенный продукт очищали колоночной хроматографией с получением указанного в заголовке соединения (2,35 г, 91%). ЖХМС: расч. 409,3, ИЭР/МС $m/z = 410,4 [M+H]^+$.

Стадия 3: 2-(1-(трет-бутоксикарбонил)пиперидин-3-ил)-5-этокси-1-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-карбоновая кислота.

К перемешанному раствору этил-2-(1-(трет-бутоксикарбонил)пиперидин-3-ил)-5-этокси-1-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксилата (1,9 г, 4,64 ммоль) в смеси метанол: $T\Gamma\Phi$: H_2O (1:1:1, 30 мл) добавляли NaOH (0,222 г, 5,56 ммоль) при комнатной температуре. Полученную реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 часов. После завершения реакции смесь концентрировали под вакуумом. Реакционную смесь растворяли в воде (10 мл) и подкисляли 1 н. HCl (pH 6).

Продукт экстрагировали 10% раствором метанола в дихлорметане (2×30 мл).

Объединенный органический слой промывали насыщенным солевым раствором (30 мл) и выпаривали под вакуумом с получением указанного в заголовке соединения (1,67 г, 94%), которое использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ЖХМС: расч. 381,3; ИЭР/МС m/z = 382,5 [M+H]⁺.

Стадия 4: трет-бутил-3-(5-этокси-4-(изоксазол-4-илкарбамоил)-1-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-2-ил)пиперидин-1-карбоксилат.

К перемешанному раствору 2-(1-(трет-бутоксикарбонил)пиперидин-3-ил)-5-этокси-1-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-карбоновой кислоты (1,67 г, 4,37 ммоль) в сухом ДМФА (16 мл) добавляли НАТИ (2,49 г, 6,56 ммоль) при 0°С. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа. Затем добавляли изоксазол-4-амин (0,441 г, 5,25 ммоль) в ДМФА (0,5 мл) и добавляли

DIPEA (1,5 мл, 8,75 ммоль) при комнатной температуре, и перемешивали реакционную смесь в течение 3 часов. После завершения реакции реакционную смесь разбавляли водой (20 мл) и экстрагировали этилацетатом (2×30 мл). Объединенный органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали колоночной хроматографией на системе Combiflash с получением указанного в заголовке соединения (1,67 г, 85%) в виде рацемической смеси. Хиральное разделение рацемического чистого соединения (1,2 г) проводили с помощью хиральной препаративной ВЭЖХ с получением по 500 мг каждого энантиомера. ЖХМС: расч. 447,3; ИЭР/МС $m/z = 448,60 \ [M+H]^+$. Хиральная ВЭЖХ: CHIRALPAK AD-H; 30% метанола в жидком $CO_2 + 0,1\%$ ДЭА. FR-1 (изомер-A1): R_T =7,66 мин; FR-2 (изомер-A2): R_T =8,81 мин;

A1: 1 H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆): δ 1,21-1,25 (м, 3H), 1,41 (c, 9H), 1,46-1,57 (м, 2H), 1,71-1,74 (м, 2H), 2,02-2,04 (м, 1H), 2,76-2,98 (м, 2H), 2,99-3,15 (м, 1H), 3,57 (c, 3H), 3,85-4,15 (м, 1H), 4,10-4,15 (м, 2H), 8,78 (c, 1H), 9,29 (c, 1H), 10,56 (c, 1H).

A2: 1 H ЯМР (400 МГ 1 П, ДМСО- 1 СО- 1 СО-

Синтез 1-((2-((R)-1-(3,4-дихлорбензоил)пиперидин-3-ил)-4-(изоксазол-4-илкарбамоил)-1-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-5-ил)окси)этил-этилкарбоната (пример 131)

При**ме**р 131

Стадия 1: (R)-5-этокси-N-(изоксазол-4-ил)-1-метил-6-оксо-2-(пиперидин-3-ил)-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксамид, гидрохлоридная соль.

К перемешанному раствору трет-бутил-(R)-3-(5-этокси-4-(изоксазол-4-илкарбамоил)-1-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-2-ил)пиперидин-1-карбоксилата (0,20 г, 0,44 ммоль) в смеси дихлорметана (1,32 мл) и метанола (0,66 мл) по каплям добавляли 4 М НСІ в диоксане (1 мл) при 0°С. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа и нагревали до 40°С в течение 10 минут. Реакционную смесь концентрировали досуха и дважды перегоняли азеотропной перегонкой с метанолом с получением указанного в заголовке соединения (0,17 г, 99%) в виде твердого вещества, которое использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ЖХМС: расч. 347,3, ИЭР/МС m/z = 348,48 [М + H]⁺.

Стадия 2: (R)-2-(1-(3,4-дихлорбензоил)пиперидин-3-ил)-5-этокси-N-(изоксазол-4-ил)-1-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксамид.

К перемешанному раствору 3,4-дихлорбензойной кислоты $(0,101\ r,0,53\ mmoль)$ в сухом ДМФА $(1,7\ mn)$ добавляли НАТU $(0,252\ r,0,66\ mmoль)$ при 0° С. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа. Затем добавляли гидрохлоридную соль (R)-5-этокси-N-(изоксазол-4-ил)-1-метил-6-оксо-2-(пиперидин-3-ил)-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксамида $(0,170\ r,0,44\ mmoль)$ и DIPEA $(0,25\ mn,1,33\ mmoль)$ при комнатной температуре и перемешивали реакционную смесь в течение 3 часов. После завершения реакции смесь разбавляли водой $(15\ mn)$ и экстрагировали этилацетатом $(2\times20\ mn)$. Объединенный органический слой промывали холодным насыщенным раствором бикарбоната натрия $(20\ mn)$, сушили над безводным Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали колоночной хроматографией с получением указанного в заголовке соединения $(0,21\ r,89\%)$ в виде твердого вещества. ЖХМС: расч. 519,3, ИЭР/МС $m/z = 520,27\ [M+H]^+$.

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆): δ 1,18-1,32 (м, 3H), 1,55-1,70 (м, 2H), 1,72-1,85 (м, 2H), 2,07-2,10 (м, 1H), 3,15-3,25 (м, 2H), 3,58 (с, 3H), 3,66-3,70 (м, 1H), 4,07-4,12 (м, 2H), 4,47-4,49 (м, 1H), 7,40-7,42 (м, 1H), 7,70-7,73 (м, 2H), 8,74 (с, 1H), 9,27 (с, 1H), 10,52 (с, 1H).

Стадия 3: (R)-2-(1-(3,4-дихлорбензоил)пиперидин-3-ил)-5-гидрокси-N-(изоксазол-4-ил)-1-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксамид.

Перемешанный раствор (R)-2-(1-(3,4-дихлорбензоил)пиперидин-3-ил)-5-этокси-N-(изоксазол-4-ил)-1-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксамида (0,608 г, 1,16 ммоль) растворяли в дихлорметане (36 мл). Полученный раствор охлаждали до 0°С и по каплям добавляли 1 М раствор ВВг₃ в дихлорметане (4,67 мл, 4,67 ммоль). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в тече-

ние 5 часов. После завершения реакции смесь концентрировали и перегоняли азеотропной перегонкой с дихлорметаном (2×6 мл). Остаток охлаждали до 0° С и медленно добавляли метанол (5 мл). Реакционную смесь концентрировали под вакуумом досуха. Остаток перегоняли азеотропной перегонкой с метанолом (2×6 мл) с получением неочищенного соединения. Неочищенное соединение загружали на целит и очищали обращенно-фазовой колоночной хроматографией, используя ацетонитрил и 0,1% муравьиную кислоту в воде, с получением примера 131 (0,246 г, 42%). ЖХМС: расч. 491,3, ИЭР/МС m/z = 492,3 [M+H] $^+$.

 1 Н ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆): δ 1,44-1,62 (м, 2H), 1,80-1,95 (м, 2H), 2,07-2,10 (м, 1H), 3,15-3,25 (м, 2H), 3,57 (с, 3H), 3,60-3,70 (м, 1H), 4,34-4,52 (м, 1H), 7,40-7,42 (м, 1H), 7,70-7,74 (м, 2H), 8,84-8,90 (м, 1H), 9,30 (с, 1H), 10,42-10,55 (м, 1H), 11,48 (с, 1H).

Следующие примеры и промежуточные соединения синтезировали, используя такие же условия, как на стадии, описанной выше, с соответствующими исходными веществами.

Таблина 7

Пример	Структура	Название	ЖХМС
82		2-((1S,3R)-3-(3,4- дихлорбензамидо)циклогексил)-5- гидрокси-N-(изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин-4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 507,3 [M+H]+. Pac- считанная MM: 506,4
83		2-((3S,6R)-1-(3,4-дихлорбензоил)-6-метилпиперидин-3-ил)-5-гидрокси-N-(изоксазол-4-ил)-1-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 506,2 [M+H]+. Рас- считанная MM: 505,1
84		2-((3S,6S)-1-(3,4-дихлорбензоил)-6- метилпиперидин-3-ил)-5-гидрокси- N-(изоксазол-4-ил)-1-метил-6-оксо- 1,6-дигидропиримидин-4- карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 506,2 [M+H]+. Рас- считанная ММ: 505,1
85		(S)-2-(1-(4- хлорбензоил)пирролидин-3-ил)-5- гидрокси-N-(изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин-4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 444,4 [M+H]+. Рас- считанная MM: 443,8
86		(R)-2-(1-(4- хлорбензоил)пирролидин-3-ил)-5- гидрокси-N-(изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин-4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 444,4 [M+H]+. Рас- считанная MM: 443,8

87	Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z	5-гидрокси-N-(изоксазол-4-ил)-1- метил-2-(1- (метилсульфонил)пиперидин-3-ил)- 6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4- карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 396,3 [М- H]+. Рас- считанная ММ: 397,1
88	D D D D D D D D D D D D D D D D D D D	(S)-2-(1-(3-хлор-4- фторбензоил)пиперидин-3-ил)-5- гидрокси-N-(изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин-4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 476,3 [М- H]+. Рас- считанная ММ: 475,9
89-90		Специально исключены	
91		(S)-2-(1-(2-(3,4- дифторфенил)ацетил)пиперидин-3- ил)-5-гидрокси-N-(изоксазол-4-ил)- 1-метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин-4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 474,3 [M- H]+. Рас- считанная ММ: 473,4
92		(S)-2-(1-((3,4- дихлорфенил)сульфонил)пиперидин- 3-ил)-5-гидрокси-N-(изоксазол-4- ил)-1-метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин-4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 528,4 [M- H]+. Рас- считанная MM: 527,4
93	Z O O H	5-гидрокси-N-(изоксазол-4-ил)-1- метил-2-(1-никотиноилпиперидин-3- ил)-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4- карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 425,3 [M- H]+. Рас- считанная ММ: 424,4
94	O-N HN OH N N OH	2-(1-(1Н-пиразол-4- карбонил)пиперидин-3-ил)-5- гидрокси-N-(изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин-4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 414,4 [M+H]+. Pac- считанная MM: 413,4

95	0 HZ Y O O H	5-гидрокси-2-(1- изобутирилпиперидин-3-ил)-N- (изоксазол-4-ил)-1-метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин-4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 419,3 [M+H]+. Pac- считанная MM: 418,5
96	O-N HN O N OH	5-гидрокси-2-(1- изобутирилпиперидин-3-ил)-N- (изоксазол-4-ил)-1-метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин-4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 390,3 [M+H]+. Рас- считанная MM: 389,4
97	O-N HN OH CI	(S)-2-(1-(3,4- дихлорбензоил)пиперидин-3-ил)-5- гидрокси-N-(изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-1,6- дигидропиримидин-4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 492,6 [M+H]+. Рас- считанная MM: 491,1

Синтез 2-(1-(3,4-дихлорбензоил)-3-метилпиперидин-3-ил)-5-гидрокси-N-(изоксазол-4-ил)-1-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксамида. (пример 130)

Стадия 1: трет-бутил-3-циано-3-метилпиперидин-1-карбоксилат.

К перемешанному раствору трет-бутил-3-цианопиперидин-1-карбоксилата $(5,0\ \Gamma,24\ \text{ммоль})$ в сухом ТГФ $(100\ \text{мл})$ добавляли LiHMDS $(30,9\ \text{мл},1\text{M}\ \text{в}\ \text{ТГФ},30,9\ \text{ммоль})$ при -78°C. Реакционную смесь перемешивали при -78°C в течение 30 минут. Затем добавляли MeI $(2,22\ \text{мл},35,7\ \text{ммоль})$ при той же температуре. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 часов. После завершения реакции смесь выливали в смесь льда и холодной воды $(100\ \text{мл})$ и экстрагировали этилацетатом $(2\times150\ \text{мл})$. Объединенный органический слой промывали насыщенным солевым раствором $(50\ \text{мл})$, сушили над безводным Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали силикагелевой хроматографией с получением чистого соединения, указанного в заголовке $(3,5\ \Gamma,65\%)$.

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆): δ 1,35 (c, 3H), 1,43 (c, 9H), 1,66-1,70 (м, 1H), 1,78-1,81 (м, 2H), 1,87-2,10 (м, 1H), 2,80 (c, 2H), 3,90-4,20 (м, 2H).

Стадия 2: 3-метилпиперидин-3-карбонитрил, соль с ТФК.

К перемешанному раствору трет-бутил-3-циано-3-метилпиперидин-1-карбоксилата (3,5 г, 15,6 ммоль) в дихлорметане (70 мл) по каплям добавляли ТФК (12,7 мл) при 0°С. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 часов. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного соединения. Неочищенное соединение растирали с диэтиловым эфиром с получением указанного в заголовке соединения (3,0 г, 81%) в форме соли с ТФК.

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆): δ 1,40 (c, 3H), 1,63-1,69 (м, 2H), 1,76-1,81 (м, 1H), 1,91-2,06 (м, 1H), 2,82-2,89 (м, 1H), 3,01-3,09 (м, 1H), 3,19-3,22 (м, 1H), 3,56-3,59 (м, 1H), 9,20 (шс, 1H).

Стадия 3: 1-(3,4-дихлорбензоил)-3-метилпиперидин-3-карбонитрил.

К перемешанному раствору 3,4-дихлорбензойной кислоты (2,88 г, 15,1 ммоль) в сухом ДМФА (15 мл) добавляли НАТU (7,18 г, 18,9 ммоль) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа. По каплям добавляли DIPEA (7 мл, 38 ммоль), затем добавляли 3-метилпиперидин-3-карбонитрил в форме соли ТФК (3,0 г, 12,6 ммоль) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 часов. После завершения реакции смесь разбавляли водой (30 мл) и экстрагировали водный слой этилацетатом (2×200 мл). Объединенный органический слой промывали насыщенным солевым раствором (50 мл), сушили над безводным Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали колоночной хроматографией с получением чистого соединения, указанного в заголовке (2,8 г, 56%). ЖХМС: расч. 296,3, ИЭР/МС $m/z = 297,2 \, [M+H]^+$.

Стадия 4: 1-(3,4-дихлорбензоил)-N-гидрокси-3-метилпиперидин-3-карбоксимидамид.

К смеси 1-(3,4-дихлорбензоил)-3-метилпиперидин-3-карбонитрила (4 г, 13,5 ммоль), гидрохлорида гидроксиламина (2,80 г, 40,4 ммоль) в этаноле (100 мл) медленно добавляли триэтиламин (5,8 мл, 40,4 ммоль) при 0°С. Полученную реакционную смесь нагревали при 70°С в течение 16 часов, затем концентрировали, разбавляли водой (100 мл) и экстрагировали 10% метанолом в дихлорметане (2×150 мл). Объединенный органический слой сушили над безводным Na₂SO₄ и концентрировали при пониженном давлении с получением указанного в заголовке соединения (5,0 г, 69%) в виде твердого вещества. Неочищенный продукт использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

ЖХМС: расч. 329,3, ИЭР/МС $m/z = 330,4 [M+H]^+$.

Стадия 5: диметил-2-((Е)-1-(3,4-дихлорбензоил)-N-гидрокси-3-метилпиперидин-3-карбоксимидамидо)малеат.

К перемешанному раствору 1-(3,4-дихлорбензоил)-N-гидрокси-3-метилпиперидин-3-карбоксимидамида (5,0 г, 15 ммоль) в хлороформе (100 мл) по каплям добавляли диметилацетиленди-карбоксилат (3,32 г, 23,4 ммоль) при 0°С и перемешивали реакционную смесь при комнатной температуре в течение ночи. За ходом реакции следили по ТСХ, и затем концентрировали с получением неочищенного продукта, который очищали колоночной хроматографией на силикагеле с получением чистого соединения, указанного в заголовке (2,4 г, 33%) в виде твердого вещества. ЖХМС: расч. 471,2, ИЭР/МС $m/z = 472.3 \ [M+H]^+$.

Стадия 6: метил-2-(1-(3,4-дихлорбензоил)-3-метилпиперидин-3-ил)-5-гидрокси-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксилат.

Раствор диметил-2-((E)-1-(трет-бутоксикарбонил)-N'-гидроксипиперидин-3-карбоксимидамидо)малеата (2,0 г, 4,2 ммоль) в ксилолах (15 мл) нагревали в микроволновом реакторе при 160° С в течение 10 минут. Реакционную смесь концентрировали и растирали с диэтиловым эфиром и гексанами с получением твердого вещества. Неочищенный остаток переносили на целит и очищали обращенно-фазовой колоночной хроматографией, используя ацетонитрил и 0,1% муравьиную кислоту в воде, с получением чистого соединения, указанного в заголовке (0,40 г, 21%). ЖХМС: расч. 439,4, ИЭР/МС $m/z = 440,5 \ [M+H]^{+}$.

 1 Н ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆): δ 1,10 (c, 2H), 1,27 (c, 3H), 1,58-1,75 (м, 3H), 2,00-2,16 (м, 1H), 3,79 (c, 3H), 3,60-3,64 (м, 1H), 4,01 (шс, 1H), 7,26 (д, J=8,4, 1H), 7,54 (с, 1H), 7,67 (д, J=2,0 Гц, 1H), 10,36 (с, 1H), 12,40-12,65 (м, 1H).

Стадия 7: метил-2-(1-(3,4-дихлорбензоил)-3-метилпиперидин-3-ил)-5-гидрокси-1-метил-6-оксо-1,6-

дигидропиримидин-4-карбоксилат.

Смесь метил-2-(1-(3,4-дихлорбензоил)-3-метилпиперидин-3-ил)-5-гидрокси-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксилата (0,200 г, 0,454 ммоль) растворяли в ДМСО (50 мл) и охлаждали до 0°С. К полученной смеси по каплям добавляли раствор метоксида магния (1,30 мл, 0,908 ммоль, 6-10% в метаноле) при 0°С. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа. Реакционную смесь концентрировали для удаления избытка метанола. Реакционную смесь охлаждали до 0°С и по каплям добавляли МеІ (0,116 мл, 1,81 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 часов, затем охлаждали до 10°С и медленно гасили 1 н. раствором НСІ. Продукт экстрагировали этилацетатом (2×200 мл). Объединенный органический слой сушили над безводным Na₂SO₄ и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный остаток переносили на целит и очищали обращенно-фазовой колоночной хроматографией, используя ацетонитрил и 0,1% муравьиную кислоту в воде, с получением чистого соединения, указанного в заголовке (0,20 г, 97%). ЖХМС: расч. 453,4, ИЭР/МС m/z = 454,2 [М+Н]⁺.

 1 Н ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆): δ 1,39 (c, 3H), 1,59 (шс, 1H), 1,75 (шс, 1H), 2,01-2,07 (м, 2H), 3,15-3,25 (м, 1H), 3,32-3,52 (м, 1H), 3,63 (с, 3H), 3,79 (с, 3H), 3,83-3,86 (м, 1H), 3,99-4,02 (м, 1H), 7,30 (д, Ј=8,4 Гц, 1H), 7,55 (с, 1H), 7,69 (д, Ј=2,0 Гц, 1H), 10,32 (с, 1H).

Стадия 8: метил-2-(1-(3,4-дихлорбензоил)-3-метилпиперидин-3-ил)-5-метокси-1-метил-6-оксо-1, 6-дигидропиримидин-4-карбоксилат.

К перемешанному раствору метил-2-(1-(3,4-дихлорбензоил)-3-метилпиперидин-3-ил)-5-гидрокси-1-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксилата (0,20 г, 0,44 ммоль) в ДМФА (1 мл) добавляли K_2CO_3 (0,121 г, 0,875 ммоль), затем добавляли MeI (0,042 мл, 0,660 ммоль) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4 часов. После завершения реакции смесь разбавляли водой (20 мл) и экстрагировали водный слой этилацетатом (2×20 мл). Объединенный органический слой промывали насыщенным солевым раствором (10 мл), сушили над безводным Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали колоночной хроматографией с получением чистого соединения, указанного в заголовке (0,14 г, 67%). ЖХМС: расч. 467,4, ИЭР/МС m/z=468,3 [M+H] $^+$.

Стадия 9: 2-(1-(3,4-дихлорбензоил)-3-метилпиперидин-3-ил)-5-метокси-1-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-карбоновая кислота.

К перемешанному раствору метил-2-(1-(3,4-дихлорбензоил)-3-метилпиперидин-3-ил)-5-метокси-1-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксилата (0,140 г, 0,298 ммоль) в смеси метанол:ТГФ:вода (1:1:1, 6 мл) добавляли NaOH (0,014 г, 0,36 ммоль) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 часов. После завершения реакции смесь концентрировали при пониженном давлении, разбавляли ледяной водой (10 мл) и экстрагировали этилацетатом (2×10 мл). Объединенный водный слой подкисляли 1 н. раствором HCl при 0°C и экстрагировали 10% метанолом в дихлорметане (2×30 мл). Объединенный органический слой промывали насыщенным солевым раствором (20 мл), сушили над безводным Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного соединения, указанного в заголовке (0,130 г, 96%). ЖХМС: расч. 455,2, ИЭР/МС $m/z = 456,6 \, [M+H]^+$.

Стадия 10: 2-(1-(3,4-дихлорбензоил)-3-метилпиперидин-3-ил)-N-(изоксазол-4-ил)-5-метокси-1-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксамид.

К перемешанному раствору 2-(1-(3,4-дихлорбензоил)-3-метилпиперидин-3-ил)-5-метокси-1-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-карбоновой кислоты (0,140 г, 0,308 ммоль) в сухом ДМФА (1,4 мл) добавляли НАТU (0,176 г, 0,462 ммоль) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа и затем добавляли DIPEA (0,17 мл, 0,99 ммоль) и изоксазол-4-амин (0,038 г, 0,46 ммоль) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 часов, затем разбавляли водой (20 мл) и экстрагировали этилацетатом (2×20 мл). Объединенный органический слой промывали насыщенным солевым раствором (10 мл), сушили над безводным Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали колоночной хроматографией с получением чистого соединения, указанного в заголовке (0,135 г, 84%) в виде твердого вещества. ЖХМС: расч. 519,2, ИЭР/МС m/z = 520,4 [М+H] $^+$.

 1 H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆): δ 1,16-1,19 (м, 3H), 1,19-1,23 (м, 2H), 1,42-1,56 (м, 2H), 3,32-3,52 (м, 2H) 3,62 (c, 3H), 4,01-4,02 (м, 1H), 4,03 (c, 3H), 4,70-4,77 (м, 1H), 7,25-7,27 (м, 1H), 7,59-7,67 (м, 2H), 8,74 (c, 1H), 9,27 (c, 1H), 10,58 (шс, 1H).

Хиральная ВЭЖХ: CHIRALPAK AD-H; 30% (МЕОН) в жидком $CO_2 + 0.1\%$ ДЭА: FR-1 (изомер-1): R_T =9,39; FR-2 (изомер-2): R_T =14,82.

Стадия 11: 2-(1-(3,4-дихлорбензоил)-3-метилпиперидин-3-ил)-5-гидрокси-N-(изоксазол-4-ил)-1-метил-6-оксо-1, 6-дигидропиримидин-4-карбоксамид.

Перемешанный раствор 2-(1-(3,4-дихлорбензоил)-3-метилпиперидин-3-ил)-N-(изоксазол-4-ил)-5-метокси-1-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксамида FR-1 (0,030 г, 0,057 ммоль), который растворяли в дихлорметане (2 мл), охлаждали до 0° С и по каплям добавляли 1 M BBr₃ в дихлорметане

(0,28 мл, 0,29 ммоль). Затем реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 часов. После завершения реакции смесь концентрировали под вакуумом. Добавляли метанол (1 мл) и перемешивали в течение 30 минут, и выпаривали. Остаток перегоняли азеотропной перегонкой с метанолом $(2\times1 \text{ мл})$ с получением неочищенного соединения (120 мг). Неочищенный остаток переносили на целит и очищали обращенно-фазовой колоночной хроматографией, используя ацетонитрил и 0,1% муравьиную кислоту у воде, с получением примера 130 (0,015 г, 51%). ЖХМС: расч. 505,2, ИЭР/МС $\text{m/z} = 506,3 \text{ [M+H]}^+$.

 1 Н ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆): δ 1,35-1,45 (м, 3H), 1,46-1,60 (м, 2H), 1,70-1,80 (м, 2H), 3,15-3,18 (м, 2H), 3,38-3,44 (м, 2H), 3,61 (с, 3H), 7,22-7,24 (м, 1H), 7,59-7,64 (м, 2H), 8,73 (с, 1H), 9,23 (с, 1H), 10,75 (шс, 1H), 11,58 (шс, 1H).

Синтез 5-гидрокси-N-(изоксазол-4-ил)-1-метил-6-оксо-2-(1-фенэтилпиперидин-3-ил)-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксамида (пример 129)

Стадия 1: 5-этокси-N-(изоксазол-4-ил)-1-метил-6-оксо-2-(пиперидин-3-ил)-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксамид, гидрохлоридная соль.

К перемешанному раствору трет-бутил-3-(5-этокси-4-(изоксазол-4-илкарбамоил)-1-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-2-ил)пиперидин-1-карбоксилата [из синтеза A1] (0,35 г, 0,78 ммоль) в смеси дихлорметана (3 мл) и метанола (0,5 мл) по каплям добавляли 4 М HCl в диоксане (3 мл) при 0°С. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа и нагревали до 40°С в течение 10 минут. Реакционную смесь концентрировали досуха и дважды перегоняли азеотропной перегонкой с метанолом сполучением указанного в заголовке соединения в виде твердого вещества (0,290 г, 97%), которое использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ЖХМС: расч. 347,5; ИЭР/МС m/z = 348,5 [М+H] $^+$.

Стадия 2: 5-этокси-N-(изоксазол-4-ил)-1-метил-6-оксо-2-(1-фенэтилпиперидин-3-ил)-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксамид.

К перемешанному раствору гидрохлоридной соли 5-этокси-N-(изоксазол-4-ил)-1-метил-6-оксо-2-(пиперидин-3-ил)-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксамида (0,050 г, 0,130 ммоль) в ДМФА (0,5 мл) добавляли триэтиламин (0,055 мл, 0,391 ммоль) и перемешивали при комнатной температуре в течение 30 минут. Добавляли (2-бромэтил)бензол (0,024 г, 0,130 ммоль) и перемешивали реакционную смесь при комнатной температуре в течение 4 часов, затем концентрировали. Полученный неочищенный продукт растирали с гексанами (5 мл) и сушили под вакуумом с получением указанного в заголовке соединения (0,050 г). Неочищенное соединение, указанное в заголовке, использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ЖХМС: расч. 451,3; ИЭР/МС m/z = 452,4 [М+Н]⁺.

Стадия 3: 5-гидрокси-N-(изоксазол-4-ил)-1-метил-6-оксо-2-(1-фенэтилпиперидин-3-ил)-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксамид.

Смесь 5-этокси-N-(изоксазол-4-ил)-1-метил-6-оксо-2-(1-фенэтилпиперидин-3-ил)-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксамида (0,05 г, 0,110 ммоль) растворяли в дихлорметане (1 мл). Полученный раствор охлаждали до 0°С и по каплям добавляли 1 М раствор BBr $_3$ в дихлорметане (0,22 мл, 0,22 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5 часов, затем добавляли насыщенный раствор бикарбоната натрия (0,5 мл) и дополнительно разбавляли 10% смесью метанола в дихлорметане. Остаток сушили над Nа $_2$ SO $_4$ и концентрировали досуха. Неочищенный остаток переносили на целит и очищали обращенно-фазовой колоночной хроматографией, используя ацетонитрил и 0,1% муравьиную кислоту у воде, с получением чистого соединения, указанного в заголовке (0,01 г, 21%). ЖХМС: расч. 423,4: ИЭР/МС m/z =424,5 [М+H] $^+$.

¹Н ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆): δ 1,60-1,80 (м, 4H), 1,85-1,95 (м, 1H), 2,66-2,70 (м, 2H), 2,70-3,02 (м, 6H), 3,48 (с, 3H), 7,18-7,28 (м, 5H), 8,77 (с, 1H), 9,13 (с, 1H), 10,25 (шс, 1H), 11,50 (шс, 1H).

Следующие примеры и промежуточные соединения синтезировали, используя такие же условия, как на стадии, описанной выше, с соответствующими исходными веществами.

Таблина 8

Пример	Структура	Название	ЖХМС
98		5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1- метил-6-оксо-2-(1-(2,2,2- трифторэтил)пиперидин- 3-ил)-1,6- дигидропиримидин-4- карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 402,3 [M+H]+. Рассчитанная MM: 401,3
99	Специально исключен		

Синтез 5-гидрокси-N-(изоксазол-4-ил)-1-метил-6-оксо-2-(пиперидин-1-ил)-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксамида (пример 28)

Пример 28

Стадия 1.

Смесь С6 (200 мг, 0,769 ммоль), пиперидина (0,76 мл, 7,69 ммоль) и ДМСО нагревали при 110° С в течение 1 часа. За ходом реакции следили с помощью ТСХ, и охлаждали реакционную смесь до комнатной температуры после расходования С6. Реакционную смесь выливали в смесь льда и воды (25 мл) и тщательно перемешивали в течение 15 минут. Твердое вещество отфильтровывали, промывали водой (3×10 мл) и тщательно сушили под вакуумом с получением неочищенного продукта в виде твердого вещества (172 мг, 72%). ИЭР/МС m/z = 310,38 [М+H]⁺. Рассчитанная ММ: 309,37.

 1 Н ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆): δ 4,00 (к, 2H), 4,26 (к, 2H), 3,38 (с, 3H), 3,04-3,06 (м, 4H), 1,57-1,62 (м, 6H), 1,20-1,30 (м, 6H).

Стадия 2.

К перемешанному раствору этил-5-этокси-1-метил-6-оксо-2-(пиперидин-1-ил)-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксилата (100 мг, 0,32 ммоль), изоксазол-4-амина (35,3 мг, 0,42 ммоль) в толуоле (1 мл) добавляли 2 M раствор триметилалюминия в толуоле (0,6 мл, 0,64 ммоль) при 0°С. Реакционную смесь нагревали при 80°С в течение 30 минут под микроволновым излучением. Завершение реакции подтверждали по ТСХ и выливали реакционную смесь в смесь льда и холодной воды, и экстрагировали этилацетатом (2×10 мл). Органический слой промывали насыщенным солевым раствором (2×10 мл). Объединенный органический слой сушили над Na_2SO_4 и выпаривали под вакуумом с получением неочищенного соединения в виде светло-коричневого твердого вещества (104 мг). Неочищенный материал использовали на следующей стадии без какой-либо очистки. ИЭР/МС m/z = 348,5 [М+H] $^+$. Рассчитанная ММ: 347,3.

Стадия 3.

5-Этокси-N-(изоксазол-4-ил)-1-метил-6-оксо-2-(пиперидин-1-ил)-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксамид (100 мг, 0,28 ммоль) растворяли в дихлорметане (1 мл). К полученному раствору, который охлаждали до 0°С, по каплям добавляли 1 М ВВг $_3$ в дихлорметане (0,5 мл, 0,57 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов. За ходом реакции следили по ТСХ (10% метанола в дихлорметане). После завершения реакции удаляли растворитель под вакуумом. К остатку добавляли ледяную воду и отфильтровывали твердое вещество с получением неочищенного продукта (83 мг). Неочищенный продукт дополнительно очищали с помощью ОФ-ВЭЖХ с получением примера 28, продукта 5-гидрокси-N-(изоксазол-4-ил)-1-метил-6-оксо-2-(пиперидин-1-ил)-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксамида (10 мг, 0,032 ммоль, 11%). ИЭР/МС m/z = 320,3 [М+H] $^+$. Рассчитанная ММ: 319,3.

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆): δ 11,19 (c, 1H), 10,54 (c, 1H), 9,31 (c, 1H), 8,92 (c, 1H), 3,43 (c, 3H), 3,08 (c, 4H), 1,59-1,67 (м, 6H).

Следующие примеры и промежуточные соединения синтезировали, используя такие же условия, как на стадии, описанной выше, с соответствующими исходными веществами.

Таблица 9

Пример	Структура	Название	ЖХМС
100	O-N HN N OH	2-(4-бензоилпиперазин-1- ил)-5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1-метил- 6-оксо-1,6- дигидропиримидин-4- карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 425,6 [M+H]+. Рас- считанная ММ: 424,4
101	THE NOTICE OF THE NAME OF THE	(S)-5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1-метил- 6-оксо-2-(3-(пиридин-2- ил)пиперидин-1-ил)-1,6- дигидропиримидин-4- карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 397,3 [M+H]+. Рас- считанная ММ: 396,4
102	D T T O O O O O O O O O O O O O O O O O	(R)-5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1-метил- 6-оксо-2-(2-(пиридин-3- ил)пирролидин-1-ил)-1,6- дигидропиримидин-4- карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 383,5 [M+H]+. Рассчитанн ая ММ: 382,4
103	O-N O-N OH H-N N	(S)-5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1-метил- 6-оксо-2-(2-(пиридин-4- ил)пирролидин-1-ил)-1,6- дигидропиримидин-4- карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 383,5 [M+H]+. Рас- считанная ММ: 382,4

105	Спе	циально исключен	
106	HO HO OH	(S)-5-гидрокси-2-(2-(2-гидроксиэтил)пиперидин-1-ил)-N-(изоксазол-4-ил)-1-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 364,5 [M+H]+. Рас- считанная MM: 363,4
107	HO HO OH	(R)-5-гидрокси-2-(2-(2-гидроксиэтил)пиперидин-1-ил)-N-(изоксазол-4-ил)-1-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 364,3 [M+H]+. Рассчитанн ая ММ: 363,4
108	O-N HN OOH	(R)-5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1-метил- 6-оксо-2-(3- фенилпирролидин-1-ил)- 1,6-дигидропиримидин-4- карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 382,4 [M+H]+. Pас- считанная MM: 381,4
109	OH NO OH	(S)-5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1-метил- 6-оксо-2-(3- фенилпирролидин-1-ил)- 1,6-дигидропиримидин-4- карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 382,4 [M+H]+. Pac- считанная MM: 381,4
110	O O O O O O O O	(R)-2-(2- (диметилкарбамоил)пирро лидин-1-ил)-5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1-метил- 6-оксо-1,6- дигидропиримидин-4- карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 377,2 [M+H]+. Pac- считанная MM: 376,4
111	OH OH OH	2-(4-ацетил-1,4-диазепан- 1-ил)-5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1-метил- 6-оксо-1,6- дигидропиримидин-4- карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 377,4 [M+H]+. Рас- считанная MM: 376,4

	T		
112	O N D D D D D D D D D D D D D D D D D D	(S)-5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1-метил- 6-оксо-2-(2- фенилпирролидин-1-ил)- 1,6-дигидропиримидин-4- карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 382,3 [M+H]+. Рас- считанная ММ: 381,4
113	0 Z Z Z O D Z Z Z O D D Z Z Z O D D D D D	(R)-5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1-метил- 6-оксо-2-(2- фенилпирролидин-1-ил)- 1,6-дигидропиримидин-4- карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 382,3 [M+H]+. Pac- считанная MM: 381,4
49	D D D D D D D D D D D D D D D D D D D	5-гидрокси-N-(изоксазол- 4-ил)-1-метил-2-(4- метилпиперазин-1-ил)-6- оксо-1,6- дигидропиримидин-4- карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 335,4 [M+H]+. Pac- считанная MM: 334,4
116	O-N HN OH	2-(4-ацетилпиперазин-1- ил)-5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1-метил- 6-оксо-1,6- дигидропиримидин-4- карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 363,3 [M+H]+. Рас- считанная ММ: 362,3
117	H ₂ N H	(S)-2-(3- карбамоилпирролидин-1- ил)-5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1-метил- 6-оксо-1,6- дигидропиримидин-4- карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 349,2 [M+H]+. Pac- считанная MM: 348,3
118	HN OH	(R)-2-(3- карбамоилпирролидин-1- ил)-5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1-метил- 6-оксо-1,6- дигидропиримидин-4- карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 349,2 [M+H]+. Pac- считанная MM: 348,3
119	H ₂ N H ₂ N N	(S)-2-(3- карбамоилпиперидин-1- ил)-5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1-метил- 6-оксо-1,6- дигидропиримидин-4- карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 363,2 [M+H]+. Pac- считанная MM: 362,3

120	H H H H H H H H H H H H H H H H H H H	5-гидрокси-N-(изоксазол- 4-ил)-1-метил-6-оксо-2- фенокси-1,6- дигидропиримидин-4- карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 329,1 [M+H]+. Pac- считанная MM: 328,3
121	H H H	2-(циклогексилокси)-5-гидрокси-N-(изоксазол-4-ил)-1-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 335,1 [M+H]+. Рас- считанная ММ: 334,3
122		5-гидрокси-N-(изоксазол- 4-ил)-1-метил-6-оксо-2-(3- феноксиазетидин-1-ил)- 1,6-дигидропиримидин-4- карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 384,2 [M+H]+. Pас- считанная MM: 383,4
123	D H C C C C C C C C C C C C C C C C C C	2-(3- (бензилокси)азетидин-1- ил)-5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1-метил- 6-оксо-1,6- дигидропиримидин-4- карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 398,2 [M+H]+. Pac- считанная MM: 397,4
124	O NH OH OH	(R)-2-(2-(2- хлорфенил)пирролидин-1- ил)-5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1-метил- 6-оксо-1,6- дигидропиримидин-4- карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 416,2 [M+H]+. Pac- считанная MM: 415,8
125	T D D D D D D D D D D D D D D D D D D D	(S)-2-(2-(2-хлорфенил)-4- (пиридин-2-ил)пиперазин- 1-ил)-5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1-метил- 6-оксо-1,6- дигидропиримидин-4- карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 508,3 [M+H]+. Рас- считанная MM: 507,9
126-127	Специально исключены		
128	O-N NH ON NH ON NH	(R)-2-(4-ацетил-2-(2- хлорфенил)пиперазин-1- ил)-5-гидрокси-N- (изоксазол-4-ил)-1-метил- 6-оксо-1,6- дигидропиримидин-4- карбоксамид	ИЭР/МС m/z = 473,3 [M+H]+. Pac- считанная MM: 472,9

Биохимические анализы

1. Сайленсинг TREX1 в опухолевых клетках.

Активация пути cGAS/STING при зондировании цитозольной ДНК и последующая выработка IFN типа I может происходить как в опухолевых клетках, так и в клетках врожденного иммунитета, особенно в дендритных клетках. Чтобы оценить, контролирует ли TREX1 выработку IFN типа I с помощью хорошо описанной модели холодной сингенной опухоли, которая подвергается иммуноопосредованному отторжению при активации IFN типа I агонистами STING, осуществляли нокдаун TREX1 в опухолевых клетках B16F10 с использованием CRISPR (фиг. 1A). Накопление цитозольной ДНК посредством трансфекции ДНК опухолевых клеток приводило к примерно 5-кратному увеличению выработки IFNP клетками B16F10, нокаутированными по TREX1, по сравнению с родительскими опухолевыми клетками, демонстрируя, что TREX1 ослабляет активацию пути cGAS/STING. в опухолевых клетках B16F10 (фиг. 1B).

2. Рост TREX1-компетентных и -дефицитных опухолевых клеток B16F10 in vivo.

Оценивали рост TREX1-компетентных и -дефицитных опухолевых клеток B16F10 in vivo. Мышам C57BL/6J подкожно в правый бок инокулировали 300000 родительских опухолевых клеток B16F10 или клеток, нокаутированных по TREX1. Массу тела измеряли два раза в неделю, а измерения опухолей про-

водили два-три раза в неделю, начиная с того момента, когда опухоли становились пригодными для измерения, и в течение оставшегося периода исследования. Опухоли, в которых был подавлен TREX1, имели заметно меньший объем, чем родительские опухоли B16F10 (фиг. 2).

Опухоли собирали на 19 день, по окончании исследования, и перерабатывали в суспензии отдельных клеток для обеспечения возможности проведения проточной цитометрии для количественной оценки инфильтрирующих опухоль иммунных популяций. Обнаружено, что опухоли B16F10 с нокаутом по TREX1 демонстрируют существенное увеличение общего количества иммунных клеток, что отражает увеличение количества инфильтрирующих опухоль Т-клеток CD4 и CD8, а также плазматических дендритных клеток (рDC) (фиг. 3). Известно, что рDC играют центральную роль в индукции антигенспецифических противоопухолевых иммунных ответов, причем известно, что Т-клетки являются основными эффекторами противоопухолевой эффективности у мышей и людей. Таким образом, глубокое изменение иммунного инфильтрата опухолей, дефицитных по TREX1, позволяет предположить, что ингибирование роста указанных опухолей по меньшей мере частично опосредовано иммунитетом.

Биохимический анализ TREX1.

Эффективность соединений оценивали с помощью флуоресцентного анализа, в котором измеряли разложение специально созданного субстрата дцДНК, имеющего пару флуорофор-гаситель на противоположных цепях. При разложении диДНК высвобождается свободный флуорофор, создающий флуоресцентный сигнал. В частности, 7,5 мкл человеческого TREX1 полной длины с N-концевой меткой His-Tev (экспрессированного в E. coli и очищенного в лаборатории) в реакционном буфере (50 мМ Tris (рН 7.4) 150 мМ NaCl, 2 мМ DTT, 0,1 мг/мл BSA, 0,01% (об./об.) Tween-20 и 100 мМ MgCl₂) добавляли в 384луночнй планшет Black ProxiPlate Plus (Perkin Elmer), уже содержащий соединение (150 нл) в различных концентрациях в ДМСО для 10-точечной оценки зависимости ответа от дозы. К полученной смеси добавляли 7,5 мкл субстрата дцДНК (спираль A: 5' TEX615/GCT AGG CAG 3'; спираль B: 5' CTG CCT AGC/IAbRQSp (Integrated DNA Technologies)) в реакционном буфере. Конечные концентрации составляли 150 пМ ТКЕХ1, 60 нМ субстрата дцДНК в реакционном буфере с 1,0% ДМСО (об./об.). Через 25 минут при комнатной температуре реакцию гасили, добавляя 5 мкл останавливающего буфера (такого же, как реакционный буфер, плюс 200 мМ ЭДТК). Конечные концентрации в погашенной реакционной смеси составляли 112,5 пМ TREX1, 45 нМ ДНК и 50 мМ ЭДТК в объеме 20 мкл. После 5-минутной инкубации при комнатной температуре планшеты считывали на приборе Envision с лазерным источником (Perkin-Elmer), измеряя флуоресценцию при 615 нм после возбуждения под действием света с длиной волны 570 нм. Значения IC_{50} рассчитывали посредством сравнения отношения измеренной флуоресценции при 615 нм к контрольным лункам, предварительно погашенным останавливающим буфером (ингибирование 100%), и к контрольным образцам без ингибитора (ингибирование 0%), используя нелинейный метод наименьших квадратов с четырьмя параметрами и программное обеспечение Genedata или GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc.).

Биохимический анализ TREX2.

Эффективность соединений оценивали с помощью флуоресцентного анализа, в котором измеряли разложение специально созданного субстрата дцДНК, имеющего пару флуорофор-гаситель на противоположных цепях. При разложении диДНК высвобождается свободный флуорофор, создающий флуоресцентный сигнал. В частности, 7,5 мкл человеческого TREX2 с N-концевой меткой His-Tev (остатки M44-A279, экспрессировали в E. coli и очищали в лаборатории) в реакционном буфере (50 мМ Tris (рН 7,4) 150 мМ NaCl, 2 мМ DTT, 0,1 мг/мл BSA, 0,01% (об./об.) Tween-20 и 100 мМ MgCl₂) добавляли в 384луночнй планшет Black ProxiPlate Plus (Perkin Elmer), уже содержащий соединение (150 нл) в различных концентрациях в ДМСО для 10-точечной оценки зависимости ответа от дозы. К полученной смеси добавляли 7,5 мкл субстрата дцДНК (спираль A: 5' TEX615/GCT AGG CAG 3'; спираль B: 5' CTG CCT AGC/IAbRQSp (IDT)) в реакционном буфере. Конечные концентрации составляли 2,5 нМ TREX2, 60 нМ субстрата дцДНК в реакционном буфере с 1,0% ДМСО (об./об.). Через 25 минут при комнатной температуре реакцию гасили, добавляя 5 мкл останавливающего буфера (такого же, как реакционный буфер, плюс 200 мМ ЭДТК). Конечные концентрации в погашенной реакционной смеси составляли 1,875 пМ ТКЕХ2, 45 нМ ДНК и 50 мМ ЭДТК в объеме 20 мкл. После 5-минутной инкубации при комнатной температуре планшеты считывали на приборе Envision с лазерным источником (Perkin-Elmer), измеряя флуоресценцию при 615 нм после возбуждения под действием света с длиной волны 570 нм. Значения IC₅₀ рассчитывали посредством сравнения отношения измеренной флуоресценции при 615 нм к контрольным лункам, предварительно погашенным останавливающим буфером (ингибирование 100%), и к контрольным образцам без ингибитора (ингибирование 0%), используя нелинейный метод наименьших квадратов с четырьмя параметрами и программное обеспечение Genedata или GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc.).

Результаты представлены в табл. 10. IC₅₀ TREX1: A = <0,1 мкM; B = 0,1-1 мкM; C = 1-10 мкM; D = >10 мкM. IC₅₀ TREX2: A = <1 мкM, B = 1-10 мкM, C = 10-100 мкM, D = >100 мкM.

Таблица 10

	таолица то	
Пример	IC ₅₀ TREX1	IC ₅₀ TREX2
1	A	В
2	В	C
3	В	С
4	В	В
5	A	В
6	В	С
7	В	С
8	В	С
9	В	C
10	A	В
11	В	С
12	С	C
13	B	C
	_	
14	В	В
15	A	A C
16	В	С
17	C	C
		C
18	В	
19	С	D
20	В	C
21	С	D
22	C	C
23	В	В
24	В	D
25	В	В
26	C	С
27	D	D
28	В	C
29	C	С
30	В	В
31	В	В
32	В	В
33	В	С
34		В
	В	
35	В	В
36	В	C
37	В	С
38	В	С
39	C	C
		В
40	В	
41	В	C
42	В	C
43	A	В
44	В	С
45	A	В
46	В	С
47	В	В
48	В	В
49	В	С
50	В	С
51	В	В
	В	В
52		
53	В	В
54	В	C
55	A	В
56	В	C
57	B	C
58	В	В
59	В	В
60	С	С
		·

61			
63 B B C 64 B C C 66 B C C 67 C C C 70 A B C 74 C C C 75 D D D 76 B C C 78 A B B 79 A B B 80 A B B 80 A B B 82 C C C 83 C C C 84 A A B 85 B C C 87 C C C 87 C C C 88 A B B 91 B C C 93 B B B 96	61	В	В
64 B C 65 B B 66 B C 67 C C 70 A B 73 B C 74 C C 75 D D 76 B C 78 A B 79 A B 80 A B 82 C C 83 C C 84 A B 85 B C 86 B C 87 C C 88 A B 91 B C 87 C C 88 A B 91 B C 92 B C 93 B B 94 B C 95 B			
65 B B C 66 B C C 70 A B C 73 B C C 74 C C C 75 D D D 76 B C C 78 A B B 79 A B B 80 A B B 80 A B B 82 C C C 83 C C C 84 A B B 85 B C C 86 B C C 87 C C C 88 A B B 91 B C C 92 B C C 93 B B C 95		В	
66 B C 67 C C 70 A B 73 B C 74 C C 75 D D 76 B C 78 A B 80 A B 81 A B 82 C C 83 C C 84 A B 85 B C 86 B C 87 C C 88 A B 91 B C 92 B C 93 B			
66 B C 67 C C 70 A B 73 B C 74 C C 75 D D 76 B C 78 A B 80 A B 81 A B 82 C C 83 C C 84 A B 85 B C 86 B C 87 C C 88 A B 91 B C 92 B C 93 B	65	В	В
67 C C 70 A B 73 B C 74 C C 75 D D 76 B C 78 A B 80 A B 80 A B 82 C C 83 C C 84 A B 85 B C 86 B C 87 C C 88 A B 91 B C 87 C C 88 A B 91 B C 92 B C 93 B B 94 B C 95 B C 96 B C 97 A A A 98			С
70 A B 73 B C 74 C C 75 D D 76 B C 78 A B 79 A B 80 A B 80 A B 82 C C 83 C C 84 A B 85 B C 86 B C 87 C C 88 A B 91 B C 92 B C 93 B B 94 B C 95 B C 96 B C 97 A A 98 B C 100 B C 101 B C 102 <t< th=""><th></th><th>С</th><th></th></t<>		С	
73 B C 74 C C 75 D D 76 B C 78 A B 79 A B 80 A B 82 C C 83 C C 84 A B 85 B C 86 B C 87 C C 88 A B 91 B C 92 B C 93 B B 94 B C 95 B C 96 B C 97 A A 98 B C 100 B C 101 B C 102 B C 103 B C 104			
74 C C 75 D D 76 B C 78 A B 79 A B 80 A B 82 C C C C C 83 C C 84 A B 85 B C 86 B C 87 C C 88 A B 91 B C 92 B C 93 B B 94 B C 95 B C 96 B C 97 A A 98 B C 100 B C 101 B C 102 B C 103 B C 104 <			С
75 D D 76 B C 78 A B 79 A B 80 A B 80 A B 82 C C 83 C C 84 A B 85 B C 86 B C 87 C C 88 A B 91 B C 92 B C 93 B B 94 B C 95 B C 96 B C 97 A A 98 B C 100 B C 101 B C 102 B C 103 B C 104 C D 105			
76 B C 78 A B 79 A B 80 A B 80 A B 80 A B 81 B C 83 C C 84 A B 85 B C 86 B C 87 C C 88 A B 91 B C 92 B C 93 B B 94 B C 95 B C 96 B C 97 A A A 98 B C C 100 B C C 101 B C C 102 B C C 103 B C C		D	D
78 A B 79 A B 80 A B 80 A B 80 A B 82 C C 83 C C 84 A B 85 B C 86 B C 87 C C 88 A B 91 B C 92 B C 93 B B 94 B C 95 B C 96 B C 97 A A 98 B C 100 B C 101 B C 102 B C 103 B C 104 C D 106 B C 107			
79 A B 80 A B 82 C C 83 C C 84 A B 85 B C 86 B C 87 C C 88 A B 91 B C 92 B C 93 B B 94 B C 95 B C 96 B C 97 A A 98 B C 100 B C 101 B C 102 B C 103 B C 104 C D 106 B C 107 A B 108 A C 110 B C 111		A	
80 A B 82 C C 83 C C 84 A B 85 B C 86 B C 87 C C 88 A B 91 B C 92 B C 93 B B 94 B C 95 B C 96 B C 97 A A 98 B C 100 B C 101 B C 102 B C 103 B C 104 C D 106 B C 107 A B 108 A C 110 B C 111 B C 111		A	B
82 C C 83 C C 84 A B 85 B C 86 B C 87 C C 88 A B 91 B C 88 A B 91 B C 92 B C 93 B B 94 B C 95 B C 96 B C 97 A A 98 B C 100 B C 101 B C 102 B C 103 B C 104 C D 106 B C 107 A B 108 A C 110 B C 111		Δ	
83 C C 84 A B 85 B C 86 B C 87 C C 88 A B 91 B C 92 B C 93 B B 94 B C 95 B C 96 B C 97 A A 98 B C 100 B C 101 B C 102 B C 103 B C 104 C D 105 B C 106 B C 107 A B 108 A C 110 B C 111 B C 111 B C 111		C	C
84 A B 85 B C 86 B C 87 C C 88 A B 87 C C 88 A B 91 B C 92 B C 93 B B 94 B C 95 B C 96 B C 97 A A 98 B C 100 B C 101 B C 102 B C 103 B C 104 C D 105 B C 106 B C 107 A B 108 A C 109 A C 110 B C 111 B C 111 B C 111			
86 B C 87 C C 88 A B 91 B C 92 B C 93 B B 94 B C 95 B C 96 B C 97 A A 98 B C 100 B C 101 B C 102 B C 103 B C 104 C D 105 B C 106 B C 107 A B 108 A C 109 A C 110 B C 111 B C 111 B C 111 B C 1117 B C 118 </th <th></th> <th>\ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \</th> <th></th>		\ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \	
86 B C 87 C C 88 A B 91 B C 92 B C 93 B B 94 B C 95 B C 96 B C 97 A A 98 B C 100 B C 101 B C 102 B C 103 B C 104 C D 105 B C 106 B C 107 A B 108 A C 109 A C 110 B C 111 B C 111 B C 111 B C 1117 B C 118 </th <th></th> <th>A D</th> <th>С</th>		A D	С
87 C C 88 A B 91 B C 92 B C 93 B B C 93 B B C 95 B C C 96 B C C 96 B C C 97 A A A 98 B C C 97 A A A 98 B C C 97 A A A 98 B C C 100 B C C 101 B C C 102 B C C 104 C D D 106 B C C 107 A B C 110 B C C		D D	
88 A B 91 B C 92 B C 93 B B 94 B C 95 B C 96 B C 97 A A 98 B C 100 B C 101 B C 102 B C 103 B C 104 C D 105 B C 104 C D 106 B C 107 A B 108 A C 109 A C 110 B C 111 B C 111 B C 111 B C 111 B C 1117 B C 118		В	C
91 B C 92 B C 93 B B B 94 B C B 95 B C C 96 B C C 97 A A A 98 B C C 97 A A A 98 B C C 97 A A A 98 B C C 97 A A A 98 B C C 100 B C C 101 B C D 104 C D D 105 B C D 106 B C C 107 A B C 110 B C C 111 B <			L D
92 B C 93 B B 94 B C 95 B C 96 B C 97 A A 98 B C 100 B C 101 B C 102 B C 103 B C 104 C D 105 B C 106 B C 107 A B 108 A C 109 A C 110 B C 111 B C 117 B C 118 A C 11			
93 B B 94 B C 95 B C 96 B C 97 A A 98 B C 100 B C 101 B C 102 B C 103 B C 104 C D 106 B C 107 A B 108 A C 109 A C 110 B C 111 B C 117 B C 118 A C 119 B C 1			C
94 B C 95 B C 96 B C 97 A A 98 B C 100 B C 101 B C 101 B C 102 B C 103 B C 104 C D 106 B C 107 A B 108 A C 109 A C 110 B C 111 B C 117 B C 118 A C 119 B C 119 B C 120 A B			
95 B C 96 B C 97 A A 98 B C 100 B C 101 B C 102 B C 103 B C 104 C D 106 B C 107 A B 108 A C 109 A C 110 B C 111 B C 111 B C 111 B C 112 A B 113 A B 114 B C 117 B C 118 A C 119 B C 120 A B 121 A B 122 B C <th< th=""><th></th><th></th><th>В</th></th<>			В
96 B C 97 A A 98 B C 100 B C 101 B C 102 B C 103 B C 104 C D 106 B C 107 A B 108 A C 109 A C 110 B C 111 B C 111 B C 111 B C 111 B C 112 A B 113 A B 114 B C 117 B C 118 A C 119 B C 120 A B 121 A B 122 B C <t< th=""><th></th><th></th><th>C</th></t<>			C
97 A A 98 B C 100 B C 101 B C 102 B C 103 B C 104 C D 106 B C 107 A B 108 A C 109 A C 110 B C 111 B C 111 B C 112 A B 113 A B 114 B C 117 B C 118 A C 119 B C 120 A B 121 A B 122 B C 123 B C 124 A B 125 A A <			C
100 B C 101 B C 102 B C 103 B C 104 C D 106 B C 107 A B 108 A C 109 A C 110 B C 111 B C 111 B C 112 A B 113 A B 114 B C 117 B C 118 A C 119 B C 120 A B 121 A B 122 B C 123 B C 124 A B 125 A A 128 A A 129 D D			C
100 B C 101 B C 102 B C 103 B C 104 C D 106 B C 107 A B 108 A C 109 A C 110 B C 111 B C 111 B C 112 A B 113 A B 114 B C 117 B C 118 A C 119 B C 120 A B 121 A B 122 B C 123 B C 124 A B 125 A A 128 A A 129 D D			A
101 B C 102 B C 103 B C 104 C D 106 B C 107 A B 108 A C 109 A C 110 B C 111 B C 111 B C 112 A B 113 A B 116 B C 117 B C 118 A C 119 B C 120 A B 121 A B 122 B C 123 B C 124 A B 125 A A 128 A A 129 D D 130 B B			C
102 B C 103 B C 104 C D 106 B C 107 A B 108 A C 109 A C 110 B C 111 B C 111 B C 112 A B 113 A B 116 B C 117 B C 118 A C 119 B C 120 A B 121 A B 122 B C 123 B C 124 A B 125 A A 129 D D 130 B B			C
103 B C 104 C D 106 B C 107 A B 108 A C 109 A C 110 B C 111 B C 111 B C 112 A B 113 A B 116 B C 117 B C 118 A C 119 B C 120 A B 121 A B 122 B C 123 B C 124 A B 125 A A 128 A A 129 D D 130 B B			
104 C D 106 B C 107 A B 108 A C 109 A C 110 B C 111 B C 111 B C 112 A B 113 A B 116 B C 117 B C 118 A C 119 B C 120 A B 121 A B 122 B C 123 B C 124 A B 125 A A 128 A A 129 D D 130 B B			C
106 B C 107 A B 108 A C 109 A C 110 B C 111 B C 111 B C 112 A B 113 A B 116 B C 117 B C 118 A C 119 B C 120 A B 121 A B 122 B C 123 B C 124 A B 125 A A 128 A A 129 D D 130 B B	103		C
107 A B 108 A C 109 A C 110 B C 111 B C 112 A B 113 A B 116 B C 117 B C 118 A C 119 B C 120 A B 121 A B 122 B C 123 B C 124 A B 125 A A 128 A A 129 D D 130 B B			
108 A C 109 A C 110 B C 111 B C 112 A B 113 A B 116 B C 117 B C 118 A C 119 B C 120 A B 121 A B 122 B C 123 B C 124 A B 125 A A 128 A A 129 D D 130 B B			
109 A C 110 B C 111 B C 112 A B 113 A B 116 B C 117 B C 118 A C 119 B C 120 A B 121 A B 122 B C 123 B C 124 A B 125 A A 128 A A 129 D D 130 B B		A	В
110 B C 111 B C 112 A B 113 A B 116 B C 117 B C 118 A C 119 B C 120 A B 121 A B 122 B C 123 B C 124 A B 125 A A 128 A A 129 D D 130 B B			С
111 B C 112 A B 113 A B 116 B C 117 B C 118 A C 119 B C 120 A B 121 A B 122 B C 123 B C 124 A B 125 A A 128 A A 129 D D 130 B B		A	С
112 A B 113 A B 116 B C 117 B C 118 A C 119 B C 120 A B 121 A B 122 B C 123 B C 124 A B 125 A A 128 A A 129 D D 130 B B			
113 A B 116 B C 117 B C 118 A C 119 B C 120 A B 121 A B 122 B C 123 B C 124 A B 125 A A 128 A A 129 D D 130 B B	111	В	C
116 B C 117 B C 118 A C 119 B C 120 A B 121 A B 122 B C 123 B C 124 A B 125 A A 128 A A 129 D D 130 B B		A	
117 B C 118 A C 119 B C 120 A B 121 A B 122 B C 123 B C 124 A B 125 A A 128 A A 129 D D 130 B B			
117 B C 118 A C 119 B C 120 A B 121 A B 122 B C 123 B C 124 A B 125 A A 128 A A 129 D D 130 B B	116		С
118 A C 119 B C 120 A B 121 A B 122 B C 123 B C 124 A B 125 A A 128 A A 129 D D 130 B B	117		
120 A B 121 A B 122 B C 123 B C 124 A B 125 A A 128 A A 129 D D 130 B B		A	
120 A B 121 A B 122 B C 123 B C 124 A B 125 A A 128 A A 129 D D 130 B B	119	В	С
121 A B 122 B C 123 B C 124 A B 125 A A 128 A A 129 D D 130 B B		A	В
122 B C 123 B C 124 A B 125 A A 128 A A 129 D D 130 B B			В
123 B C 124 A B 125 A A 128 A A 129 D D 130 B B	122		
124 A B 125 A A 128 A A 129 D D 130 B B			
125 A A 128 A A 129 D D 130 B B			
128 A A 129 D D 130 B B			
129 D D 130 B B	123		
130 B B			
131 A A			
	131	A	A

Анализ в клетках НСТ116.

Клетки HCT116-Dual (Invivogen, Сан-Диего, штат Калифорния, США) получали из клеточной линии карциномы толстой и прямой кишок человека HCT116. Клетки были отобраны для стабильной интеграции репортерных генов SEAP и люциферазы, экспрессия которых находится под управлением 5 элементов тандемного ответа для NF-KB/AP1 и STAT1/STAT2, соответственно. Клеточную линию использовали для отслеживания выработки интерферона I типа и последующей передачи сигналов посредством измерения активности люциферазы Lucia, секретированной в культуральной среде. Клетки HCT116 помещали в 96-луночный планшет(ы) в количестве 40000 клеток на лунку в 100 мкл среды DMEM с добавлением 10% FBS и 25 мМ Нерез (рН 7,2-7,5). После отстаивания в течение ночи клетки обрабатывали TREXII в течение 4 часов (максимальное содержание ДМСО составляло 0,1%), затем 1 мкг/мл рестриктазного фрагмента pBR322/BstNI (New England Biolabs, Ипсвич, штат Массачусетс, США) трансфицировали липофектамином LTX (ThermoFisher, Гранд-Айленд, штат Нью-Йорк, США) в соответствии с рекомендациями, указанными в руководстве по использованию продукта. Вкратце, липофектамин LTX (0,35

мкл на лунку) разбавляли в среде OptiMEM (5 мкл на лунку). pBR322/BstNI (100 нг на лунку) разбавляли в среде OptiMEM (5 мкл на лунку), затем добавляли реагент Plus (0,1 мкл/100 нг ДНК). После 5-минутной инкубации при комнатной температуре смесь ДНК по каплям смешивали с разбавленным липофектамином LTX. Еще через 10 минут инкубации в клетки добавляли трансфекционную смесь (10 мкл на лунку). Клетки выдерживали при 37°С в течение 48 часов, затем считывали активность люциферазы Lucia в клеточной культуральной среде. Несмотря на то, что описаны некоторые варианты реализации, очевидно, что предложенные основные примеры могут быть изменены с получением других вариантов реализации, в которых использованы соединения и способы по данному изобретению. Таким образом, следует понимать, что объем данного изобретения следует определять прилагаемой формулой изобретения, а не конкретными вариантами реализации, которые представлены в качестве примера.

Полное содержание всех ссылок (включая литературные ссылки, выданные патенты, опубликованные патентные заявки и патентные заявки, находящиеся на рассмотрении), цитируемых в данной заявке, в явном виде включено в данный документ посредством ссылки. Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют значения, известные специалистам в данной области техники.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение, имеющее формулу II:

$$\begin{array}{c}
O-N \\
O-NH \\
O-NH \\
O-N+O \\
N-O \\
R^2
\end{array}$$
(II):

или его фармацевтически приемлемая соль, где R^2 представляет собой (C_1 - C_4)алкил;

X представляет собой связь, O или (C_1 - C_4)алкилен, причем указанный (C_1 - C_4)алкилен необязательно замещен фенилом или -NHC(O)OR a ;

Кольцо А представляет собой фенил, пиридил, пиразолил, циклопропил, циклобутил, азетидинил, пиперидинил, триазолил, пирролидинил, диазепанил или пиперазинил, каждый из которых необязательно и независимо замещен 1 или 2 группами, выбранными из R^5 ;

 R^5 представляет собой (C_1 - C_4)алкил, галоген(C_1 - C_4)алкил, галоген, фенил, -NHC(O)OR^a, -C(O)R^b, S(O)₂R^c, -C(O)OR^d, -C(O)NR^eR^f, -NHC(O)R^d или -O(C₁-C₄)алкил-OR^e, -NR^eR^f, морфолинил, пиперазинил или пиразолил, причем каждый указанный морфолинил, пиперазинил и пиразолил необязательно замещен 1 или 2 группами, выбранными из R^m , указанный (C_1 - C_4)алкил для R^5 необязательно замещен -OR^h, фенилом, пиразолилом, пиримидинилом или пиридинилом, и при этом каждый указанный фенил, пиразолил, пиримидинил и пиридинил необязательных заместителей, перечисленных для (C_1 - C_4)алкила в R^5 , необязательно и независимо замещен 1 или 2 группами, выбранными из R^g ;

 R^{a} представляет собой (C_{1} - C_{4})алкил, необязательно замещенный фенилом;

 R^b представляет собой (C_1 - C_4)алкил, фенил, пиридинил, пиразолил, пиримидинил или пиперидинил, причем каждый указанный фенил, пиридинил, пиразолил и пиримидинил для R^b необязательно и независимо замещен 1 или 2 группами, выбранными из галогена и (C_1 - C_4)алкокси, при этом указанный (C_1 - C_4)алкил для R^b необязательно замещен 1 или 2 группами, выбранными из фенила, ОН и NMe_2 , и при этом указанный пиперидинил для R^b необязательно замещен =O;

каждый R^c независимо представляет собой фенил или $(C_1$ - $C_4)$ алкил;

каждый R^d представляет собой водород или (C_1-C_4) алкил;

каждый R^e независимо представляет собой водород или (C_1 - C_4)алкил, необязательно замещенный OR^h :

каждый R^f независимо представляет собой водород, $(C_1$ - $C_4)$ алкил, фенил, пиразолил, пиридинил, тетрагидропиранил, пиперидинил, причем каждый указанный фенил, пиразолил, пиридинил, тетрагидропиранил и пиперидинил необязательно и независимо замещен $(C_1$ - $C_4)$ алкилом;

каждый R^g независимо представляет собой (C_1-C_4) алкил, (C_1-C_4) алкокси или галоген; каждый R^h представляет собой водород, (C_1-C_4) алкил или $-(C_1-C_4)$ алкилфенил; и

каждый R^m представляет собой (C_1 - C_4)алкил.

2. Соединение по п.1, представляющее собой соединение формулы III:

или его фармацевтически приемлемая соль.

- 3. Соединение по п.1 или 2, отличающееся тем, что X представляет собой незамещенный (C_1 - C_4)алкилен.
 - 4. Соединение по любому из пп.1-3, отличающееся тем, что X представляет собой связь или СН₂.
 - 5. Соединение по п.1, причем соединение выбрано из одного из следующих:

или фармацевтически приемлемой соли любого из вышеуказанных.

- 6. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по любому из пп.1-5 или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель.
- 7. Применение соединения по любому из пп.1-5 или его фармацевтически приемлемой соли, или композиции по п.6 для лечения заболевания, восприимчивого к ингибированию экзонуклеазы три штрих репарации I (TREX1).
 - 8. Применение по п.7, отличающееся тем, что заболевание представляет собой рак.



